

**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Avaliação da resistência à *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, agente causal do raquitismo-da-soqueira (RSD), em variedades comerciais de cana-de-açúcar

PAULO ROBERTO GAGLIARDI

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor em Agronomia. Área de Concentração:
Fitopatologia

**Piracicaba
2008**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

PAULO ROBERTO GAGLIARDI
Engenheiro Agrônomo

Avaliação da resistência à *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, agente causal do raquitismo-da-soqueira (RSD), em variedades comerciais de cana-de-açúcar

Orientador: Prof. Dr.
LUIS EDUARDO ARANHA CAMARGO

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor em Agronomia. Área de Concentração:
Fitopatologia

Piracicaba
2008

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Gagliardi, Paulo Roberto

Avaliação da resistência à *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, agente causal do raquitismo-da-soqueira (RSD) em variedades comerciais de cana-de-açúcar / Paulo Roberto Gagliardi. - - Piracicaba, 2008.

119 p.: il

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.
Bibliografia.

1. Bactérias fitopatogênicas 2. Cana-de-açúcar 3. Inoculação
4. Raquitismo-das-soqueiras 5. Resistência genética vegetal I. Título

CDD 633.61
G135a

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

À minha saudosa mãe e minha tia Antonia
com amor
DEDICO

Ao meu pai e meu irmão
Com carinho
OFEREÇO

Ao meu inesquecível amigo

Luiz Gustavo Martins

À minha querida esposa Patrícia

Com amor

OFEREÇO

*“Aprendemos a voar como os pássaros e a nadar como os peixes,
mas não aprendemos a conviver como irmãos”.*

Martin Luther King

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS sobre todas as coisas.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Luis Eduardo Aranha Camargo.

A todos os Professores do Setor de Fitopatologia da ESALQ/USP pelos ensinamentos.

Aos amigos do Setor de Fitopatologia Rodolfo, Fernanda e Heloísa pela amizade e carinho.

Aos amigos do Laboratório de Genética Molecular da UFSCar, Cema, Daniela, Luiza, Ana, Lia, Bruna, Carol, Adriana, e muitos outros que por lá passaram,

Ao amigo Prof. Hermmann, pela confiança e apoio para a instalação e condução do trabalho,

Aos amigos Alfredo e Plínio pela valiosa contribuição na instalação e condução do trabalho;

Aos professores do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos, Alessandra, Celso, Cláudio, Clóvis, Geanini, Jorge, Josivaldo, Luciana, Luis, Márcio, Marcos, Marineide, Miguel, Norberto, Paulo Beskow, Paulo Botelho, Rubismar Sandra, Silvana e Vico pelos ensinamentos, estímulo e amizade.

Aos amigos do PMGCA/UFSCar, Cruz, Carlos, Cláudio, Éder, Ernesto, Fernando, Alan, Estênio, Geraldinho e todos que me apoiaram,

Às Cidinha e Varlene da secretaria do DBV/CCA/UFSCar e à amiga Vânia,

Aos alunos do Centro de Ciências Agrárias pelo carinho, respeito e cooperação,

Aos amigos Christian Davis, José Segundo, Thais e Silvio Meireles,

Ao Professor Éder Giglioti pela valiosa contribuição,

Aos amigos de Santa Rita, Paulo Junqueira e Juliana, Élio, Germano, Adhemar, Amoroso e Fernanda, Divaldinho, Cássio Pontes, Victor, Carlos Palma, Vinícius, André Fázio, Jéferson e Douglas Lioni, Cláudio e Raquel, José Luiz de Araújo, Fernando Carniato, Joaquim Victor, Fábio, Marcelo e Edson, que mesmo distante estiveram sempre presentes.

À toda minha família de Maceió e Anápolis, pelo carinho e apoio de sempre,

Aos amigos de São Paulo, Kadu, Fábio, Celina e Patrícia, pelo carinho,

Aos amigos da UFAL: Marcelo, Geraldo, Gaus e Edjane,

Ao PMGCA/CCA/UFSCar pelo apoio tecnológico e financeiro,

Ao Grupo Cosan, em especial a pessoa de Sebastião Ribeiro da Usina da Barra pela amizade e pelo apoio tecnológico,

E a todos aqueles que por esquecimento não citei, mas que de alguma forma também contribuíram em mais esta etapa de minha vida, agradeço.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	9
ABSTRACT.....	10
1 INTRODUÇÃO.....	11
2 DESENVOLVIMENTO.....	13
2.1 Revisão Bibliográfica.....	13
2.1.1 O Raquitismo-da-soqueira da cana-de-açúcar.....	13
2.1.2 Resistência varietal ao RSD e anatomia vascular.....	18
2.2 Material e Métodos.....	20
2.2.1 Local de implantação do experimento.....	20
2.2.2 Material vegetal.....	20
2.2.3 Tratamento térmico (termoterapia):.....	21
2.2.4 Estirpe de <i>Leifