

**CARACTERIZAÇÃO DE VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR
QUANTO À RESISTÊNCIA E TOLERÂNCIA AO RAQUITISMO-DA-
SOQUEIRA**

ROZANA MOREIRA PEREIRA DE LIMA

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO – UENF**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES/RJ
ABRIL-2008**

**CARACTERIZAÇÃO DE VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR
QUANTO À RESISTÊNCIA E TOLERÂNCIA AO RAQUITISMO-DA-
SOQUEIRA**

ROZANA MOREIRA PEREIRA DE LIMA

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas”.

Orientador: Prof. Silvaldo Felipe da Silveira

**CAMPOS DOS GOYTACAZES-RJ
ABRIL – 2008**

CARACTERIZAÇÃO DE VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR
QUANTO À RESISTÊNCIA E TOLERÂNCIA AO RAQUITISMO-DA-
SOQUEIRA

ROZANA MOREIRA PEREIRA DE LIMA

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e
Tecnologias Agropecuárias da Universidade
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,
como parte das exigências para obtenção do
título de Mestre em Genética e Melhoramento
de Plantas”.

Aprovada em 17 de abril de 2008.

Comissão Examinadora:

Josil de Barros Carneiro Júnior. (D.Sc., Produção Vegetal) – UFRRJ

Prof. Messias Gonzaga Pereira (Ph.D., Melhoramento de Plantas) – UENF

Prof^a. Rosana Rodrigues (D.Sc., Produção Vegetal/Melhoramento Genético) –
UENF

Prof. Silvaldo Felipe da Silveira (D.Sc., Produção Vegetal/Fitopatologia) – UENF
Orientador

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade de viver.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, pela oportunidade de cursar a pós-graduação em nível de mestrado e pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Silvaldo Felipe da Silveira, pela orientação e ajuda durante a minha caminhada acadêmica.

Ao pesquisador Josil de Barros Carneiro Jr., pela co-orientação e apoio neste trabalho.

Ao professor Gonçalo A. de Souza Filho, pela colaboração no início dos trabalhos.

Ao professor Messias Gonzaga Pereira, pela ajuda e grande incentivo durante esses anos de UENF.

As professoras Telma e Rosana, pela paciência, ajuda e incentivo durante este período de aprendizado.

Ao Vicente Mussi, pela amizade, paciência e ajuda desde a minha graduação até hoje.

A meu pai Reinaldo, por todo incentivo, cuidado e carinho de sempre.

A **Aldary Almeida Ferreira Filho**, meu eterno amor, pelo amor, força, carinho, amizade, incentivo e companherismo de todos os dias desde nosso reencontro. Amo muito você.

A minha sogra Luiza (Iza), por ter me acolhido em um momento muito difícil de minha vida, ter me dado a oportunidade de conhecer uma pessoa forte e de muita fé, uma mãe incondicionalmente mãe, pelo cuidado e carinho.

A minha cunhada Mychelle, pelo carinho, amizade, força e pelo computador.

A minha vó de coração Nilza, pelas orações de sempre e pelo carinho.

Aos meus demais familiares, Dinda e Cia, que mesmo distante estão sempre torcendo por mim.

Às minhas grandes amigas de hoje e sempre, Cintia, Kelly e Viviane, que sempre me incentivaram e me ensinaram o sentido da verdadeira amizade.

À Monique Carriello, pela ajuda, amizade e empenho durante a realização dos ensaios sorológicos e preparo da tese.

Ao professor Paulo Roberto Gagliardi, pela ajuda, paciência e por ter aberto às portas do LAGEM - Universidade Federal de São Carlos, como forma de aprimoramento profissional.

A Lauricema, técnica do LAGEM, e a Carolina, bolsista da UFSCAR, por terem me recebido muito bem, pela disponibilidade dispensada a mim, pelos ensinamentos e carinho.

Aos meus amigos de Laboratório, Kelly Lana, Juan, Alexandre, Munique e Elaine Ponte, pela ajuda e amizade.

Aos técnicos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Manoel, Lúcio e Leôncio, pela colaboração na execução deste trabalho.

Ao professor Geraldo Gravina, pela ajuda e paciência para com a estatística.

À Isa, Cláudia Pombo, Leandro, Ana Maria, pela ajuda e atenção.

Aos demais amigos, Elaine Manelli, Daniela, Laíse, Marcos Vinícios, Tatiane, Karine, Sérgio, Tia Moni, pelos incentivos e amizade.

As novas amigas Marilene e Graziela, que apesar do pouco tempo, já demonstraram por mim carinho.

Aos demais professores da pós-graduação, pelos conselhos e incentivo.

À todos vocês meu muito obrigada.

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.0 MATERIAL GENÉTICO.....	21
3.1 OBTENÇÃO DAS VARIEDADES E PLANTIO.....	21
3.2 TRATAMENTO TÉRMICO.....	25
3.3 SELEÇÃO DOS COLMOS E EXTRAÇÃO DE SEIVA DO XILEMA.....	25
3.4 ENSAIO SOROLÓGICO.....	25
3.5 CARACTERIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DA INCIDÊNCIA DE COLMOS INFECTADOS.....	26
4. RESULTADOS.....	28
5. DISCUSSÃO.....	38
6. RESUMO E CONCLUSÃO.....	43
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

RESUMO

Lima, R. M. P.; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Abril, 2008. Caracterização de variedades de cana-de-açúcar quanto à resistência e tolerância ao raquitismo-da-soqueira. Professor orientador: Silvaldo Felipe da Silveira. Conselheiros: Prof. Messias Gonzaga Pereira, Prof^a. Rosana Rodrigues e Josil de Barros Carneiro Jr.

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, sendo a principal atividade agrícola de muitas regiões do país. Dentre os fatores que afetam o rendimento dos canaviais na região litorânea do sudeste, envolvendo RJ, ES e NO de Minas Gerais, destaca-se o déficit hídrico associado a uma alta incidência do Raquitismo da Soqueira (*Ratoon Stunting Disease -RSD*), cujo agente causal é a bactéria *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*. O RSD é uma doença bacteriana difícil de ser controlada devido à dificuldade de seu diagnóstico. Os sintomas são inespecíficos e o diagnóstico é baseado na detecção do patógeno. A utilização de variedades resistentes e a termoterapia de toletes para obtenção de mudas constituem os métodos principais de controle. O objetivo deste trabalho foi caracterizar as variedades RB 911049, 92579, 855453, 858927, 835486, 931530, 855113, 918639, 72454, 855511, 858539, 845210, 867515, 93509, 872552 e SP 71-1406, 80-1816, 80-1842, 81-3250, 83-2847 quanto à resistência/tolerância à doença e gerar informações para auxiliar os programas de melhoramento genético da cultura voltado para as regiões canavieiras dos Estados do RJ, ES e noroeste de MG. O experimento foi montado em blocos casualizados, com três repetições, em

parcelas subdivididas em faixas. Cada parcela casualizada no bloco continha uma faixa, cujo material propagativo foi submetido ao tratamento térmico, e outra, cujo material propagativo não foi tratado. Os colmos para o tratamento e plantio foram obtidos de áreas comerciais e de multiplicação com histórico de alta incidência de raquitismo. O plantio foi feito em Conceição da Barra-ES em 2006. As características avaliadas na soca foram: número de colmos por parcela; diâmetro médio do colmo, brix, peso da parcela, peso médio do colmo, TCH – toneladas de cana por hectare, TBH – toneladas de brix por hectare e incidência média da doença por meio do teste sorológico de “Dot Blot”. Os colmos para o tratamento e plantio foram obtidos de áreas comerciais e de multiplicação com histórico de alta incidência da doença. Observou-se que antes do tratamento térmico nenhuma variedade comercial utilizada apresentou-se como resistente, porque a incidência de colmos infectados previamente foi em geral muito alta, variando entre 40% e 100% de colmos soro-positivos. A média de incidência da doença aumentou de cana planta para soca de 62 para 88 %. As variedades RB 867515, RB 835486, SP 91-1049 e RB 92579 foram as que apresentaram maiores valores de PMC e DIA, simultaneamente, mesmo com alta incidência média de colmos soro-positivos, sendo classificadas como mais tolerantes ao RSD nas condições do experimento. As outras variedades foram consideradas menos tolerantes ao RSD nas condições experimentais (déficit hídrico de 546 mm em 2007). As variedades RB 835486, SP 71-1406 e RB 867515 foram responsivas ao tratamento térmico, pois as parcelas tratadas apresentaram maiores rendimentos que as não tratadas, nas condições experimentais, embora, quanto à redução da incidência de RSD o tratamento térmico foi inefetivo, tanto em cana-planta quanto na primeira soca. Acredita-se que o déficit hídrico acentuado nos anos de 2006 e 2007 tenha agravado demasiadamente os danos causados pelo raquitismo, resultando em altas incidências da doença neste experimento.

Palavras-chave: RSD, *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, doença bacteriana, *Saccharum* sp.

ABSTRACT

Lima, R. M. P.; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; April, 2008. Characterization of varieties of sugar cane on the resistance and tolerance to ratoon stunting disease. Advisor: Silvaldo Felipe da Silveira. Advisers: prof. Messias Gonzaga Pereira, Prof^a. Rosana Rodrigues e Josil de Barros Carneiro Jr.

Currently, Brazil is the largest producer of sugar cane in the world and is the main agricultural activity in many regions of the country. Among the factors that affect the yield of sugarcane in the state can be cited: water deficit, planting varieties outdated, low renewal of crops and occurrence of diseases and pests. Among the factors the diseases transmitted via seedlings as Raquitismo of Soqueira (Ratoon Stunting Disease-RSD), whose causative agent is the bacterium *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, has greater potential to reduce the productivity of sugar cane. Today the disease is found in most areas planted with sugar cane may cause losses above 50% in susceptible varieties subject to the condition of water stress. The disease is spread by infected toletes planting, harvesting manual with facões, mechanical harvesting and other instruments of cultivation. The RSD is one of the bacterial disease more difficult to be controlled because of its difficulty in diagnosis among the measures to control the disease there is the use of resistant varieties and with the toletes for obtaining seedlings. The modern varieties described as resistant to the RSD in their region of origin, has been susceptible, presenting plots with high incidence of the disease, in the coastal region canavieira of Espírito Santo, Bahia and southern West Mineiro. This study

aimed to characterize the sort RB 911049, 92579, 855453, 858927, 835486, 931530, 855113, 918639, 72454, 855511, 858539, 845210, 867515, 93509, 872552 and SP 71-1406, 80-1816, 80 -- 1842, 81-3250, 83-2847 on the resistance / tolerance to disease and generate information to assist the programs of genetic improvement of the culture back toward the regions of the states of canavieiras RJ, ES and MG. To that end was mounted casualizados experiment in blocks with three replications in plots divided into tracks, where the varieties used were not subjected to treatment and thermal treatment. The planting was done in the bar Concepcion, the Holy Spirit. The characteristics were evaluated in soca: number of stems per plot; average diameter of the stem, brix, weight of the plot, average weight of the stem, TCH - tons of cane per hectare, TBH - brix ton per hectare and average incidence of the disease through serological test "Dot Blot." For the serological analysis performed before the heat treatment can be observed that no commercial variety used presented themselves as resistant because the incidence was relatively high, ranging from 40% to 100%. The average impact when cane plant varieties and when ratoon cane showed an increase of disease in soca. Among the varieties studied the RB 867515 and 92579 RB were that showed higher yields in tons of cane per hectare and brix tonne per hectare. For variable incidence average was no effect of heat treatment for some varieties, demonstrating that for the varieties RB 835486, 867515 RB SP 71-1406 and the heat treatment can be an alternative to minimize the damage by RSD. As for productivity in tonne of cane per hectare (TCH) observed that the varieties RB 867515 and 92579 RB were that showed higher values of TCH, middle and high incidence of disease, they tend to greater tolerance to the environment of RSD experiment. The variety SP 71-1406 which showed an incidence average of 80% which was the lowest value obtained for TCH, the variety tends to be less tolerant to the RSD.

Keywords: RSD, *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, disease resistance, sugar cane, ratoon stunting.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo. O parque sucroalcooleiro nacional possui 355 usinas de açúcar e destilarias de álcool, sendo o setor responsável por cerca de 4,0 milhões de empregos diretos e indiretos, congregando mais de 72 mil agricultores (Jornal da cana, 2007). A área ocupada com a cultura é de 6,96 milhões de hectares (Conab, 2007).

O Brasil deve fechar a produção da safra de cana-de-açúcar 2007/08 em 475,07 milhões de toneladas. Cerca de 82,37% da produção está concentrada na região Centro-Sul, enquanto a região Norte-Nordeste contribui com 17,63% da produção total (Conab, 2007).

A cana-de-açúcar é a principal atividade agrícola da região Norte do Estado do Rio de Janeiro, possui uma área plantada de, aproximadamente, 161.400ha (Anuário da cana, 2007). Contudo, a produtividade agrícola da cana-de-açúcar no Estado do Rio de Janeiro é de 45,5 t/ha, enquanto a média do Estado de São Paulo é de 87 t/ha (Conab, 2007).

Dentre os fatores que afetam o rendimento dos canaviais podem ser citados: a deficiência hídrica, o plantio de variedades ultrapassadas, a baixa renovação das lavouras e a ocorrência de doenças e pragas (Anuário da cana, 2007).

Da cana-de-açúcar produzida no país, 86,47% será esmagada pela indústria sucroalcooleira e o restante 13,53% será destinada à fabricação de cachaça, à alimentação animal, a sementes e a outros fins (Conab, 2007).

A importância sócio-econômica da cultura canavieira em solos brasileiros é reconhecida devido à sua múltipla utilidade. Destas, o álcool combustível, produzido a partir da cana-de-açúcar, agrega conquistas agronômicas e industriais, que colocam o Brasil na vanguarda da produção de energia renovável no planeta, gerando uma fonte de energia alternativa mais barata e menos poluente, como roga o protocolo de Kyoto. Os combustíveis líquidos renováveis são importantes para a substituição dos derivados de petróleo, sendo uma oportunidade para o fortalecimento da agricultura no Brasil.

A cana-de-açúcar comercializada é resultante de intensa hibridação interespecífica, visando à obtenção de cultivares mais produtivas, precoces e resistentes a diversos tipos de estresse (Rosa, 2006).

No Brasil, encontram-se relatadas 58 entre as 216 doenças relacionadas à cana-de-açúcar em todo o mundo (Sanguino, 1998). Destas, as de maior importância econômica atualmente são: raquitismo da soqueira (*Leifsonia xyli* subsp. *xyli* Davis - Lxx), escaldadura das folhas (*Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson), carvão (*Ustilago scitaminea* Sydow), ferrugem (*Puccinia melanocephala* H. & P. Syd.) e o mosaico ("Sugarcane Mosaic Vírus"- SCMV) (Barbosa, 2000).

Dentre as principais doenças, com potencial de reduzir a produtividade da cana-de-açúcar, destaca-se o Raquitismo da Soqueira (Ratoon Stunting Disease - RSD), cujo agente causal é a bactéria *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (Evtshenko et al., 2000 sinonímia: *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*, Davis, 1984). No Brasil, foi relatada pela primeira vez em 1956, na região de Campos dos Goytacazes – RJ, por Frederico da Veiga (Veiga, 1956). Em 1989, o RSD já havia sido relatado em 61 países produtores de cana-de-açúcar (Tokeshi, 1997).

A doença é encontrada na maioria das áreas cultivadas com cana-de-açúcar, podendo causar perdas acima de 50% em variedades suscetíveis e não tolerantes submetidas à condição de estresse hídrico, conforme relatos de Gillaspie & Teakle (1989) e Tokeshi (1997). Esses autores relatam que incrementos na incidência podem contribuir para o declínio sucessivo durante o cultivo no campo. Estimativas de perdas de produtividade variam de 5 a 30%, dependendo do genótipo e da disponibilidade de água no solo (Anuário da cana, 2007).

Quando o desenvolvimento da cana-de-açúcar é prejudicado pela deficiência hídrica, podem-se observar sintomas externos do raquitismo da

soqueira, como crescimento irregular, plantas raquíticas, pouco perfilhamento, colmos finos e sintomas de falta de água. Não havendo déficit hídrico, todos estes sintomas podem desaparecer (Tokeshi, 1997). Já os sintomas internos como a presença de pontuações ou vírgulas avermelhadas nos feixes do xilema na região do nó, só podem ser observados em variedades suscetíveis, porém, nenhum sintoma interno ou externo tem poder diagnóstico, por não ser específico do raquitismo da soqueira (Comstock et al., 1997).

Uma vez que a doença não pode ser prontamente reconhecida, pois os sintomas são inespecíficos, a disseminação do RSD pelo plantio de mudas infectadas é facilitado. Além da muda, a doença é disseminada mecanicamente durante a colheita manual com facões, colheita mecânica e outros instrumentos de cultivo. Por essas razões, o RSD é uma doença bacteriana de controle difícil, sendo a utilização de variedades resistentes e a termoterapia das mudas por imersão em água quente as medidas atualmente mais recomendadas. A termoterapia, por sua vez, não apresenta 100% de eficiência na inativação da *Lxx*, sendo que em poucos ciclos de produção e colheita a doença retoma os níveis tão elevados quanto os verificados antes do tratamento (Matsuoka, 1971).

Para se confirmar a diagnose do raquitismo, são utilizadas técnicas de detecção do patógeno na seiva, tais como microscopia de contraste de fase (Steindl, 1976), técnicas sorológicas (Gillaspie, 1978) e a técnica de Reação de Polimerase em Cadeia – PCR (Pan et al., 1998). Técnicas mais avançadas, como o Nested-PCR, permitem apresentar uma sensibilidade de detecção de dez células por ml de seiva (Maccheroni & Matsuoka, 2006)

Acredita-se que em muitas regiões produtoras do Brasil, como o nordeste, a região litorânea do sudeste, que se estende do noroeste de Minas Gerais, norte capixaba e norte fluminense, o RSD seja uma doença particularmente importante, pois os sintomas agravam-se com o déficit hídrico. Nestas regiões, variedades resistentes ou tolerantes a doença são desconhecidas e não foram até o momento caracterizadas em relação a esse atributo. As variedades modernas descritas como resistentes ao RSD em sua região de origem têm sido suscetíveis, apresentando talhões com incidência elevada da doença na região litorânea canavieira do Espírito Santo, Sul da Bahia e Oeste Mineiro (Ponte, 2006).

Para que o setor sucroalcooleiro alcance os níveis de produtividade necessários ao equilíbrio e rentabilidade de sua cadeia de produção e responda

as expectativas para o aumento da produção de combustível alternativo, a introdução de novas variedades é uma alternativa de evitar a degenerescência dos materiais utilizados em cultivo intensivo.

Atualmente, trabalhos realizados dentro e fora do país por entidades públicas e privadas, como o mapeamento genético da cana-de-açúcar, bem como da própria bactéria, utilização de bactérias endofíticas para controle biológico, desenvolvimento de variedades transgênicas, vêm trazendo informações relevantes para que se reduza os danos causados pela doença e, assim, aumentar a produtividade da cultura.

A literatura referente à resistência e/ou tolerância ao raquitismo da soqueira de variedades de cana-de-açúcar é escassa e os canaviais, em geral, encontram-se bastante infectados (Maccheroni & Matsuoka, 2006).

Neste trabalho teve-se por objetivo caracterizar as variedades de importância regional quanto à resistência/tolerância à doença na região, visando o controle integrado do raquitismo-da-soqueira da cana-de-açúcar e gerar informações para agilizar o processo de melhoramento da cultura voltado para as regiões canavieiras dos Estados do RJ, ES e MG.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Classificação botânica e origem da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é uma planta alógama (Walker, 1987), pertencente à família Poaceae, tribo Andropogoneae e gênero *Saccharum*. Em nível de espécie, a classificação botânica mais aceita é aquela relatada por Jeswiet (1925), modificada por Brandes (1956), conforme citado por Daniels e Roach (1987). Segundo esses autores, no gênero *Saccharum* ocorrem seis espécies: *S. officinarum*, *S. spontaneum*, *S. robustum*, *S. sinense*, *S. barberi* e *S. edule*. Os genomas de todas, exceto o de *S. edule*, podem estar participando, ainda que parcialmente, dos híbridos interespecíficos atualmente cultivados.

O centro de origem da cana-de-açúcar ainda é muito discutido, porém, alguns pesquisadores consideram que ela seja nativa das ilhas do Arquipélago da Polinésia (Cesnik, 2004).

Mukherjee (1957) (citado por Roach e Daniels, 1987) demonstrou que os gêneros *Saccharum*, *Erianthus sect. ripidium*, *Sclerostachya* e *Narenga* formam um grupo de intercruzamento muito próximo, denominado "Complexo *Saccharum*", envolvidos na origem da cana-de-açúcar. Posteriormente, Daniels et al. (1975) sustentaram que a esse complexo deveria acrescentar *Miscanthus sect. Diandra* Keng, sem o qual ele não conteria todas as características botânicas que permitiriam o surgimento de *Saccharum*. A seguir, apresenta-se sucintamente a origem das espécies de *Saccharum*.

***S. officinarum* L. (2n=80)** - essa espécie é um complexo poliplóide, cujo centro de diversidade é a Nova Guiné, sendo seu centro de origem desconhecido. Admite-se que tenha surgido naquela mesma região, a partir de *S. spontaneum*, *Miscanthus* e *Erianthus arundinaceus*, passando por *S. robustum*. Constitui-se da espécie base dos programas de melhoramento, por possuir características especiais como, colmos suculentos com bom teor de sacarose, boa pureza do caldo e teor de fibra adequado para moagem. São exigentes em clima e solo e muito sensíveis a doenças, como o "mosaico" (Matsuoka et al., 1999).

***S. spontaneum* L. (2n=40-128)** - é uma espécie altamente polimórfica que cresce no trópico e subtropical, possivelmente produto da introgressão entre membros do complexo *Saccharum*. É a espécie que, moderadamente, tem dado maior contribuição ao melhoramento, com suas características como vigor, dureza, perfilhamento e capacidade de rebrota da soqueira, devido especialmente ao vigoroso rizoma e a resistência a estresses, doenças e pragas. São plantas de menor porte, colmos curtos e finos, fibrosos e sem açúcar, com sistema radicular bem desenvolvido e perfilhamento abundante, vegetando bem em condições adversas, sendo resistentes ao mosaico (Matsuoka et al., 1999).

***S. robustum* Jesw. (2n=60-205)** - Acredita-se que essa espécie originou-se da introgressão de *S. spontaneum* com outros gêneros da Região de Nova Guiné. Admite-se que a partir dessa espécie é que *S. officinarum* evoluiu, por meio de seleções feitas pelo homem, a procura de tipos mais macios e ricos em caldo açucarado. Tem pouca participação nos híbridos atuais. As plantas têm porte alto, são muito fibrosas e pobres em sacarose, são também tolerantes à umidade e suscetíveis ao mosaico (Matsuoka et al., 1999).

***S. sinense* Roxb (2n=111-120) e *S. barberi* Jesw. (2n=81-124)** - Consideradas por alguns taxonomistas como uma única espécie. Essas espécies eram cultivadas pelos nativos da China e do Norte da Índia desde épocas pré-históricas, não havendo definição segura sobre sua origem. *S. sinense* apresenta colmos finos, fibrosos e medianamente ricos em sacarose, sistema radicular desenvolvido e menos exigente em solos, suportando os secos e pobres. Algumas cultivares são resistentes ao mosaico.

Já *S. barberi* são plantas que apresentam porte médio a baixo, colmos finos, fibrosos e pobres em sacarose, consideradas rústicas e pouco exigentes em fertilidade, suscetíveis ao mosaico e tolerante ao frio.

***S. edule*. (2n=60-80)** - esta espécie é considerada um produto da introgressão de *S. officinarum* ou *S. robustum* com outro gênero, sendo uma série poliplóide, com formas aneuplóides. Por possuir uma inflorescência compacta e comestível, é uma olerícola tradicional dos melanésios, sendo cultivada nos jardins de vilas de Nova Guiné e Ilhas Fiji (Matsuoka et al., 1999).

2.2. Cana-de-açúcar no Brasil

A cana-de-açúcar é cultivada em áreas subtropicais, entre 15° e 30° de latitude, podendo se estender até 35° de latitude tanto norte quanto sul, sendo produzida comercialmente em mais de 70 países e territórios.

No Brasil, o cultivo da cana-de-açúcar iniciou-se na metade do século XVI, através de Martin Afonso de Souza, que a trouxe para a Capitania de São Vicente (Castro et al., 2001). Os primeiros três séculos do cultivo de cana-de-açúcar no Brasil ficaram conhecidos como "ciclo da Creola", devido ao predomínio desta variedade, que foi substituída mais tarde pela "Caiana", mais rica e produtiva (Miocque, 1977).

Com o tempo, novas variedades de cana "caiana" foram introduzidas, mas tiveram seu cultivo encerrado devido a uma epidemia de mosaico na década de 20. Esse fato abriu espaço para a entrada de variedades javanesas (POJ) e, mais tarde, para variedades indianas importadas de Coimbatore (Co). Também com a ocorrência de epidemias severas do carvão da cana-de-açúcar *Ustilago scitaminea* Sydow, novos genótipos foram necessários (Matsuoka et al., 1999).

Em 1910 foi criada a primeira infra-estrutura técnica para pesquisa de melhoramento da cana-de-açúcar no Brasil, com a fundação da Estação Experimental de Campos – RJ e de uma segunda em Barreiros – PE (Miocque, 1993). Posteriormente, em 1936, foi instalado o primeiro programa de melhoramento genético da cana-de-açúcar no Estado de São Paulo, para que fossem realizados estudos com os genótipos introduzidos de outras regiões como as variedades vindas de Java, da Índia e Estados Unidos (Landell et al., 1997).

A partir de 1950, as variedades CB (Campos Brasil), desenvolvidas na Estação Experimental de Campos-RJ, passaram a ser amplamente cultivadas, destacando-se a CB41-76 e CB45-3, até o início da década de 80. No final da

década de 60 foram liberadas as variedades IAC52-150 e IAC48-65, que se destacaram na década de 70.

Na década de 70, Azzi e Paranhos importaram a variedade NA56-79. Seu sucesso foi tão grande que na década de 80 já ocupava 50% da área cultivada com cana no Brasil. Porém, com a ocorrência de doenças como o carvão, ferrugem e raquitismo da soqueira, o uso da NA56-79 foi condenado (Matsuoka, 1991; Matsuoka et. al, 1999).

Com os programas de melhoramento da Copersucar (variedades SP) e do IAA/Planalsucar (variedades RB), novas variedades mais produtivas foram lançadas e encontram-se dispersas em várias regiões do país. Hoje, as cultivares de sigla RB, desenvolvidas pela Rede Interuniversitária de desenvolvimento do setor sucroalcooleiro (Ridesa) são as mais plantadas, pois ocupam mais de 50% da área plantada com cana-de-açúcar no país (Barbosa et al., 2005).

2.3. Importância econômica

A cultura da cana-de-açúcar foi introduzida no Brasil, na vila de São Vicente, em São Paulo, a partir das primeiras mudas trazidas na expedição marítima de Martim Afonso de Souza, em 1532. No ano seguinte, foi construído nessa vila o primeiro engenho de açúcar. Em seguida, na capitania de Pernambuco, implantou-se o primeiro centro açucareiro do Brasil (Veiga et al., 2006).

A partir de meados do século XVI efetivou-se a expansão da atividade açucareira para outros Estados das regiões Nordeste e Sudeste.

A agroindústria da cana-de-açúcar sempre ocupou posição de destaque na economia brasileira, mesmo enfrentando períodos de crise ao longo de sua história. Um deles ocorreu em 1929, devido à queda dos preços internacionais do açúcar, que provocou efeitos negativos sobre as exportações brasileiras.

A partir da década de 70, a área colhida com a cultura vem crescendo apresentando taxas significativas do aumento da área cultivada. Comparando a situação de 2004 com a de 1970, por exemplo, observa-se que a área colhida aumentou de 1,725 milhões de hectares para 5,635 milhões de hectares na safra 2004/05 (Veiga et al., 2006).

Em 1975, o governo brasileiro criou o Programa Nacional do Álcool (PROÁLCOOL), com o objetivo de ampliar substancialmente a produção de álcool no país.

A criação do PROÁLCOOL destinou grande parte da matéria-prima para produção de combustível, mas o Brasil apresentou, nas últimas três décadas, considerável aumento na produção de açúcar, sendo, atualmente, não apenas o maior produtor mundial de cana-de-açúcar, mas também de açúcar e de álcool.

A expansão da cultura canavieira ocorreu em maiores proporções na região Sudeste, principalmente no Estado de São Paulo (Veiga et al., 2006).

Dos anos 80 até a década de 90, a produção de álcool etílico chegou a superar a de açúcar, face à forte ampliação da demanda provocada pelo uso de veículos movidos a álcool.

No período de 1979 até 1983, houve um forte aumento nas vendas dos veículos a álcool, sendo de 1984 a 1989 o período de predomínio dos veículos a álcool. A partir de 1990 voltaram a predominar as vendas dos veículos a gasolina.

Na década atual, as vendas de veículos a álcool têm sido relativamente baixas. Entretanto, deve-se ressaltar o sucesso do lançamento dos veículos *flex fuel* em 2003, cujas vendas em 2004 representaram 20,2% do total de vendas internas no país. Isso indicou uma boa aceitação deste tipo de veículo no mercado nacional (Veiga et al., 2006).

Em março de 2008 a frota de carros “flex” atingiu o equivalente a 10% da frota automotriz do Brasil. As vendas de bicombustíveis representaram 83,8% do total de veículos vendidos em maio de 2008, contra 76,3% em maio de 2006. As perspectivas de uso de veículos *flex fuel* são bastante promissoras e devem impulsionar o consumo de álcool (Revista Época, 2008).

A atividade canavieira nacional vive em 2008 uma das melhores fases de sua já longa história. A safra brasileira de cana-de-açúcar 2007/08 é superior à do ano anterior na maioria das regiões do país. Estima-se para 2008 uma produção de 20,88 bilhões de litros de álcool e 29,65 milhões de toneladas de açúcar e uma colheita de 549,91 milhões de toneladas de cana, volume esse 15,8% superior ao do ciclo passado (2006-07), configurando uma das maiores safras já ocorridas no País (Anuário da cana, 2007).

Em 2008, a área ficou 13,0% acima da registrada na temporada 2006/07. Foram cultivados 6,96 milhões de hectares; ou seja, 800,4 mil hectares. Do total,

82,37% (ou 5,74 milhões de hectares) estão na região Centro-Sul e os 17,63% restantes (1,22 milhões de hectares) distribuem-se pelas regiões Norte e Nordeste (Conab, 2007).

Além do açúcar e do álcool, que representam 86,39% (ou 475,07 milhões de toneladas) do total de cana colhido, os outros 13,61% são reservados para fabricação de cachaça, alimentação animal, sementes, produção de rapadura, açúcar mascavo e outros fins. São Paulo continua sendo o principal pólo sucroalcooleiro do Brasil. Em 2008, São Paulo deverá esmagar 278,18 milhões de toneladas de cana, 58,55% do total do total a ser produzido (Conab, 2007).

De um total aproximado de 30 milhões de toneladas de açúcar produzidas no Brasil, um terço fica no mercado interno e dois terços são exportados (Anuário da cana, 2007). Nos últimos anos, em virtude da estagnação do mercado interno, o Brasil expandiu bastante seus embarques para o exterior, tornando-se o maior exportador mundial de açúcar. Em 1990, o País vendia no mercado mundial um milhão de toneladas de açúcar. Em 2005, chegou a 18,1 milhões de toneladas, com crescimento de 48% em relação ao ano anterior. Em 2006, os negócios externos atingiram 20 milhões de toneladas, índice que deverá se repetir em 2007 (Anuário da cana, 2007).

A cana-de-açúcar pode não ser a única fonte para a produção de etanol, mas é a que estabelece a melhor relação custo-benefício. Assim, além da possibilidade do açúcar, nicho em que o Brasil é hoje o maior fornecedor mundial, o álcool ganhou as ruas e ofereceu opção barata para os motoristas (Anuário da cana, 2007).

2.4. Raquitismo da Soqueira

O raquitismo-da-soqueira (RSD), uma das mais importantes doenças da cana-de-açúcar, é causado pela bactéria *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (Lxx). A doença foi descrita pela primeira vez na safra de 1944-45, em Queensland, na Austrália, após uma primavera bastante seca, onde, Steindl observou que canaviais da variedade Q28 tiveram péssimo desenvolvimento das socas quando comparados com socas adjacentes da mesma variedade. Embora houvesse indicações de que um patógeno poderia estar associado, a ausência de sintoma externo específico dificultou os estudos de identificação do agente responsável. Somente em 1949 é

que se obtiveram resultados experimentais indicando que um patógeno era responsável por essa doença (Steindl, 1961).

Em Campos dos Goytacazes - RJ, em 1956, Frederico Veiga, observando plantas suspeitas em um lote de variedades importadas, concluiu estar diante do Raquitismo da Soqueira (RSD). Quando inoculou extrato do xilema daquelas canas supostamente doentes em variedades locais, reproduziu os sintomas do raquitismo (Veiga, 1956).

A princípio, acreditava-se que o agente causal do RSD fosse um vírus (Matsuoka, 1971; Davis et al., 1980). Isso porque não se conseguia isolar microrganismos em cultura pura que reproduzissem os sintomas da doença e também porque a doença era facilmente disseminada mecanicamente via instrumentos de corte. A alta infectividade do extrato de folhas e bainhas de plantas doentes capaz de infectar novas plantas, mesmo diluído 25000 vezes, e a incapacidade de se associar um determinado microrganismo à doença, reforçavam a idéia de que a doença era de etiologia viral (Cardoso, 1986).

Em 1973, Gillaspie e colaboradores (citado por Cardoso, 1986) visualizaram células bacterianas na seiva do xilema extraído de canas contaminadas, em microscópio de contraste de fase.

A infecção/colonização depende da densidade de talos bacterianos de *Lxx* na seiva e da resistência/tolerância varietal. Variedades resistentes necessitam de uma densidade maior (10^8 células/ml) para que sejam infectadas. Já em variedades suscetíveis, a densidade é de 10^4 células/ml (Gillaspie et al., 1973).

Na década de 1980, Davis e colaboradores conseguiram isolar pela primeira vez a bactéria associada ao raquitismo da soqueira em meio de cultura. Os testes de patogenicidade foram feitos com oito isolados da bactéria em cultura pura provenientes de plantas de cana-de-açúcar doentes de diferentes regiões: Brasil, Japão, Estados Unidos e África do Sul. Os oito isolados causaram sintomas de RSD em plantas da variedade CP 44-101 e foram reisolados posteriormente. Davis e colaboradores, em 1984, classificaram a bactéria associada ao RSD no grupo das bactérias corineformes, denominando a espécie: *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*. Posteriormente, a bactéria foi reclassificada como *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (Evtushenko et al., 2000).

2.4.1. Sintomas, danos e métodos de controle

Em períodos de seca, quando o desenvolvimento da planta é prejudicado pela deficiência hídrica, podem-se observar os sintomas externos do RSD, sendo a observação facilitada se tiver nas mesmas condições de desenvolvimento planta sadia para a comparação. Externamente, os sintomas mais comuns são: crescimento irregular e retardado, subdesenvolvimento e encurtamento dos colmos e, em condições extremas, aspecto de murcha, necrose nas pontas e bordas das folhas de plantas de cana-de-açúcar .

A presença e a intensidade dos sintomas são determinadas pelo genótipo e idade da cultura, além de condições climáticas, onde, em plantas doentes, os sintomas externos podem desaparecer quando não há déficit hídrico. A influência do ambiente na expressão da doença é maior nas variedades suscetíveis e intolerantes. Já, naquelas suscetíveis, que são infectadas pela bactéria, mas que apresentam tolerância, os efeitos do ambiente passam despercebidos quando se compara material sadio e contaminado, ou somente são notados em condições de estresse muito forte. Além disso, esses sintomas podem ser induzidos por estresses, ataque de pragas e outras doenças (Steindl, 1961).

Os sintomas internos induzidos pelo raquitismo em plantas de cana-de-açúcar são representados por estrias (vírgulas) e pontuações avermelhadas nas regiões dos nós, na altura do anel de cera, como observado em cortes longitudinais e transversais de plantas adultas, respectivamente. Internamente, ocorre também coloração rosa nos tecidos meristemáticos de plantas jovens. Todavia, experimentalmente, é possível obter tais reações com inoculações de *Fusarium moniliforme*, *Colletotrichum falcatum*, *Xanthomonas albilineans*, *X. campestris* pv. *vasculorum* e *Erwinia herbicola*, dentre outros .

Como os sintomas do raquitismo são inespecíficos, um dos maiores problemas para as pesquisas, ou mesmo, para se avaliar a sanidade das mudas de cana-de-açúcar em viveiro é a falta de um método para diagnóstico preciso da doença (Sanguino *et al.*, 1984).

O êxito no cultivo *in vitro* de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (Davis *et al.*, 1980) possibilitou a produção de anticorpos específicos para a detecção deste patógeno, além disso, desde os anos 70, já se podia visualizar bastonetes pleomórficos na seiva do xilema por microscopia de contraste de fase (James,

1996). Para detecção de *Lxx*, empregam-se principalmente métodos sorológicos e marcadores de DNA (Gillaspie, 1978; Gillaspie & Harris, 1979; Harrison & Davis, 1986, 1990; Guzmán & Victoria, 1993).

As perdas decorrentes da redução da biomassa da cana podem chegar a 50% em variedades suscetíveis submetidas a condições de estresse hídrico (Gillaspie & Teakle, 1989; Tokeshi, 1997). Outro dano é a redução no número de cortes em talhões altamente infectados, pelo comprometimento do crescimento das plantas. Em média, a cultura permite até quatro cortes consecutivos em plantas saudas, e sob altas incidências do RSD esse número reduz para aproximadamente, dois cortes, elevando, assim, o custo da produção devido à necessidade de renovação dos plantios (Rosa, 2006).

O uso de variedades resistentes, em conjunto com a produção de mudas saudas através de tratamento térmico e a descontaminação de instrumentos de corte são medidas de controle, porém o tratamento térmico não é 100% eficiente, persistindo um residual de bactérias dentro dos colmos tratados (Gillaspie & Teakle, 1989). Assim, devido ao alto poder infectivo do caldo de colmos doentes, a doença pode evoluir rapidamente para áreas vizinhas ou até mesmo dentro do talhão para as soqueiras subseqüentes (Maccheroni & Matsuoka, 2006).

O uso de variedades que possuam a capacidade de limitar a atuação do patógeno em seus tecidos e conseqüentemente as perdas decorrentes da doença consistir-se-ia na forma mais racional e econômica de controle do RSD.

A produção de plantas a partir de cultura de meristema também vem sendo utilizado como forma de produzir mudas saudas. Consiste em multiplicar a planta de cana-de-açúcar a partir de um tecido meristemático que não possui ainda vasos de xilema (Maccheroni & Matsuoka, 2006).

2.4.2. Agente causal do RSD

Leifsonia xyli subsp. *xyli* é uma bactéria classificada no grupo corineforme, sendo gram-positiva, aeróbica obrigatória, pleomórfica e fastidiosa. A exemplo de outros membros do gênero *Leifsonia*, o patógeno não forma endósporos e é caracterizado pela presença do ácido 2,4-diaminobutírico em sua parede celular, metaquinonas com 9 ou 10 cadeias de carbono, fosfatidilglicerol e difosfatidilglicerol como principais fontes de fosfolipídios e ausência de ácidos micolíticos (Davis et al., 1984; Young et al., 1992; Evtushenko et al., 2000).

O nome do gênero foi dado em homenagem a Einar Leifson, o primeiro a isolar e descrever o primeiro organismo do gênero, *Leifsonia aquática*. São descritas oito espécies, isoladas de diversos ambientes (Leifson, 1962; Lee et al., 1997; Susuki et al., 1999; Reddy et al., 2003).

A espécie *Leifsonia xyli* compreende duas subespécies: *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* e *Leifsonia xyli* subsp. *cynodontis*, sendo as duas patogênicas a gramíneas do gênero *Cynodon*. Porém, só *Lxx* infecta cana-de-açúcar naturalmente.

Lxx é uma bactéria vascular que habita exclusivamente o interior dos vasos do xilema em Poaceae do gênero *Saccharum*, obstruindo a translocação da água e nutrientes em condições de estresse hídrico. Suas células baciliformes medem de 0,25 - 0,5 µm por 1 - 4 µm, com forma reta ou levemente curva (Teakle et al., 1973). As colônias apresentam aspecto não pigmentado e circular, com um diâmetro variando de 0,1 a 0,3mm, quando crescidas em meio SC (Davis et al., 1984).

A bactéria pode ser transmitida por colmos provenientes de plantas doentes e mecanicamente por meio dos instrumentos de corte (facões) e implementos agrícolas (colheitadeiras e plantadoras de cana-de-açúcar). A bactéria mantém-se viva e infectiva nos facões e colheitadeiras por mais de seis dias e, eventualmente, ratos e outros roedores podem vir a transmitir a bactéria contaminando viveiros e mudas saudáveis. No solo e em restos de cultura, a bactéria não sobrevive, mas em caldo mantido no congelador é infectiva por 150 dias ou mais (Sanguino, 1993).

Não há relatos da sobrevivência de *Lxx* em sementes verdadeiras de cana-de-açúcar ou em insetos vetores. A sobrevivência, então, fica dependente de plantas hospedeiras (Autrey et al., 1991). Todavia, não se encontrou nenhuma outra gramínea naturalmente infectada, dentro ou nas proximidades dos canaviais, descartando a hipótese de que hospedeiros alternativos naturais poderiam constituir uma estratégia de sobrevivência da bactéria. A bactéria está freqüentemente presente na cultura da cana-de-açúcar, pois a exploração econômica da mesma é caracterizada pela monocultura e sobreposição de cultivos (Ros, 2004).

2.5. Melhoramento da cana-de-açúcar no Brasil e resistência ao RSD

No Brasil, o melhoramento é realizado por instituições públicas e privadas, com grande interação com o setor produtivo. Entretanto, o melhoramento é dificultado pela complexidade apresentada pelo genoma dessa espécie, dada a natureza híbrida de seus cultivares, que possuem padrão citogenético de difícil análise, origem multiespecífica, alto nível de ploidia e aneuploidia (Heinz e Tew, 1987).

No Brasil, existem quatro programas de melhoramento genético de cana-de-açúcar, sendo eles: RIDESA (RB), Coopersucar (SP-CTC), Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e, o mais recente deles, CANAVIALIS (CV).

Em sua maioria, os programas de melhoramento genético praticam a seleção e clonagem de genótipos superiores de populações segregantes obtidas através de cruzamentos sexuais entre indivíduos diferentes, visando à resistência as doenças mais importantes e predominantes, com diferentes estratégias e métodos.

Todos os anos clones promissores são cruzados, produzindo sementes que são utilizadas para a produção de uma população de plântulas. Essas são levadas a campo e, após seu desenvolvimento, entram nas etapas de seleção (Calija et al., 2001; Rattey et al., 2004).

A seleção, porém, é um longo e caro processo com número determinado de etapas dependentes do programa de melhoramento (Calija et al., 2001; Rattey et al., 2004). Em cada etapa são realizadas avaliações que permitem a identificação dos clones promissores, que passarão para a fase seguinte e apenas uma pequena porcentagem chega até as etapas finais (Landell et al., 1999; Calija, 2001; Kimbeng & Cox, 2003).

O tempo gasto entre a realização do cruzamento e a liberação comercial das variedades varia de acordo com o programa, indo de 12 anos a 15 anos (Landell et al., 1999, Calija et al., 2001; Kimbeng & Cox, 2003).

Apesar do desenvolvimento de novas técnicas, como as que utilizam marcadores moleculares, para obtenção e seleção destas variedades ao longo dos anos, poucas são as que possibilitam a escolha adequada de parentais, pois das variedades usadas como progenitores em sua maioria são variedades comerciais e pré-comerciais, o que pode estreitar a sua base genética (Lopes, 2007).

Como em cana-de-açúcar a resistência a praticamente todas as doenças é parcial e com efeito aditivo, deve-se buscar nos programas de melhoramento níveis de resistência que reduzam os danos econômicos, em vez de se tentar a resistência total, de alto risco em culturas perenes e mais difícil de ser encontrada nesta cultura (Moura, 2004). Quando a resistência a doenças é caracter quantitativo, a seleção de indivíduos resistentes é muito influenciada por componentes ambientais (Moura, 2004).

Para o Raquitismo da soqueira, uma doença freqüente em viveiros e canaviais comerciais e de grande potencial de danos e perdas, a seleção de cultivares resistente sempre foi uma questão difícil. Métodos de diagnose mais eficientes, como TBIA (*Tissue Blot Immunoassay*) e o *Nested-PCR*, uma variação do método de PCR, têm permitido a detecção de células da bactéria *Lxx* na seiva de plantas doentes, porém somente isso não é suficiente para a identificação de genótipos resistentes ou tolerantes (Maccheroni & Matsuoka, 2006).

Vários trabalhos têm demonstrado que a resistência de genótipos de cana-de-açúcar ao RSD deve-se a menor densidade populacional da bactéria em colmos infectados (Bailey, 1977; Davis et al., 1988; Gillaspie et al., 1976; Koike, 1982).

A resistência de um hospedeiro, dentro do contexto da fisiologia do parasitismo, pode ser definida como a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada e/ou a subsequente atividade de um patógeno em seus tecidos.

Tolerância é a capacidade inerente ou adquirida de uma planta em suportar um ataque do patógeno sem que ocorram danos significativos em sua produção.

A planta tolerante não possui a habilidade de prevenir o estabelecimento e restringir o crescimento do patógeno.

Portanto, somente com o advento dos métodos que quantifiquem a densidade populacional de *Lxx* nos vasos ou a taxa de colonização destes pela bactéria, é que se poderá avaliar a resistência/tolerância das variedades de cana-de-açúcar (Ros, 2004).

2.6. Métodos de diagnóstico do RSD visando estudos de resistência

Na tentativa de desenvolver um método de identificação de variedades resistentes com base na densidade populacional do patógeno do RSD, Gillaspie et al. (1973) estimaram a quantidade de células bacterianas na seiva extraída de colmos de determinadas variedades. Esses autores concluíram que a parte basal dos colmos continha mais bactéria, e que as amostras poderiam ser conservadas em baixas temperaturas até duas semanas e, também, que a observação não necessitava ser imediatamente após a extração.

Com o microscópio de contraste de fase, demonstrou-se mais tarde, por Bailey (1977), uma relação entre a severidade das reações das variedades afetadas pelo RSD e o número de bactérias observadas em preparações de tecidos de todas as partes da planta. Porém, devido ao número baixo de bactérias observadas em tecidos da parte apical do colmo e em tecidos de colmos jovens, torna-se necessário o uso de partes maduras do colmo para uma maior segurança na determinação da densidade populacional da bactéria do RSD.

A identificação e contagem de células bacterianas mostraram ser muito trabalhosas pelo método do microscópio de contraste de fase, para uso nos programas que manuseiam grande volume de variedades a cada ano (Giglioti, 1997). Essa técnica também pode levar a um diagnóstico incorreto (falsos negativos), pela dificuldade de detectar como positiva uma amostra que apresente uma concentração bacteriana muito baixa. Em geral, a bactéria só é detectada quando se apresenta superior a 10^6 células/ml no extrato amostrado.

Valarini (1978) mostrou que o método de vazão de água pelos vasos do xilema é eficiente para determinar genótipos suscetíveis, quando se comparou a vazão dos colmos com e sem doença de uma mesma variedade. Algumas desvantagens da técnica é que a pressão do vácuo, outras doenças vasculares, idade dos colmos, dias de armazenamento do colmo e distribuição da doença dentro da touceira interferem na sua precisão.

Para Chagas & Tokeshi (1988), a precisão do método de coloração do xilema pelo fluxo transpiratório pode ser aplicado na seleção de variedades resistentes ao raquitismo da soqueira. Esse método consiste na utilização do fluxo transpiratório natural do colmo para promover a translocação de uma solução corante (safranina) para avaliação do número de vasos funcionais no colmo (coloridos). Porém, esse método, além de ser trabalhoso, deve ser realizado logo após o corte da amostra. Não é específico para o RSD e pode sofrer

interferências de qualquer disfunção que obstrua os vasos da planta, como presença de outros patógenos.

Outra técnica desenvolvida foi a de contagem direta de talos com anticorpo fluorescente em filtros (*Fluorescent-antibody-direct-count* - FADC Davis, 1985). A reação específica do antissoro com *Lxx* possibilita a contagem de células bacterianas que ficam fluorescentes sob o microscópio de epifluorescência, que detecta pelo menos 10^4 células/ml, sendo mais sensível que a técnica do microscópio de contraste de fase. A FADC foi utilizada para estudar a distribuição e variabilidade quantitativa de populações de *Lxx* em colmos de variedades de cana-de-açúcar, para diferenciar estas quanto à resistência ao RSD (Davis et al., 1988). Trata-se de um método altamente específico e sensível que necessita de grande experiência do executor.

O teste ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) também utiliza anticorpos contra a bactéria, porém possui baixa sensibilidade e pode gerar resultados falso-positivos.

Uma técnica sorológica de detecção do patógeno em amostras de seiva do xilema útil em levantamentos de incidência de colmos infectados no campo é o Dot-Blot EIA (*Dot-blot enzyme immunoassay*). A técnica consiste em fixar o extrato de cana-de-açúcar em membrana de nitrocelulose e incubá-la com o anticorpo específico contra a bactéria *Lxx*. São feitas lavagens e em seguida incubam-se com anticorpo específico conjugado com a enzima fosfatase alcalina ou peroxidase. Feitas outras lavagens submetem-se a membrana a uma solução indicadora, que contém o substrato da enzima. Na presença da bactéria observa-se uma coloração azul no local onde a seiva foi depositada (Harrison & Davis, 1986). A intensidade da cor é proporcional ao número de bactérias presentes na amostra.

O nível de detecção deste método foi estimado em 2×10^6 células bacterianas/ml. O Dot-Blot é uma técnica barata de detecção e apresenta como vantagem o fato da leitura dos resultados ser rápida e direta, sem a necessidade de equipamentos especiais como microscópio de epifluorescência ou termocicladores, facilitando, assim, seu uso em laboratórios para diagnose rotineira do RSD. Apesar de a técnica ser pouco sensível comparada a imunofluorescência e ao PCR, pode ser suficientemente sensível para estimar a colonização dos colmos atacados pela doença, assim como a técnica do TBIA.

Em 1988, a técnica do "*Tissue-blot enzyme immunoassay*" - TBIA foi desenvolvida, sendo de utilidade potencial em programas de melhoramento de cana-de-açúcar por permitir quantificar a colonização de tecidos vasculares por *Lxx*. (Harrison & Davis, 1988). Essa técnica tem os mesmos princípios que o Dot-Blot, fixação das células da bactéria em uma membrana de nitrocelulose e detecção por ensaio imunológico, a diferença entre os métodos é que no TBIA o ensaio é feito com o pedaço do colmo amostrado, não sendo necessária a retirada prévia da seiva por centrifugação. Observa-se na membrana manchas azuis com as dimensões dos vasos do metaxilema que se encontram colonizados, permitindo com isso a estimativa de um valor de severidade do raquitismo, expresso pela proporção ou incidência (%) de vasos colonizados (Giglioti, 1997).

Com o TBIA foi demonstrado que a resistência de variedades de cana-de-açúcar estava associada com a redução na colonização dos tecidos vasculares do colmo por *Lxx* (Harrison & Davis, 1988). Assim, aliando a sensibilidade, praticidade e capacidade de processar amostras múltiplas, o TBIA foi adotado pelo programa de melhoramento genético da cana-de-açúcar do Estado da Florida (Comstock et al., 1996) para estimar incidência e severidade do RSD, visando identificação e seleção de variedades resistentes.

De acordo com Ros (2004), o método TBIA foi eficaz e eficiente para quantificar a taxa de colonização dos vasos do xilema de colmos de diferentes variedades de cana-de-açúcar por *Lxx*.

A PCR (*Polymerase Chain Reaction*) é um outro método de diagnóstico do RSD, e se constitui em uma alternativa de grande utilidade para detecção do patógeno quando se dispõe de pouco material vegetal. Suas possibilidades de detecção são mais amplas do que os métodos sorológicos, já que somente 12-15% do genoma se encontra representado nos determinados antígenos. Apesar de ser mais potente, seu uso rotineiro requer uma boa manipulação e infraestrutura, para evitar a ocorrência de pequenas contaminações exógenas e falso-positivos. Estima-se que a sensibilidade da PCR chegue a mil (10^3) células por ml de seiva.

Uma variação do método PCR, o Nested-PCR, apresenta uma sensibilidade ainda maior de detecção do patógeno, podendo detectar 10 células por ml de seiva para RSD (Maccheroni & Matsuoka, 2006).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.0. Material genético

A maioria das variedades utilizadas no experimento são cultivadas pelas destilarias conveniadas (Alcon, Dasa, Disa e Lasa) ao programa de melhoramento genético da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ, vinculado a rede Ridesa Brasil. Outras variedades foram recém introduzidas na região e se encontram sob avaliação pelo mesmo programa (Tabela 1).

3.1. Obtenção das mudas e plantio

No período de quatro a oito de julho de 2005, foi instalado um viveiro com mudas das variedades tratadas e não tratadas termicamente. Em fevereiro de 2006, foi feito o plantio definitivo em campo na Fazenda DISA, Cordanta B, talhão 2, em Conceição da Barra, Espírito Santo, localizada a Latitude 18°35'S e Longitude 55,74W, em solo do tipo Argissolo, caracterizado por possuir uma ca-

Tabela 1. Identificação das variedades de cana-de-açúcar utilizadas no experimento, genitores e características agroindustriais.

VARIETADES	PARENTAIS	CARACTERÍSTICAS AGROINDUSTRIAIS	RESISTÊNCIA A DOENÇAS
RB 83 5486	L60-14 x ?	Maturação precoce, alto teor de sacarose e produtividade, médio teor de fibras, média exigência em fertilidade, boa brotação de soqueira, médio florescimento e alto tombamento.	Escaldadura das folhas, mosaico e podridão vermelha.
SP 80-1816	SP 71-1088 x H 57-5028	Produção média a alta, maturação média, ótima brotação de soqueira, alto teor de sacarose e fibra e não possui florescimento.	Ferrugem.
RB 85 5511	SP 71-1406 x ?	Produção média, boa brotação de soqueira, possui tombamento, florescimento médio, alto teor de sacarose e médio teor de fibra.	Escaldadura das folhas.
RB 86 7515	RB 72454 x ?	Produtividade alta, boa brotação de soqueira, baixa exigência em solos, tombamento eventual, eventual florescimento, maturação média, alto teor de sacarose e médio teor de fibras.	Ferrugem, carvão, escaldadura das folhas, mosaico e podridão vermelha.
RB 72454	CP 53-76 x ?	Maturação média-tardia, alta produtividade, baixa exigência em solo, brotação média de soqueira, tombamento raro, pouco florescimento, alto teor de sacarose e baixo teor de fibras.	Ferrugem e escaldadura das folhas.
RB 93509	RB 72454 x ?	Produtividade alta, maturação média a tardia, boa brotação, médio teor de açúcares totais recuperáveis, médio teor de fibras.	Ferrugem e escaldadura das folhas.
RB 92579	RB 75126 x RB 72199	Produtividade alta, maturação média, ótima brotação, pouco florescimento, alto teor de açúcares totais recuperáveis, médio teor de fibras e tolerância à seca.	Ferrugem e carvão.
RB 85 5453	TUC 71-7 x ?	Produtividade média, maturação precoce, boa brotação de soqueira, média exigência em solos, não apresenta tombamento, florescimento intenso, alto teor de sacarose e teor médio de fibra.	Carvão, escaldadura das folhas, mosaico e podridão vermelha.
RB 85 8927	NA 56-76 x RB 739735	Produtividade alta, ótima brotação de soca, média exigência em fertilidade, maturação precoce, alto florescimento e elevado teor de açúcar.	Carvão.

Continuação... RB 85 5113	SP 70-1143 x RB 72454	Produtividade alta, boa brotação de soqueira, baixa exigência de solo, não apresenta tombamento e florescimento, alto teor de sacarose, maturação média e baixo teor de fibras.	Ferrugem, cavão e escaldadura das folhas.
RB 87 2552	RB 754665 x RB 773720	Produtividade alta, boa brotação de soca, maturação precoce, baixo florescimento, elevado teor de sacarose e teor médio de fibra.	Ferrugem.
RB 93 1530	Q107 x ?	Produtividade média, boa brotação de soqueira, baixo florescimento, alto teor de sacarose, médio teor de fibras e maturação precoce.	Ferrugem, carvão, escaldadura das folhas e podridão vermelha.
RB 84 5210	RB 72454 x SP 70- 1143	Produtividade alta, boa brotação de soqueira, apresenta florescimento, tombamento eventual, maturação precoce, alto teor de açúcar e médio teor de fibra.	Ferrugem, carvão, escaldadura, mosaico e podridão vermelha.
RB 85 8539	CP 57-547 x ?	Produtividade alta, boa brotação de soqueira, apresenta florescimento, tombamento eventual, maturação média, médio teor de açúcar e médio teor de fibra.	Sem informação.
RB 91 8639	Desconhecido	Produtividade média, ótima brotação de soqueira, não apresenta florescimento, maturação tardia e médio teor de sacarose.	Sem informação.
SP 91-1049	SP80-3328 x SP 81- 3250	Boa produtividade, precoce, alto teor de sacarose, médio teor de fibra, floresce pouco, mas isoporiza.	Sem informação.
SP 81-3250	CP70-1547 x SP 71- 1279	Ótima produtividade, alta brotação de soqueira, baixa exigência em solos, maturação média a tardia, alto teor de sacarose, baixo florescimento e alto teor de fibra.	Ferrugem e mosaico.
SP 71-1406	NA 56-79 x ?	Baixa produtividade, maturação tardia, adaptada a vários ambientes, alto teor de sacarose, exigente em solo e baixíssimo florescimento.	Carvão, escaldadura das folhas, mosaico e RSD.
SP 83-2847	HJ 5741 x SP 70- 1143	Excelente produção e brotação de soqueira, maturação média e tardia, baixa exigência em solos, baixo teor de sacarose e alto teor de fibra.	Ferrugem e escaldadura das folhas.
SP 80-1842	SP 71-1088 x H 57- 5028	Maturação precoce, florescimento e isoporização.	Ferrugem, carvão e mosaico.

? – Parental desconhecido

mada espessa de areia, seguido de um B textural denso (Figura 1). O espaçamento entre sulco foi de 1,40m e a adubação de pré-plantio foi com NPK (0-30-15) a 500 kg/ha.

Os colmos das variedades utilizadas na formação do viveiro foram selecionados de áreas comerciais, eliminando os que apresentavam qualquer sintoma ou injúria, bem como a parte apical e basal do colmo. A parte basal foi aproveitada para a detecção do patógeno. Para essa detecção, foi realizado um ensaio sorológico, a fim de garantir a presença do patógeno no material vegetal.

O ensaio foi disposto em blocos casualizados com delineamento em faixas, com três repetições, sendo 40 (variedades) por bloco e duas subparcelas (tratamentos). As parcelas foram constituídas por quatro linhas de cinco metros por um metro e quarenta centímetros. Todas as variedades tiveram metade dos colmos tratados termicamente e a outra metade não sofreu qualquer tratamento antes do plantio.

Foram realizadas inspeções trimestrais em todas as parcelas, anotando-se os dados de germinação e perfilhamento.

Na colheita da cana planta (1º corte), realizada em março de 2007, os colmos foram cortados rentes ao solo para a posterior brotação da soca. Foi realizada uma limpeza da área para permitir uma boa brotação da soca e no mês de outubro a área foi molhada com uma lamina de água de 10 mm devido a grande estiagem na região. A colheita da soca (2º corte) foi realizada em dezembro de 2007.

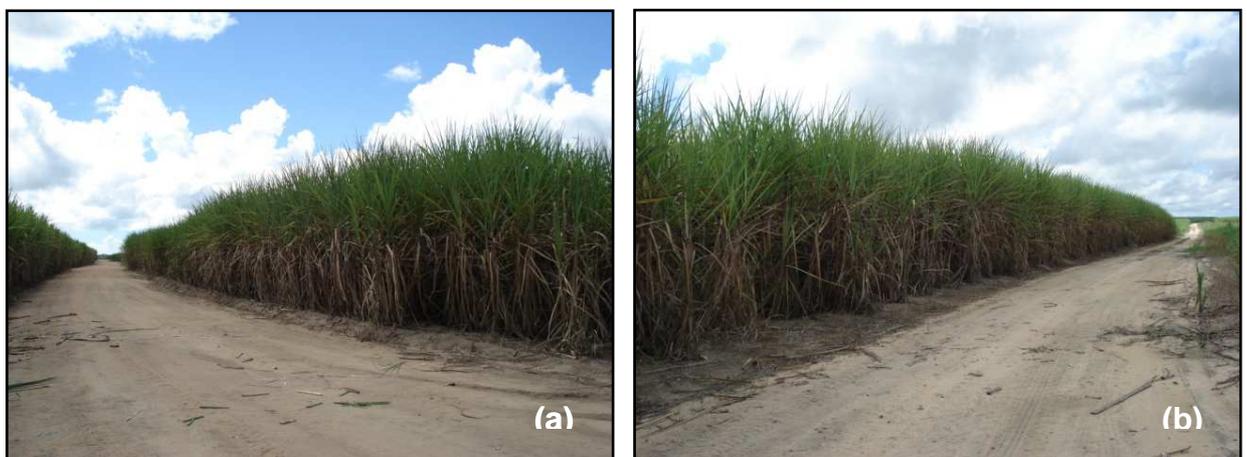


Figura 1: (a) Vista lateral do local do plantio. (b) Vista frontal do local do plantio.

3.2. Tratamento Térmico

O tratamento térmico do material vegetal foi feito na DISA, em Conceição da Barra, no Estado de Espírito Santo, pela mesma possuir uma unidade em pleno funcionamento em seu viveiro. O tratamento térmico foi realizado com 400 toletes de três gemas por variedade, por imersão em água quente a 50,5 °C por 2 h, seguido de resfriamento à sombra e posterior imersão em calda do fungicida Carbendasin (Derosal 50 PM) a 30g do produto comercial/100L de água, por 20 min.

3.3. Seleção dos colmos e extração de seiva do xilema

Amostras de cinco colmos de cada variedade tratada e não tratada termicamente foram coletadas da área experimental na Fazenda Disa. A seiva do xilema foi extraída do terceiro internódio, retirando-se, com auxílio de um furador de rolhas, amostras cilíndricas de 1 cm de diâmetro e 2 cm de comprimento da região central (Carneiro et al., 2003). Os fragmentos dos colmos foram acondicionados em tubos de microcentrífuga (1,5 ml). Procedeu-se à centrifugação por 3 min, a 13.000 rpm, obtendo, de cada amostra, em torno de 100 µl de seiva de xilema, que foi armazenada em congelador (- 4 °C).

3.4. Ensaio Sorológico

No ensaio sorológico foi utilizada a técnica de Dot-Blot EIA (“*Dot Blot Enzyme Immunoassay*”), Harisson & Davis, 1986, modificado. Foi utilizado anticorpo policlonal específico contra *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* disponível no Laboratório de Entomologia e Fitopatologia da UENF, produzido e testado por Carneiro et al. (2001).

O ensaio sorológico iniciou-se com a hidratação da membrana de nitrocelulose em água ultra-pura por 15 min. Aplicaram-se na membrana (0,2 micron) 50 amostras de seiva do xilema e cinco amostras controle (suspensão bacteriana de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* pura, seiva comprovadamente infectada, seiva comprovadamente infectada diluída 10 vezes, seiva filtrada sem a bactéria e

água destilada). Foram aplicadas na membrana sob vácuo 10 µl de cada amostra; em seguida, a membrana foi colocada para secar a 80° C em estufa por uma hora, posteriormente foi bloqueada por meia hora em solução tampão TS (tris base 100 mM, pH 7,4; NaCl 1,5 M; tween 20 0,5%) com 0,3% de leite em pó desnatado; foi lavada por 10 min, por três vezes em tampão TS; incubada por mais uma hora em solução de antissoro contra *Lxx* (produzido por Carneiro et al., 2001), em tampão TS diluído 1:20.000, lavada por 10 min, por três vezes em tampão TS. A membrana foi novamente incubada por uma hora na presença de antissoro de cabra contra IgG de coelho conjugado à fosfatase-alcalina, diluído 1:2.000 em tampão TS; lavada por 10 min, por três vezes, em tampão TS e uma vez por 15 min em PBS 0,01 M. A revelação da membrana foi realizada em 40 minutos, onde incubou-se (sob agitação a 60 rpm e no escuro) a membrana em solução reveladora (0,006 g MgCl₂, 0,02g Fast Blue BB Salt e 20 ml de Solução Substrato - 0,30 g Naphthol-AS-Phosphate; 5 ml Dimethylformamide; 24 g Trizma Base/1 litro de água destilada a pH 9,1). Após a incubação a membrana foi lavada em água corrente e por 30 min em solução de Hipoclorito de sódio 2% (v/v) para remoção de manchas residuais. Todo o processo sorológico foi conduzido sob agitação, na ausência de luz, em temperatura ambiente.

3.5. Avaliações agronômicas e da incidência de colmos infectados

Na primeira colheita (cana planta), realizada em março de 2007, os dados obtidos não foram avaliados. Na segunda colheita (primeira soca), realizada em dezembro de 2007, as características avaliadas foram: número de colmos por parcela; diâmetro médio do colmo, o qual foi estimado medindo-se cinco colmos por parcela na altura do quinto internódio basal com paquímetro com graduação em mm; brix da parcela estimado com o refratômetro de campo, amostrando-se os mesmos cinco colmos da parcela na altura do quinto internódio basal; peso da parcela, estimado pela pesagem de 20 colmos em balança de 50 Kg; peso médio do colmo, estimado pela relação peso da parcela/número de colmos; o TCH – toneladas de cana por hectare, estimado pelo cálculo da área útil da parcela extrapolando para 10.000 m²; e o TBH – toneladas de brix por hectare estimado pela fórmula $TCH * e / 100$.

A incidência média da doença na parcela foi calculada pela porcentagem de colmos que apresentaram reações soro-positivas (coloração azul) no teste sorológico “Dot Blot” para *Lxx*, que foi estimada pela fórmula: [(número de reações positivas/número de amostras)*100], utilizando uma amostragem de cinco colmos por parcela em cana-planta e soca (Figura 2). Os dados foram submetidos à análise de variância e teste de médias de Scott e Knott a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico Saeg 9.1 (Saeg, 1997).

As variedades consideradas resistentes foram aquelas que não apresentam incidência da doença, ou seja, não houve presença da bactéria.

As variedades foram classificadas quanto à tolerância em função da produtividade. Foram consideradas tolerantes as variedades que estatisticamente foram mais produtivas (valores de peso médio do colmo e diâmetro maiores ou igual a 0,520 Kg e 2,58 cm, respectivamente), mesmo apresentando incidência elevada de colmos infectados (acima de 80% de colmos soro-positivos para a presença de talos do patógeno).

Foi realizada análise de correlação simples entre a variável associada à doença e as variáveis associadas à produtividade de campo e industrial.

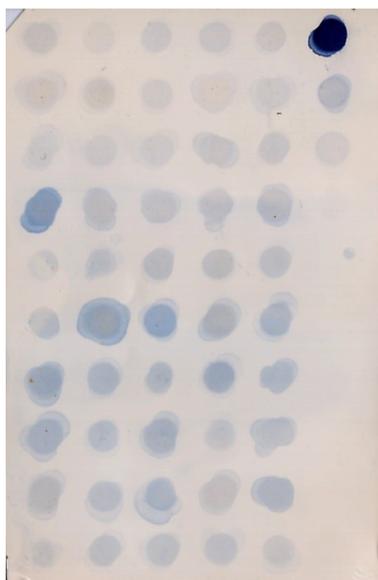


Figura 2 - Membranas de nitrocelulose evidenciando reações soro-positivas (azuis) para *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, em amostras de seiva do xilema de colmos amostrados.

4. RESULTADOS

Pela análise sorológica, realizada antes do tratamento térmico, pode-se observar que nenhuma variedade comercial utilizada apresentou-se como resistente, ou seja, todas as variedades avaliadas apresentaram alta incidência de colmos soropositivos variando de 40% a 100% (Tabela 2).

Os resultados da análise sorológica das amostras de cana planta de todas as variedades utilizadas tratadas termicamente dos três blocos, confirmou que as variedades já se apresentavam com alta incidência da doença, o que, a princípio, indica a ocorrência generalizada do RSD na cultura na região (Tabela 2).

Como esperado, a incidência média foi crescente de cana planta (1º corte) para cana soca (2º corte), mesmo nas parcelas tratadas termicamente. A média de incidência foi de 62% em cana planta e de 88% na primeira soca (Figura 3).

Tabela 2. Incidência média de colmos soro-positivos para a presença de talos bacterianos de *Leifsonia xyli subsp. xyli*, obtida por análise sorológica de Dot Blot de extrato de seiva do xilema, obtidos de colmos de diferentes variedades utilizadas no experimento, antes da realização do tratamento térmico e implantação do experimento e de colmos da primeira colheita (cana planta) de parcelas que sofreram tratamento térmico realizada em março de 2007, evidenciando a baixa eficiência do tratamento em reduzir a incidência da doença.

Variedade	Incidência Média (%)	
	Pré-tratamento	Cana planta tratada
RB 83-5486	100	66,7
RB 80-1616	100	60,0
RB 85-5511	60	60,0
RB 86-7515	60	60,0
RB 72454	60	53,3
RB 93509	100	73,3
RB 92579	100	53,3
SP 91-1049	60	66,7
RB 85-5453	40	53,3
RB 85-8927	60	53,3
RB 85-5113	80	73,3
RB 87-2552	80	66,7
SP 81-3250	100	66,7
RB 93-1530	80	66,7
SP 71-1406	60	53,3
RB 84-5210	60	60,0
SP 83-2847	60	60,0
RB 85-8539	60	73,3
RB 91-8639	60	60,0
SP 80-1842	60	66,7
□	72	62,3

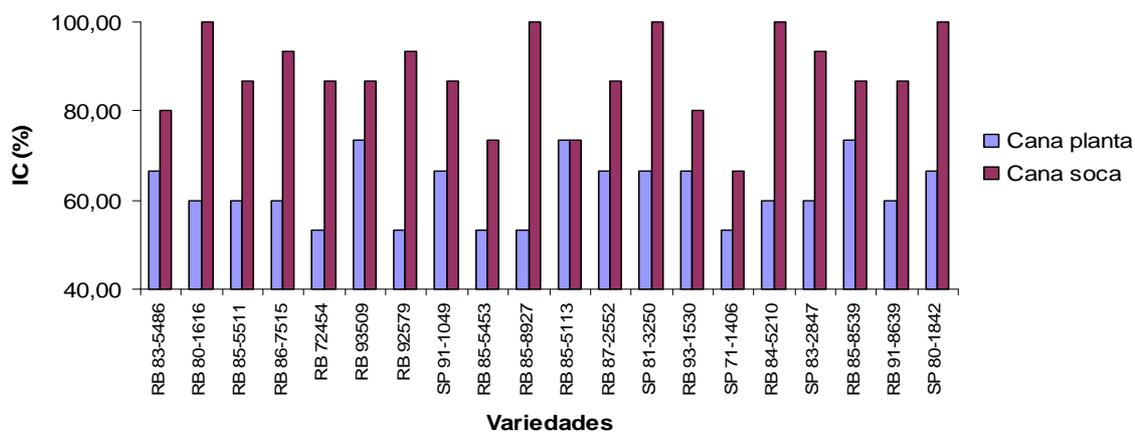


Figura 3. Incidência média (IC %) de colmos soro-positivos para a presença de talos bacterianos de *Leifsonia xyli subsp. xyli* a partir de amostras de 20 variedades analisadas após colheita da cana planta e soca e cujas mudas foram tratadas termicamente.

A análise sorológica realizada para as amostras da soca oriundas de toletes tratados e não tratados termicamente, demonstraram que para algumas variedades, a incidência média da amostra tratada termicamente foi maior que das amostras não tratadas termicamente (Figura 4).

Pelo teste F, houve diferença significativa a 5% de probabilidade entre as variedades avaliadas na soca para todas as variáveis estudadas. Já para tratamento térmico, não foram observadas diferenças significativas entre as variáveis, exceto Brix. Porém, pelo teste de média, não foi observada diferença entre os tratamentos.

Houve interação significativa do efeito da variedade versus tratamento quanto à incidência média (IC) de colmos soro-positivos (Tabela 3). A análise das médias pelo método de agrupamento de Scott & Knott, (1974) permitiu observar diferenças significativas entre as variedades, para todas as variáveis analisadas exceto TCH e TBH (Tabela 4).

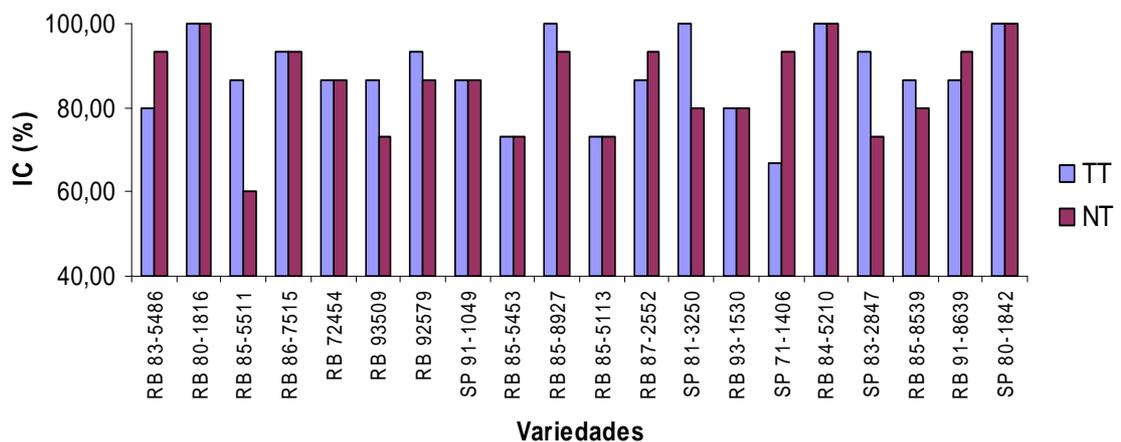


Figura 4. Incidência média (IC %) de doença das 20 variedades analisadas quando cana soca (2º corte) tratadas (TT) e não tratadas (NT) termicamente.

Tabela 3. Quadrados médios da análise de variância, médias gerais, coeficiente de variação e coeficiente de herdabilidade das variáveis: número de colmos (NC), peso médio do colmo (PMC), toneladas de colmos por hectare (TCH), toneladas de brix por hectare (TBH), Brix, Diâmetro do colmo (DIA) e incidência média de doença (IC), avaliadas na colheita da soca, em dezembro de 2007, das 20 variedades.

FV	GL	Quadrado Médio (Q)						
		NC	PMC	TCH	TBH	Brix	DIA	IC
Variedade	19	1131,84**	0,04339**	336,45**	12,40**	6,34**	0,162**	444,03**
Erro A	38	311,02	0,0139	172,71	8,13	1,61	0,031	199,30
Tratamento	1	26,13 ^{ns}	0,0138 ^{ns}	36,61 ^{ns}	0,178 ^{ns}	2,30**	0,0173 ^{ns}	30,00 ^{ns}
Erro B	2	805,63	0,0074	34,78	1,12	0,33	0,015	840,00
Var. x TT	19	176,41 ^{ns}	0,0047 ^{ns}	60,24 ^{ns}	2,888 ^{ns}	0,44 ^{ns}	0,224 ^{ns}	275,61**
Resíduo	38	154,01	0,0055	61,48	2,86	0,52	0,033	127,72
Média Geral		109,62	0,5311	41,54	8,27	19,89	2,59	86,17
CV (%)		11,32	13,98	18,87	20,45	3,64	7,01	13,12
H ²		72%	68%	49%	34%	75%	81%	55%

** Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F. ^{ns} Não Significativo.

Quanto ao número de colmos (NC), as variedades RB 855511, RB 92579, RB 93509 e SP 81-3250 foram as que apresentaram maiores valores. Já as variedades SP 80-1816 e SP 71-1406 foram as que apresentaram menor número de colmos (Tabela 4).

Para peso médio do colmo (PMC), as variedades que se destacaram foram RB 867515, RB 858539, RB 918639 e RB 835486. As demais variedades foram consideradas significativamente menos produtivas, sendo a SP 71-1406 e RB 872552 as que apresentaram os menores valores de PMC.

Para Brix, as variedades RB 92579, RB 845210, RB 855511, RB 93509 e RB 918639 foram as que se diferenciaram das demais variedades por seus menores valores.

Para diâmetro do colmo (DIA), as variedades RB 867515, RB 845210, RB 855113, RB 92579 e RB 835486 apresentaram os maiores valores para diâmetro e as variedades RB 872552 e SP 83-2847 os menores valores.

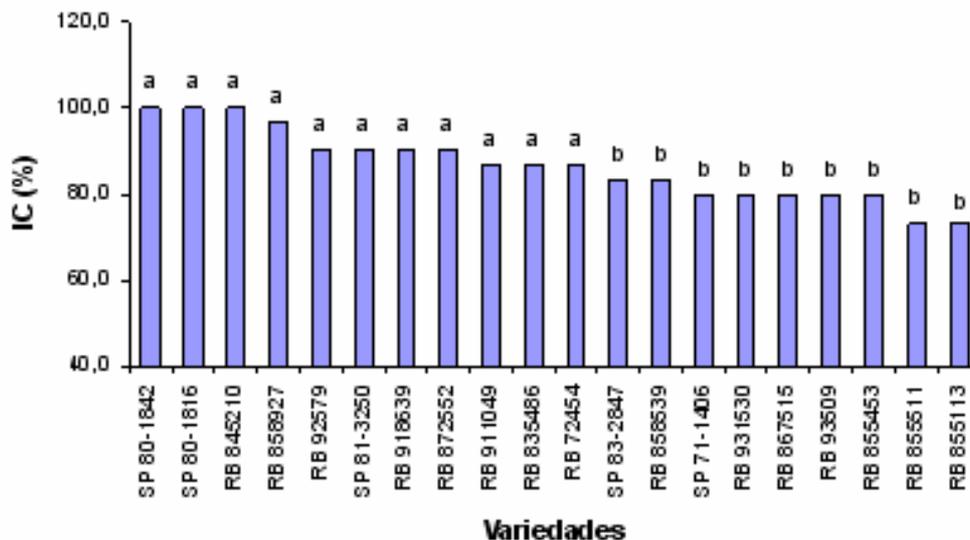
Para Incidência média de doença (IC), as variedades SP 80-1842, SP 80-1816 e RB 845210 apresentaram 100% de incidência, não diferenciando significativamente das variedades que apresentaram até 86% de incidência. As variedades RB 855453, RB 855113 e RB 855111 foram as que apresentaram

menor incidência, com 73%, não diferenciando significativamente das variedades que apresentaram incidência média até 83% (Figura 5).

Tomando como base que o raquitismo da soqueira da cana afeta principalmente o peso médio dos colmos e o diâmetro do colmo, uma vez que, o subdesenvolvimento da planta doente é resultado da obstrução dos vasos do xilema e da conseqüente redução na capacidade da planta de absorver água, as variedades que destacaram para ambas as variáveis foram RB 867515, RB 92579 e RB 835486, as que apresentaram um menor desempenho foram as variedades RB 872552, SP 83-2847 e SP 71-1406 (Tabela 4).

Dos coeficientes de herdabilidade encontrados, a maioria das variáveis apresentou valor maior que 50% de herdabilidade. Mas para tonelada de cana por hectare (TCH) e tonelada de brix por hectare (TBH) os valores de herdabilidade foram considerados baixos (Tabela 3).

Através da separação de médias pelo método de análise de agrupamento Scott & Knott, 1974 foi possível observar diferenças entre as variedades para interação variedade versus tratamento, para as variáveis analisadas.



Colunas seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste Scott & Knott a 5% de probabilidade.

Figura 5. Incidência média (IC %) de doença na soca das 20 variedades analisadas pelo teste de média Scott & Knott a 5% de probabilidade, independente do tratamento.

Tabela 4. Comparação de médias referentes às variáveis, número de colmos (NC), peso médio do colmo (PMC), Toneladas de Colmos por hectare (TCH), Toneladas de brix por hectare (TBH), °Brix, Diâmetro do colmo (DIA) e Incidência média de doença (IC), avaliadas na soca para as 20 variedades, independente do tratamento.

Variedades	Variáveis						
	NC (m/linear)	PMC (Kg)	TCH (t/ha)	TBH (t/ha)	°Brix	DIA (cm)	IC (%)
RB 867515	113,17 a	0,760 a	62,83 a	12,97 a	20,53 a	2,91 a	80 b
RB 858539	100,17 b	0,663 a	46,92 a	9,32 a	19,93 a	2,50 b	83,3 b
RB 918639	106,33 b	0,647 a	49,82 a	8,67 a	17,45 b	2,44 b	90 a
RB 835486	93,83 b	0,632 a	42,06 a	8,86 a	20,95 a	2,73 a	86,7 a
RB 72454	104,50 b	0,542 b	39,76 a	7,87 a	19,65 a	2,68 a	86,7 a
SP 91-1049	94,33 b	0,535 b	35,55 a	7,52 a	21,16 a	2,61a	86,7 a
RB 855453	105,00 b	0,533 b	39,96 a	8,05 a	20,04 a	2,63 a	80 b
RB 845210	95,00 b	0,531 b	35,88 a	6,86 a	18,93 b	2,84 a	100 a
RB 92579	130,67 a	0,527 b	49,90 a	9,64 a	19,16 b	2,73 a	90 a
SP 80-1816	92,50 b	0,525 b	34,68 a	7,50 a	21,63 a	2,41 b	100 a
RB 855113	112,67 a	0,513 b	41,49 a	8,27 a	19,73 a	2,80 a	73,3 b
SP 81-3250	125,50 a	0,508 b	45,42 a	9,04 a	19,83 a	2,67 a	90 a
SP 80-1842	104,17 b	0,505 b	37,43 a	7,79 a	20,86 a	2,43 b	100 a
RB 93509	128,67 a	0,499 b	46,22 a	8,51 a	18,23 b	2,61 a	80 b
RB 858927	113,17 a	0,472 b	38,33 a	7,78 a	20,03 a	2,48 b	96,7 a
RB 931530	108,50 b	0,468 b	37,17 a	7,30 a	19,68 a	2,69 a	80 b
RB 855511	138,83 a	0,457b	45,03 a	8,49 a	18,85 b	2,43 b	73,3 b
SP 83-2847	118,17 a	0,455 b	38,96 a	7,87 a	20,38 a	2,41 b	83,3 b
SP 71-1406	90,67 b	0,427 b	27,89 a	5,53 a	19,82 a	2,46 b	80 b
RB 872552	116,00 a	0,423 b	35,59 a	7,50 a	21,02 a	2,36 b	90 a
□	109,59	0,531	41,54	8,27	19,89	2,59	86,49

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem significativamente pelo teste Scott & Knott a 5% de probabilidade.

Para peso médio do colmo (PMC), as variedades que se destacaram quando tratadas termicamente foram RB 867515, RB 858539, RB 918639 e RB 835486. As demais variedades foram consideradas significativamente inferiores, sendo a SP 83-2847, RB 858927, SP 71-1406 e RB 872552 as que apresentaram os menores valores.

Para tonelada de cana por hectare (TCH), as variedades tratadas termicamente, RB 867515, RB 918639, RB 92579, RB 858539, RB 93509, RB 855511 e RB 855453, foram as que apresentaram melhor desempenho, diferenciando significativamente das demais, sendo as variedades SP 71-1406 e RB 872552 as que apresentaram o menor desempenho.

Tabela 5. Comparação de médias referentes às variáveis, número de colmos (NC), peso médio do colmo (PMC), Toneladas de Colmos por hectare (TCH), Toneladas de brix por hectare (TBH), °Brix, Diâmetro do colmo (DIA) e Incidência média de doença (IC), avaliadas na soca (2º corte) para as 20 variedades tratadas termicamente.

Variedades	Variáveis						
	NC (m/linear)	PMC (Kg)	TCH (t/ha)	TBH (t/ha)	°Brix	DIA (cm)	IC (%)
RB 867515	112,36 a	0,7633 a	61,77 a	12,59 a	20,43 b	2,93 a	66,67 b
RB 918639	107,67 b	0,7100 a	54,98 a	9,67 a	17,45 c	2,43 b	86,67 a
RB 858539	99,67 b	0,6900 a	48,89 a	9,70 a	19,80 b	2,45 b	86,67 a
RB 835486	91,33 b	0,6433 a	41,73 b	8,92 a	21,33 a	2,69 a	80 b
RB 855453	109,33 b	0,5833 b	45,60 a	9,21 a	20,05 b	2,66 a	73,33 b
RB 845210	93,00 b	0,5683 b	37,90 b	7,25 a	18,79 c	2,88 a	100 a
RB 72454	103,00 b	0,5567 b	39,55 b	7,72 a	19,41 c	2,85 a	86,67 a
RB 92579	132,67 a	0,5333 b	51,63 a	9,88 a	18,91 c	2,73 a	93,33 a
SP 80-1816	92,33 b	0,5333 b	35,04 b	7,46 a	21,28 a	2,44 b	100 a
SP 80-1842	101,00 b	0,5233 b	37,67 b	7,72 a	20,56 a	2,47 b	100 a
RB 93509	127,00 a	0,5217 b	47,47 a	8,76 a	18,47 c	2,58 b	86,67 a
SP 91-1049	97,00 b	0,5167 b	34,90 b	7,19 a	20,71 a	2,64 a	86,67 a
RB 855511	131,00 a	0,5067 b	47,02 a	8,88 a	18,93 c	2,45 b	86,67 a
RB 931530	117,00 a	0,5033 b	43,26 b	8,59 a	19,86 b	2,79 a	80 b
SP 81-3250	122,67 a	0,5000 b	43,66 b	8,40 a	19,27 c	2,71 a	100 a
RB 855113	104,00 b	0,5000 b	37,53 b	7,23 a	19,00 c	2,71 a	73,33 b
SP 83-2847	126,67 a	0,4433 b	40,96 b	8,18 a	20,27 b	2,43 b	93,33 a
RB 858927	118,00 a	0,4333 b	36,35 b	7,29 a	19,79 b	2,40 b	100 a
SP 71-1406	94,67 b	0,4200 b	28,47 b	5,59 a	19,72 b	2,49 b	66,67 b
RB 872552	102,67 b	0,3867 b	28,07 b	5,90 a	21,07 a	2,32 b	86,67 a
□	109,15	0,5418	42,12	8,31	19,76	2,60	86,67

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem significativamente pelo teste Scott & Knott a 5% de probabilidade.

Para °Brix, as variedades com os maiores valores quando tratadas termicamente foram RB 835486, SP 80-1816, RB 872552, RB 911049, SP 80-1842, estas diferenciaram significativamente das variedades RB 867515, SP 83-2847, RB 855453, RB 931530, RB 858539, RB 858927 e SP 71-1406 que apresentaram valores um pouco mais baixos, enquanto as demais tiveram valores menores, sendo as variedades RB 93509 e RB 918639 com os menores valores para °brix.

Para diâmetro do colmo (DIA), as variedades tratadas termicamente que apresentaram os maiores valores, se diferenciando das demais foram RB 867515, RB 845210, RB 72454, RB 931530, RB 92579, SP 81-3250, RB 855113, RB 835486, RB 855453 e SP 91-1049. As variedades SP 83-2847, RB 858927 e RB 872552 foram as que apresentaram os menores valores de DIA.

Para incidência média de doença as variedades que apresentaram as menores incidências, estas variando de 80 a 66,7%, se diferenciando das demais, foram a RB 835486, RB 931530, RB 855453, RB 855113, SP 71-1406 e RB 867515, quando tratadas termicamente.

Fixando o não tratamento térmico para analisar as variedades, foi possível observar diferenças significativas entre as variedades para as todas as variáveis analisadas, exceto para TCH e TBH (Tabela 6).

Para peso médio de colmos (PMC), a variedade que apresentou melhor desempenho, se diferenciando das demais, quando não tratada termicamente, foi a RB 867515, as variedades RB 858539, RB 835486 e RB 918639 apresentaram valores um pouco mais baixos que da RB 867515. Das demais que se diferenciaram estatisticamente das anteriores, as que apresentaram menores valores foram RB 931530, SP 71-1406 e RB 855511.

Para diâmetro do colmo (DIA), as variedades que apresentaram maiores diâmetros quando não tratadas termicamente foram RB 855113, RB 867515, RB 845210, RB 835486 e RB 92579, as demais se diferenciaram estatisticamente apresentando valores menores de diâmetro.

Quanto à incidência média de doença, as variedades que apresentaram menor incidência foram RB 855511, RB 93509, SP 83-2847, RB 855113, RB 855453, RB 858539, SP 81-3250 e RB 931530. As demais variedades diferenciaram estatisticamente, apresentando incidência entre 100 e 86,7% de doença quando não tratadas termicamente.

Com o teste de média realizado para interação entre os tratamentos com as variedades, pode-se observar para variável incidência média o efeito do tratamento térmico somente para algumas variedades (Figura 6).

Com os dados de peso médio do colmo (PMC) e diâmetro do colmo (DIA), obtidos das 20 variedades, que não foram tratadas termicamente, pode-se observar que as variedades RB 867515 e RB 835486 foram as que apresentaram maiores valores para ambas variáveis e alta incidência média de doença (Tabela 6).

As variedades RB 931530, RB 855511, RB 93509 e RB 855453, mesmo apresentando valores mais baixos de incidência média de doença, não tiveram valores melhores de PMC e DIA (Tabela 6).

Tabela 6. Comparação de médias referentes as variáveis, número de colmos (NC), peso médio do colmo (PMC), Toneladas de Colmos por hectare (TCH), Toneladas de brix por hectare (TBH), °Brix, Diâmetro do colmo (DIA) e Incidência média de doença (IC), avaliadas na soca para as 20 variedades não tratadas termicamente.

Variedades	Variáveis						
	NC (m/linear)	PMC (Kg)	TCH (t/ha)	TBH (t/ha)	°Brix	DIA (cm)	IC (%)
RB 867515	114,00 b	0,7567 a	63,89 a	13,35 a	20,64 b	2,89 a	93,33 a
RB 858539	100,67 b	0,6367 b	44,95 a	8,96 a	20,05 b	2,55 b	80 b
RB 835486	96,33 b	0,6200 b	42,39 a	8,80 a	20,56 b	2,77 a	93,33 a
RB 918639	106,00 b	0,5833 b	44,66 a	7,68 a	17,44 d	2,44 b	93,33 a
SP 91-1049	91,67 b	0,5533 c	36,19 a	7,86 a	21,61 a	2,58 b	86,67 a
RB 72454	106,00 b	0,5283 c	39,97 a	8,02 a	19,88 b	2,51 b	86,67 a
RB 855113	121,33 a	0,5267 c	45,45 a	9,30 a	20,47 b	2,90 a	73,33 b
RB 92579	128,67 a	0,5200 c	48,18 a	9,40 a	19,41 c	2,74 a	86,67 a
SP 81-3250	128,33 a	0,5167 c	41,19 a	9,68 a	20,40 b	2,63 b	80 b
SP 80-1816	92,67 b	0,5167 c	34,32 a	7,54 a	21,99 a	2,38 b	100 a
RB 858927	108,33 b	0,5100 c	40,30 a	8,26 a	20,27 b	2,57 b	93,33 a
RB 845210	97,00 b	0,4933 c	33,86 a	6,48 a	19,08 c	2,81 a	100 a
SP 80-1842	107,33 b	0,4867 c	37,18 a	7,86 a	21,16 a	2,38 b	100 a
RB 855453	100,67 b	0,4833 c	34,32 a	6,90 a	20,03 b	2,61 b	73,33 b
RB 93509	130,33 a	0,4767 c	45,03 a	8,28 a	18,00 d	2,63 b	73,33 b
SP 83-2847	109,67 b	0,4667 c	36,95 a	7,56 a	20,49 b	2,39 b	73,33 b
RB 872552	129,33 a	0,4600 c	43,12 a	9,09 a	20,97 a	2,41 b	93,33 a
RB 931530	100,00 b	0,4333 c	31,08 a	6,02 a	19,49 c	2,59 b	80 b
SP 71-1406	86,67 b	0,4333 c	27,31 a	5,47 a	19,92 b	2,42 b	93,33 a
RB 855511	146,67 a	0,4067 c	43,05 a	8,10 a	18,76 c	2,41 b	60 b
□	110,08	0,5204	40,67	8,23	20,03	2,58	85,67

Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem significativamente pelo teste Scott & Knott a 5% de probabilidade.

As variedades consideradas tolerantes foram aquelas que apresentaram incidência média acima de 80% e valores de PMC (peso médio do colmo) e DIA (diâmetro) maiores ou igual a média de 0,520 kg e 2,58cm, respectivamente (Tabela 6).

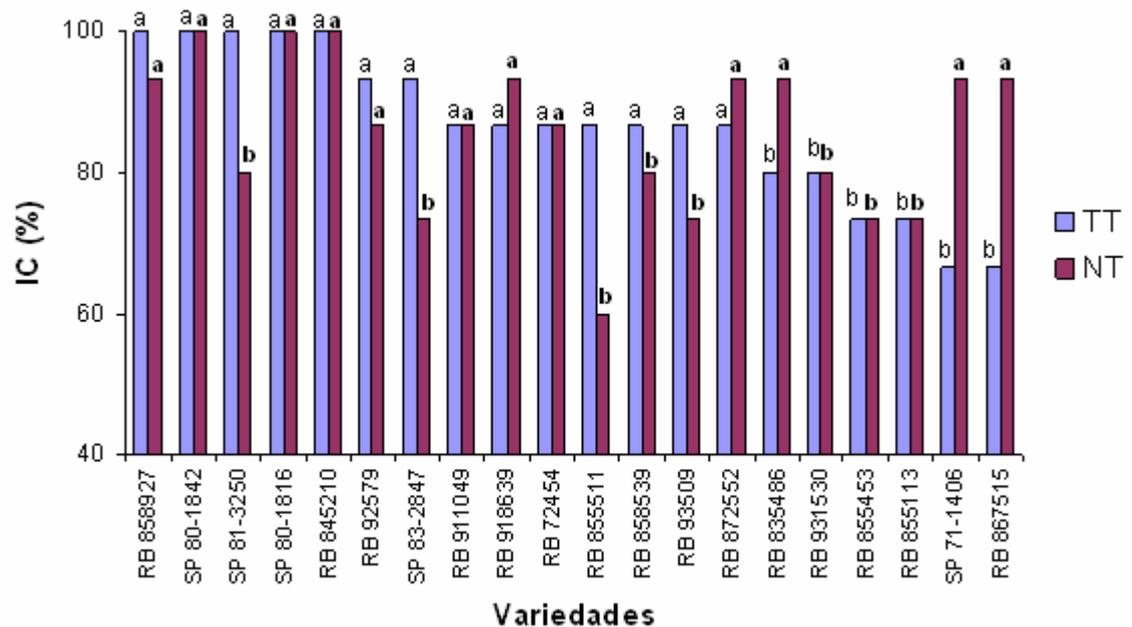
As variedades RB 867515, RB 835486, SP 91-1049 e RB 92579 foram consideradas com maior tolerância ao RSD nas condições deste experimento. As demais variedades foram consideradas menos tolerantes.

O estudo de correlação simples entre a variável associada à doença e as variáveis associadas à produtividade de campo e industrial demonstrou que não há correlação significativa entre a variável incidência média e as variáveis associadas à produtividade (Tabela 7).

Tabela 7. Correlação entre a característica incidência média de doença (IC) e as variáveis número de colmo (NC), peso médio do colmo (PMC), tonelada de cana por hectare (TCH), tonelada de brix por hectare (TBH), °brix (BR), diâmetro médio do colmo (DIA).

	NC	PMC	TCH	TBH	BR	DIA	IC
NC		-0,0238	0,5891*	0,545*	-0,0651	0,1073	-0,0999
PMC			0,7831*	0,7766*	0,0762	0,2803	0,1185
TCH				0,9703*	0,0278	0,2909	0,0411
TBH					0,2594	0,3284	0,0460
BR						0,1681	0,0294
DIA							-0,0530
IC							

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.



Colunas seguidas da mesma letra não diferem significativamente pelo teste Scott & Knott a 5% de probabilidade.

Figura 6. Incidência média (IC %) de doença na soca (2º corte) na interação das 20 variedades com os tratamentos, analisadas pelo teste de média Scott & Knott a 5% de probabilidade.

5. DISCUSSÃO

Com o presente trabalho, pode-se observar mediante as análises sorológicas realizadas, a ausência de resistência dentre as variedades avaliadas. Iamauti & Tokeshi (1994) concluíram sobre a falta de resistência ao RSD de variedades do gênero *Saccharum* no Brasil e a ocorrência de variedades tolerantes.

Não há na literatura muitas informações sobre a resistência de variedades comerciais ao RSD. Iamauti & Tokeshi (1994) classificaram a variedade SP 71-1406 como resistente, utilizando o método de coloração do xilema pelo fluxo transpiratório e pela observação do número de talos bacterianos na seiva do xilema. No presente trabalho, não foi observada resistência para esta variedade pelo teste sorológico nas condições do experimento. Isso pode ser decorrente da forte interação da doença com o ambiente, pois sob as condições de estresse hídrico acentuado a resistência da variedade SP 71-1406 pode não ter se manifestado. Outra possibilidade é a diferença na sensibilidade dos métodos utilizados para detecção e contagem da bactéria na seiva.

Observando a análise sorológica feita para cana planta tratada termicamente, pode-se confirmar que os canaviais comerciais apresentam alta incidência de doença, como observado por Ponte (2006). Em levantamento regional, quanto à prevalência da bactéria *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (*Lxx*) em áreas de multiplicação de cana do Espírito Santo, Oeste mineiro e Sul da Bahia, Ponte (2006) observou que, em 2004, 70,45% da área amostrada estava infectada com a *Lxx*. Como a maior parte das mudas utilizadas na região litorânea provêm de

plantios comerciais ou áreas de multiplicação, muitas das quais, apresentam alta incidência de raquitismo, era de se esperar que nos colmos selecionados das variedades para a formação dos viveiros para este experimento fosse observada essa alta incidência.

Gillaspie e Teakle (1989) afirmam que a ausência de genótipos imunes a falta de técnicas de produção de mudas limpas, bem como a não descontaminação das ferramentas utilizadas durante o plantio e a colheita, são fatores que contribuem para uma alta incidência de raquitismo em lavouras comerciais.

Como canaviais comerciais são reformados ou implantados com elevada contaminação, perdas significativas na produtividade devido ao RSD podem vir a ocorrer em anos de estiagem prolongada, como verificado neste experimento.

O aumento na incidência de colmos soro-positivos ao longo dos plantios e de cana-planta para as soqueiras concorda com o que se sabe desde as primeiras constatações da doença, conforme descrito por Maccheroni & Matsuoka (2006).

Para algumas variedades, a incidência média da amostra tratada termicamente foi maior que das amostras não tratadas termicamente. Isso pode ser decorrente da desuniformidade da distribuição do raquitismo, como relatado por Chagas e Matsuoka (1988). Segundo esses autores, o tratamento térmico de colmos obtidos de canaviais muito contaminados tem restritas possibilidades de controle efetivo.

Neste experimento, variedades consideradas rústicas como a RB 867515 e tolerantes a seca como a RB 92579 ou de ótima produtividade como a RB 72545 não alcançaram seus valores médios de produtividade. Além da colheita da soca ter sido realizada aos nove meses, quando essa deveria se estender por mais três meses, a falta de chuvas nos anos de 2006-2007 agravou o estresse hídrico. A precipitação acumulada aos nove meses foi de 546 mm, enquanto o requerimento mínimo pela cultura é de 1.200 mm, sendo a maior parte durante a época de crescimento. Barbosa et al. (2005) relatam que em ambientes mais favoráveis ao desenvolvimento vegetal o potencial genético de cada cultivar é mais evidenciado, o que indica que se talvez o déficit hídrico fosse mais brando, a diferença quanto à tolerância à doença entre as variedades poderia ser melhor evidenciada.

Para algumas variedades o tratamento térmico pode ser uma alternativa de minimizar a quantidade do patógeno na soca. Sabe-se que o tratamento térmico não erradica totalmente 100% dos colmos contaminados. Ademais, a doença possui alta taxa de transmissão, resultando em altos índices de reinfecção dos canaviais. Embora o tratamento térmico possa recuperar parcialmente a produtividade, principalmente em cana planta, já se observou experimentalmente que a reinfecção é rápida e o efeito benéfico desse tratamento se dissipa nas socarias. Portanto, mesmo para as cultivares consideradas mais responsivas ao tratamento térmico, esse deve ser repetido e os canaviais devem ser conduzidos visando-se avaliar melhor o efeito prolongado do tratamento térmico das mudas nas produções das socarias e a necessidade de se renovar ou não os canaviais em função do estresse hídrico acumulado.

Gheller (1993), comparando o efeito do tratamento térmico a 50,5 °C/120 min, em toletes de uma e três gemas, na sanidade e produtividade, concluíram que os tratamentos foram semelhantes na inativação do agente causal, isto é, não eliminavam a bactéria causadora do raquitismo. Entretanto, proporcionaram ganhos na produtividade agrícola em cana-planta e soca de 16 a 31% para CB 41-76, 20 e 41% para Na 56-79 e 15 e 21% para CB 49-260.

Chagas e Matsuoka (1988) relataram ganhos médios decorrentes do tratamento térmico 50,5 °C/120 min, toletes de três gemas, em solos de tabuleiro, na região de Macaé-RJ, de 21,51%. Neste trabalho, observou-se um ganho médio, em quatro cortes, devido ao tratamento térmico, relacionando as parcelas tratadas com as não tratadas, na cultivar Co 421 de 13,80 toneladas de cana por hectare.

Para avaliar a resistência ou tolerância de diferentes variedades é necessário a comparação da produção entre parcelas sadias (tratadas termicamente) e inoculadas com caldo de cana doente (Matsuoka, 1975). Neste experimento, as variedades já apresentavam alta incidência da doença, antes e depois do tratamento. Na maioria dos casos, os valores de produtividade nas subparcelas tratadas e não tratadas termicamente não apresentaram diferença estatística, evidenciando que a região costeira do sudeste é altamente favorável a perdas decorrentes do estresse hídrico e a suscetibilidade ao RSD parece ser uma condição prevalescente dentre as variedades mais plantadas nesta região. Todavia, houve variedades que apresentaram alguma tolerância ao RSD como

RB 867515, RB 835486, SP 91-1049 e RB 92579, pois mesmo nas parcelas cujas as mudas não foram tratadas termicamente, apresentaram incidência média acima de 80%, mas os valores de PMC (peso médio do colmo) e diâmetro de colmo foram superiores em relação aos demais cultivares.

Lxx afeta principalmente o peso médio e o diâmetro do colmo, uma vez que o subdesenvolvimento da planta doente é resultado da obstrução dos vasos do xilema e da conseqüente redução na capacidade da planta de absorver água (Maccheroni & Matsuoka, 2006). De acordo com os sintomas também se pode concluir que essas duas variáveis possuem relação direta com a doença, ou seja, os colmos se apresentam raquíticos e finos, conseqüentemente com menor diâmetro e com peso médio do colmo baixo (Maccheroni & Matsuoka, 2006). Com os coeficientes de herdabilidade encontrados neste experimento, variando de 34 a 81%, pode-se concluir que as variáveis PMC e DIA podem ser utilizadas como referência para a seleção e melhoramento genético, pois apresentaram uma herdabilidade maior que 50%.

Ros (2004) classificou as variedades SP 81-3250, SP 80-1816, SP 80-1842, RB 867515, SP 83-2847 e RB 855113 como intermediárias pelo número de vasos amostrados e taxa de colonização dos vasos pela bactéria. Já a variedade RB 845210 foi classificada como suscetível em experimento realizado em casa de vegetação. Davis et al. (1988), em experimento, descreveram que essa classificação seria melhor observada se fossem utilizadas variedades mais resistentes ao RSD ou seja, menor quantidade do patógeno, o que não foi observado no presente experimento. Alguns trabalhos mostram que a resistência de uma dada variedade ao RSD tem correlação negativa com o número de vasos xilemáticos colonizados pela bactéria, isto é, quanto menor for o percentual de vasos colonizados, mais resistência tem a variedade e menor será a perda de produtividade causada pela doença (Harrison & Davis, 1988; Davis et al., 1988).

De acordo com Comstock et al. (1996), variedades resistentes possuem uma população menor do patógeno, conseqüentemente menor fonte de inóculo para disseminar a doença nos viveiros e canaviais. Seguindo esse raciocínio, pode-se dizer que quanto maior a incidência média de doença, menor é a resistência da variedade. Neste caso, poder-se-ia utilizar os dados de incidência média da doença e relacionar com dados PMC (peso médio do colmo) e DIA (diâmetro), que refletem na produtividade. Ou seja, pode-se considerar que

variedades com maior tendência a serem tolerantes apresentarão uma alta incidência de doença e um bom peso médio do colmo e diâmetro e variedades com menor tendência a tolerância apresentarão baixa ou alta incidência, porém suficiente para causar uma queda significativa na produtividade, expressa pelo PMC e DIA.

Um fator importante destacado por Moura (2004), que não deve ser desconsiderado, é que a resistência genética da cana às mais variáveis doenças é do tipo poligênica. Essa, por um lado, tem a vantagem da durabilidade, por outro traz dificuldades para o melhorista na incorporação de tal resistência em novos materiais em razão de sua característica poligênica. Como pode ser afetada fortemente pelo ambiente, uma avaliação precisa é difícil e muitas vezes demorada.

Pode-se observar que algumas variedades contêm de um parental para o cruzamento e formação de outra variedade. Essas variedades mostram valores para as variáveis próximos e na classificação quanto à tolerância ficam no mesmo grupo, o que dificulta também a classificação das mesmas.

Verificando a origem parental dos principais cultivares utilizados no mundo e no Brasil, pode-se observar a estreita base genética da cultura. Os cultivares plantados são híbridos, geralmente de 6º a 10º geração, onde na constituição genética predomina a contribuição de *S. officinarum*. Melhoristas têm se baseado numa base genética comum obtida no início do século, através de cruzamentos interespecíficos e retrocruzamento para *S. officinarum* (Matsuoka et al., 1999).

Como já comentado, não se pode assegurar que os valores obtidos para as variáveis de produtividade sejam apenas resultado da alta presença do patógeno, uma vez que durante a condução do experimento houve acentuado déficit hídrico. A não correlação da variável incidência média com as demais variáveis estudadas pode ser decorrente dos efeitos do ambiente no período do estudo. Sabe-se que com o déficit hídrico o efeito do RSD se intensifica e, conseqüentemente, podem ser facilmente distinguidos, porém a falta excessiva de água no solo afeta de maneira decisiva o desenvolvimento da cana-de-açúcar (Reichardt, 1996). Além disso, outros fatores podem ser associados à tolerância ao RSD, que não somente a capacidade das variedades contornarem a simples obstrução vascular, mas também de compensarem o estresse hídrico por outros

mecanismos que reduzem a perda de água pelas folhas, compensação de eficiência fotossintética e aumento da taxa transpiratória, dentre outros.

6. RESUMO E CONCLUSÕES

O objetivo-se, neste trabalho, caracterizar as variedades RB 911049, 92579, 855453, 858927, 835486, 931530, 855113, 918639, 72454, 855511, 858539, 845210, 867515, 93509, 872552 e SP 71-1406, 80-1816, 80-1842, 81-3250, 83-2847 quanto à resistência/tolerância ao Raquitismo da soqueira (*Ratoon stunting disease-RSD*), doença bacteriana de difícil controle, causada por *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*. As informações geradas deverão embasar o programa de melhoramento genético da cultura direcionado para as regiões do norte e noroeste do Rio de Janeiro, norte do Espírito Santo e noroeste de Minas Gerais. O experimento foi montado em blocos casualizados em delineamento em faixas com três repetições, cujo material propagativo foi submetido ou não ao tratamento térmico. O plantio foi feito em Conceição da Barra-ES, em 2006. As características avaliadas na soca (2º corte) foram: número de colmos por parcela; diâmetro médio do colmo (DIA), brix, peso da parcela, peso médio do colmo (PMC), TCH – toneladas de cana por hectare, TBH – toneladas de brix por hectare e incidência média da doença por meio do teste sorológico “Dot Blot”. Os colmos para o tratamento e plantio foram obtidos de áreas comerciais e de multiplicação com histórico de alta incidência da doença. O alto índice de contaminação do material propagativo originalmente utilizado para o plantio, aliado à baixa eficiência do tratamento térmico em eliminar o patógeno, bem como o excessivo déficit hídrico nos dois últimos anos, contribuiram para o aumento da predisposição ao raquitismo das variedades testadas, resultando em alta

incidência da doença e baixas produtvidades nas condições deste experimento. Nenhuma das variedades comerciais avaliadas pelo presente estudo apresentou-se como resistente ao RSD, porque a incidência de colmos infectados previamente foi em geral muito alta (acima de 40%). Não houve resposta ao tratamento térmico independente de variedade na soca (2° colheita). As variedades RB 867515, RB 835486, SP 91-1049 e RB 92579 foram as que apresentaram maiores valores de PMC e DIA mesmo apresentando alta incidência média de colmos soro-positivos, sendo classificadas, portanto como as mais tolerantes ao RSD nas condições do experimento. Reforça-se, portanto, a necessidade de se ampliar a base genética e de serem efetuados cruzamentos e seleções direcionadas ao plantio da cana na região, uma vez que, atualmente, a maioria dos cultivares plantados são provenientes de programas desenvolvidos em regiões com melhores condições hídricas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANUÁRIO DA CANA (2007) ETHANOL GUIDE – site –
<http://www.jornalcana.com.br>.

AUTREY, L. J. C.; DOOKUN, A.; SAUMTALLY, S.; DHAYAN, S.; SULLIVAN, S.
(1991) Soil transmission of the ratoon stunting disease bacterium *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*. *Sugar cane*, 6: 5-6.

BAILEY, R. A. (1977) The systemic distribution and relative occurrence of bacteria in sugarcane varieties affected by ratoon stunting disease. *Proceedings of the South Africa Technologist association*. 6: 466-467.

BARBOSA M. H. P (2000) Perspectivas para ao melhoramento da cana-de-açúcar. *Simpósio de Atualização em Genética e Melhoramento de Plantas*. Lavras: UFLA, 17p.

BARBOSA M. H. P; RESENDE M. D de; SILVEIRA, L. C. I; PETERNELLI L. A.
(2005) Estratégias de melhoramento genético da cana-de-açúcar em universidades. *In: IX Simpósio sobre seleção recorrente*. Lavras: UFLA, 17p.

- BERGAMIN, A. F.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (1995) *Manual de Fitopatologia (Princípios e conceitos)*. 3ª Edição. São Paulo. Editora Agronômica Ceres. São Paulo. 919p.
- CALIJA, V.; HIGGINS, A. J.; JACKSON, P. A.; BIELING, L. M.; COOMANS, D. (2001) An operations research approach to the problem of the sugarcane selection. *Annals of Operations Research: Netherlands*, 108: 123-142.
- CARDOSO, C. O. N. (1986) Isolamento da bactéria do raquitismo (*Clavibacter xyli* subsp. *xyli*) no Brasil. *Boletim Técnico COPERSUCAR*, São Paulo, 34: 48-52.
- CARNEIRO, J. B.; PONTE, E. C.; SILVEIRA, S. F. (2004) Levantamento fitossanitário da região norte capixaba e oeste mineiro. *Fitopatologia brasileira (Suplemento)*. In: *XXXVII Congresso Brasileiro de Fitopatologia*, p.191.
- CARNEIRO, J. B.; SILVEIRA, S. F.; PONTE, E. C. (2004) Efeito da termoterapia na sanidade de mudas de cana-de-açúcar infectadas por *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*. *Fitopatologia brasileira (Suplemento)*. In: *XXXVII Congresso Brasileiro de Fitopatologia* p.187.
- CARNEIRO, J. B. C.; PONTES, E. C.; SILVEIRA, S. F.; OLIVARES, F. L. (2003) Método de extração de seiva do xilema de cana-de-açúcar e detecção sorológica por Dot Blot de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*. Resumo Expandido. *Congresso de Fitopatologia*, Águas de São Pedro.
- CARNEIRO, J. B. C.; SILVEIRA, S. F. (2001) *Obtenção e análise de especificidade de antissoro (policlonal) contra Leifsonia xyli subsp. xyli agente causal do RSD*. Tese (Mestrado) – Campos dos Goytagazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 40p.
- CARVALHO, G. J.; ANDRADE, L. A. B.; EVANGELISTA, A. R. (1993) Avaliação do potencial forrageiro de cinco variedades de cana-de-açúcar (ciclo de ano) em diferentes estádios de desenvolvimento. *STAB*, 11: 16-23.

- CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A. (2001) Ecofisiologia de culturas extrativas: cana-de-açúcar; seringueira; coqueiro; dendezeiro e oliveira. *Cosmópolis*: Editora Stoller do Brasil, 138p.
- CESNIK, R.; MIOCQUE, J. (2004) Melhoramento da Cana-de-açúcar. *Embrapa Informações Tecnológicas*. Brasília, 307p.
- CHAGAS, P. R. R.; MATSUOKA, S. (1988) Medidas de controle do raquitismo da soqueira. *Brasil açucareiro*, Rio de Janeiro, 106 (1): 40-44.
- CHAGAS, P. R. R.; TOKESHI, H. (1988) Método alternativo de coloração do xilema para a avaliação do índice de contaminação do raquitismo da soqueira em cana-de-açúcar. *Brasil açucareiro*, Rio de Janeiro, 106(4): 16-25.
- CHAGAS, P. R. R., TOKESHI, H. (1994) Comparison between methods for diagnosis of Ratoon Stunting Disease : Water Flow, Flow and Staining and Staining by transpiration. *Current Trends in Sugarcane Pathology*, 163 - 171.
- CHAGAS, P. R. R (1996) *Raquitismo da soqueira: severidade dos sintomas no xilema e quantificação dos danos agro-industriais*. Tese (Doutorado) – Piracicaba – SP, Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz – ESALQ/USP, 161p.
- COMSTOCK, J. C.; SHINE, J. M.; DAVIS, M. J.; DEAN, J. L (1996) Relationship between resistance to *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* colonization in sugar cane and spread of ratoon stunting disease in the field. *Plant Disease*, v.80, p.704-706.
- COMSTOCK, J. C.; PERDOMO, R.; POWELL, G.; WANG, Z. (1997) Ratoon stunting disease in Florida sugarcane fields: relationship between disease incidence and cultivar resistance. *Journal American of Sugarcane Technologists*, 17:95-101.

- CONAB (2007) ACOMPANHAMENTO DA SAFRA BRASILEIRA CANA-DE-AÇÚCAR – SAFRA 2007/2008, Terceiro levantamento, UDOP. Araçatuba. SP. site – <http://www.udop.com.br>.
- DAMANN, K. E. (1998) Alkaline induced metaxylem autofluorescence: a diagnostic symptom of ratoon stunting disease of sugarcane. *Phytopathology*, St. Paul, 78 (2): 23-26.
- DAVIS, M. J.; DEAN, J. L. (1984) Comparison of diagnostic *Aechrigues* for determining incidence of ratoon stunting disease in florida. *Plant Disease*, St. Paul, 10: 896-899.
- DAVIS, M. J.; DEAN, J. L. ; HARRISON, N. A. (1988) Distribution of *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* in stalks of sugarcane cultivars differing in resistance to ratoon stunting disease. *Plant Disease*, 72: 443-448.
- DAVIS, M. J.; DEAN, J. L.; MILLER J. D.; SHINE JR., J. M. (1994) A method to screen for resistance to ratoon stunting disease of sugarcane. *Sugar cane*, n 6. 9-15.
- DAVIS, M. J.; GILLASPIE, A. G.; HARRIS, R. W.; LAWSON, R. H. (1980) Ratoon stunting disease of sugarcane: Isolation of the causal bacteria. *Science*, Washington, (210): 1365-1367.
- DAVIS, M. J.; GILLASPIE, A. G.; VIDAVER, A. K.; HARRIS, R. W. (1984) *Clavibacter*, a new genus containing some phytopathogenic coryneform bacteria *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* sp.nov., subsp. nov. and *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* subsp. nov., pathogens that cause ratoon stunting disease of sugarcane and Bermudagrass stunting disease. *International Journal of Systematic Bacteriology*, Washington, 34: 107-117.
- EVTUSHENKO, L. I.; DOROFEEVA, L. V.; SUBBOTIN, S. A.; COLE, J. R.; TIEDJE, J. M. (2000) *Leifsonia poae*. gen. nov., sp. nov., isolated from nematode galls on *Poa annua*, and reclassification of ‘ *Corynebacterium aquaticum*’ Leifson

1962 as *Leifsonia aquatica* (ex Leifson 1962) gen.nov., nom. rev. comb. nov. and *Clavibacter xyli* Davis et al. 1984 with two subspecies as *Leifsonia xyli* (Davis , et al 1984) gen. nov. comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 5: 371-380.

GAGLIARDI, P. R. (2003). *Análise estrutural e comparativa do genoma de Leifsonia xyli subsp. xyli*. Tese (Mestrado) - Piracicaba - SP, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" Universidade de São Paulo - ESALQ, 61p.

GELLER (1993) site: [http://www.fca.unesp.br/intranet-arquivos-crusciol-AULA_2_Cana_Melhoramento,_Viveiros_e_Varietades.swf](http://www.fca.unesp.br/intranet-arquivos-crusciol-AULA_2_Cana_Melhoramento_Viveiros_e_Varietades.swf), acessado em 20/03/08.

GIGLIOTI, E. (1997) *Conciliação dos métodos de STM e TBIA para determinação de resistência de genótipos de cana-de-açúcar RSD*. Tese Doutorado – Piracicaba – SP, Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz – ESALQ/USP. 234p.

GILLASPIE, A. G.; FLAX, G.; KOIKE, H. (1976) Relationship between numbers of diagnostic bacteria and injury by ratoon stunting disease in sugarcane. *Plant disease reporter*, 60 (7): 573-574.

GILLASPIE, A. G. (1978) Ratoon stunting disease of sugarcane serology. *Phytopathology*, St. Paul, 68: 529-532.

GILLASPIE, A. G.; HARRIS, R. W. (1979) Limitations of Elisa for detection of the RSD - associated bacterium in sugarcane and sudangrass. *Sugarcane Pathologists' Newsletter*, Réduit, 22: 25-28.

GILLASPIE, A. G.; DAVIS, M. T.; HARRIS, R. W.; LAWSON, R. H. (1981) Isolation and pathogenicity of the ratoon stunting disease bacterium. *International Sugar Journal*, New Orleans, 83: 324-326.

- GILLASPIE, A. G.; DAVIS, R. E.; WORLEY, J. F. (1973) Diagnosis of ratoon stunting disease based on the presence of a specific microorganism. *Plant Disease Reporter, St. Paul*, 60: 573-576.
- GILLASPIE, A. G.; TEAKE, D. S (1989) Ratoon stunting disease. *In: Diseases of sugarcane: major diseases*. Cap.4, p 58-80.
- GOMES, F. P. (2000) *Curso de Estatística Experimental*. 14.ed.Piracicaba: São Paulo. 477p.
- GUZMÁN, M. L.; VICTORIA K., J. I. (1992) Incidencia del raquitismo de la soca (*Clavibacter xyli* subsp. *xyli*) en semilleros de la cana de azúcar y evaluación de métodos de su diagnóstico. *Fitopatología Colombiana*, Palmira, 16: 126-134.
- GUZMÁN, M. L.; VICTORIA K., J. I. (1993) Empleo del método de inmunofluorescencia directa en la detección del raquitismo de la soca (*Clavibacter xyli* subsp. *xyli*) *Fitopatología Colombiana*, Palmira, 17: 21-30.
- HARRISON, J.; DAVIS, M. J. (1988) Colonization of vascular tissues by *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* in stalks of sugarcane cultivars differing in susceptibility to ratoon stunting disease. *Phytopathology*, St Paul, 78: 722-727.
- HARRISON, J.; DAVIS, M.J. (1990) Comparison of serological techniques for diagnosis of ratoon stunting disease. *Sugarcane*. 1990. Port Talbot: 5-9 (Resumo em CAB Abstracts on CD-ROM, 3a :1990-91).
- HARRISON, N. A.; DAVIS, M. J. (1986) Infectivity titrations of *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* and sugarcane cultivars differing in susceptibility to ratoon stunting disease. *Plant disease*. 70: 556-558.
- HEINZ, D. J.; TEW, T. L. (1987) Hybridization procedures. *In: Heinz, D.J. (Ed.) Sugarcane improvement through breeding*. Amsterdam: Elsevier. 313 -342.

- IAMAUTI, M. T.; TOKESHI, H. (1994) Comparação de métodos para diagnose do Raquitismo da soqueira da cana-de-açúcar (*Clavibacter xyli* subsp. *xyli*) e aplicação na seleção de variedades resistentes. *Summa Phytopathologica*, 20: 9.
- IGLESIA, A. (2003) Review of ratoon stunting disease of sugarcane (*Leifsonia xyli* subsp. *xyli*). *Rev. Protección Veg.*, 18: 1 - 6.
- IGLESIA A.; DÍAZ, M.; PERALTA, E. L. (2002) Validación de métodos inmunoquímicos para el diagnóstico de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, agente causal del raquitismo de los retoños de la cana de azúcar. *Rev. Protección Veg.*, 17: 20-24.
- IGLESIA A.; FONSECA, D.; NUNES, O.; GONZÁLES R.; PAZOS, V.; PERALTA, E. L. (2003) Detección de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* mediante la reacción em cadena de la polimerasa (PCR), *Rev. Protección Veg.*, 18: 23-27.
- JAMES, G. A. (1996) Review of ratoon stunting disease. *International Sugar Journal*, 98: 532-541.
- KIMBENG, C. A.; COX, M. C. (2003) Early generation selection of sugarcane families and clones in Australia: a review. *Journal American Society of Sugarcane Technologists*, 23: 20-39.
- KOIKE, H. (1982) Interaction between mosaic and ratoon stunting disease on two commercial sugarcane clones. *Sugar cane Pathologist's Newsletter*, 29: 44 -48.
- LANDELL, M. G. de A. (1997) Novas variedades de cana-de-açúcar. Campinas: Instituto Agrônômico, *Boletim Técnico*, 169, 28p.
- LANDELL, M. G. de A.; ALVAREZ, R.; ZIMBACK, L.; CAMPANA, M. P.; SILVA, M. DE A.; VILA NOVA, J. C.; PEREIRA, A.; PERECIN, D.; GALLO, P. B.; MARTINS, A. L. M.; KANTHACK, R. A. D.; FIGUEIREDO, P.; VASCONCELOS, A. C. M. (1999) Avaliação final de clones IAC de cana-de-

açúcar da série 1982, em Latossolo Roxo da região de Ribeirão Preto. *Bragantia*, Campinas, 58 :269-280.

- LEE, I. M.; BARTOSZYK, I. M.; GUNDERSEN-RINDAL, D. E.; DAVIS, R. E. (1997) Phylogeny and classification of bacteria in the genera *Clavibacter* and *Rathayibacter* on the basis of 16S rRNA gene sequence analysis. *Applied and Environmental microbiology*. 63: 2631-2636.
- LEIFSON, E. (1962) The bacterial flora of distilled and stored water. III New species of the genera *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Spirillum* and *Pseudomonas*. *Institution Bulletin Bacteriological Nomenclature Taxonomy*, 12: 161-170.
- LOPES, V. R. (2007) *Divergência Genética entre clones de cana-de-açúcar da série RB 97*. Tese (Mestrado) - Paraná - PR, Universidade Federal do Paraná - UFPR, 87p.
- MACCHERONI, W.; MATSUOKA, S. (2006) Manual de Patologia da cana-de-açúcar: O raquitismo-da-soqueira e seu controle. *Revista CanaVialis*, www.canavialis.com.br – Campinas – SP, 58p.
- MATSUOKA, S. (1971) Incidência do vírus do raquitismo da soqueira em canas provenientes de material propagativo tratado termicamente. *Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia*, 4: 63 -64.
- MATSUOKA, S. (1975) Disseminação e controle do raquitismo da soqueira da cana-de-açúcar. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 1 (4): 245-257.
- MATSUOKA, S. (1983) RB 72454: uma variedade de cana-de-açúcar para todo o Brasil. *Brasil Açucareiro*, Rio de Janeiro, 105: 48-53.
- MATSUOKA, S. (1984) Longevidade do efeito do tratamento térmico em canas infectadas pelo raquitismo da soqueira. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 2: 57-59.

- MATSUOKA, S. (1991) The contribution of man-made varieties to the sugar cane industry in São Paulo. *Ciência e Cultura*, 43: 282 -289.
- MATSUOKA, S.; GARCIA, A. A. F.; ARIZONO, H. (1999) Melhoramento da cana-de-açúcar. In Borém, A. (Ed). *Melhoramento de espécies cultivadas*. 2.ed.Viçosa: Editora UFV. p 2005-251.
- MIOCQUE, J. Y. J. (1977) Review of sugarcane varieties and breeding in Brazil. *Sugarcane Journal*, 23: 9 -13.
- MIOCQUE, J. Y. J. (1993) O melhoramento da cana-de-açúcar no Brasil. *STAB: Açúcar, Álcool e Subprodutos*, Piracicaba, 2: 24-28.
- MOURA, G. L. (2004) *Análise de herança da resistência a ferrugem da cana-de-açúcar (Puccinia melanocephala H & P Syd)*. Tese (Mestrado) – USP - Universidade de São Carlos – UFSCar. 46p.
- PAN, Y. B.; GRISHAM, M. P.; BURNER, D. M. (1998) A polymerase chain reaction protocol for the detection of *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*, the causal bacterium of sugarcane ratoon stunting disease. *Plant disease*, 82 (3): 285-290.
- PONTE, E. C. (2006) *Incidência de Leifsonia xyli subsp xyli em áreas de multiplicação de cana-de-açúcar no Espírito Santo, Sul da Bahia e Oeste Mineiro e determinação do tamanho da amostra para detecção sorológica*. Tese (Mestrado) – Campos - Universidade Estadual do Norte Fluminense – Darcy Ribeiro UENF. 52p.
- RATTEY, A. R.; PIPERIDIS, G.; TAYLOR, G. O.; COX, M. C. (2004) DNA markers: a tool for identifying sugarcane varieties. Disponível em <www.cababstractsplus.org>. Acesso em 27/06/2007.
- REDDY, G. S. N.; PRAKASH, J. S. S.; SRINIVAS, R.; MATSUMOTO, G. I; SHIVAJI, S. (2003) *Leifsonia rubra* sp. Nov. and *Leifsonia aurea* sp. Nov.; psychrophiles

- from a pond in Antarctica. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53: 977-984.
- REICHARDT, K. (1996) Dinâmica da energia em ecossistemas. *USP/ESALQ*, 513p.
- RESENDE SOBRINHO, E. A. (2000). *Comportamento de variedades de cana-de-açúcar em Latossolo Roxo, na região de Ribeirão Preto/SP*. Tese (Mestrado) - Jaboticabal - SP, 85p.
- ROS, P. B. (2004) *Avaliação da resistência de variedades de cana-de-açúcar ao raquitismo da soqueira com base na taxa de colonização dos colmos por Leifsonia xyli subsp. xyli*. Tese (Mestrado) – Piracicaba – SP, Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz – ESALQ/USP, 58p.
- ROSA, D. D. (2006) Uma abordagem genômica para ao entendimento do crescimento fastidioso de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*. *Dissertação de Mestrado* – Piracicaba – SP, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – ESALQ. 79p.
- SAEG (1997) Sistema de análises estatísticas e genéticas.
- SANGUINO, A. (1987) Principais moléstias da cana-de-açúcar. *In: Paranhos, S.B. Cana-de-açúcar: cultivo e utilização*. Campinas: Fundação Cargil. 741-757.
- SANGUINO, A. (1993) Tolerância de variedades ao raquitismo-da-soqueira. *Anais do 5 Congresso Nacional da STAB*. p.143-147.
- SANGUINO, A. (1998) Diagnóstico e controle do raquitismo da soqueira causado pela bactéria *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*. *STAB, Açúcar, Álcool e Subprodutos*, Piracicaba, 17 (1): 26.
- SANGUINO, A.; MORAES, V. A.; FILHO, O. T. S. (1984) Diagnóstico do raquitismo da soqueira em colmos de cana-de-açúcar. *Anais do II Seminário de tecnologia agrônoma*, Piracicaba, Copersucar, p. 250-253.

- SCOTT, T. J.; KNOTT, M. (1974) Cluster analysis methods for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, Raleigh, 30 (3): 507-512.
- STEIB, R. J.; FORBES, I. L.; CHILTON, S. J. P. (1957) A report on further studies on the ratoon stunting disease of sugarcane in Louisiana. *Journal Sugar*, 19:35-37.
- STEINDL D. R. L.; TEAKLE D. S. (1974) Recent developments in the identification of ratoon stunting disease. *Proceedings of the Queensland Society of Sugar Cane Technologists*, 41: 101-104.
- STEINDL, D. R. L. (1961) Ratoon stunting disease. *Plate XX, Internal symptoms of ratoon stunting disease*. Amsterdam, 20: 433-453.
- STEINDL, D. R. L (1976) The use of phase contrast microscopy in the identification of ratoon stunting disease. *Proceeding Queensland Society of sugar cane Technology*, 43: 71-72.
- STEINDL, D. R. L. (1949) Q.28 Disease. *Cane Grow. Q. Bull*, Queensland, 12 (4):191-193.
- SUZUKI, K.; SUZUKI, M.; SASAKI, J.; PARK, Y. H.; KOMAGATA, K. (1999) *Lefisonia* gen. nov. a genus for 2,4-diaminobutyric acid-containing actinomycetes to accommodate *Corynebacterium aquaticum* Leifson 1962 and *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* Davis et al., 1984. *Journal of General and Applied Microbiology*, 45: 253 - 262.
- TASSO JR., L. C. (2007) *Caracterização agrotecnológica de cultivares de cana-de-açúcar (Saccharum spp.) na Região Centro-Norte do Estado de São Paulo*. Tese (Doutorado) – Jaboticabal – SP, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – Faculdade de Ciências Agrárias, 128p.

- TEAKLE, D. S.; SMITH, P. M.; STEINDL, D. R. L. (1973) Association of a small Corynebacterium with the ratoon stunting disease of sugarcane. *Australian Journal of Agriculture Research*, 24: 67-105.
- TERAMOTO, E. R. (2003) *Avaliação e aplicação de modelos de estimativa de produção de cana-de-açúcar (Saccharum spp.) baseados em parâmetros do solo e clima*. Tese (Doutorado) - Piracicaba - SP, Escola superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo - ESALQ, 86p.
- TOKESHI, H. (1997) Doenças da cana-de-açúcar. In: KIMATI, H; AMORIM, A. L; Bergamin Filho, A., et al. (Ed.). *Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas*. São Paulo Agronômica Ceres, 2, p. 207-225.
- TOKESHI, H.; GHELLER, A. C.; SORDI, R. A.; MASUDA, Y.; MATSUOKA, S. (1983) Nova unidade de tratamento térmico de toletes de cana-de-açúcar para o controle do raquitismo da soqueira (RSD). *Summa phytopathologica*, Piracicaba, 9: 59-61.
- VALARINI, J. P. (1978) *Avaliação da resistência ao raquitismo da soqueira pelo método da vazão de água em colmos de cana-de-açúcar*. Tese (Mestrado) - Piracicaba - SP, Escola superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo - ESALQ, 78p.
- VEIGA, C. F. M.; VIEIRA J. R.; MORGADO I. F. (2006) Diagnóstico da cadeia produtiva da cana-de-açúcar do estado do Rio de Janeiro. *Relatório de pesquisa*. Rio de Janeiro: FAERJ: SEBRAE/RJ. 107p.
- VEIGA, F. M. (1956) Notas sobre o raquitismo das socas em Campos. *Brasil açucareiro*, p. 81-83.
- YOUNG, J. M; TOKIKAWA Y.; GARDAN, L. (1992) Changing concepts in the taxonomy of plant pathogenic bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 30: 67-105.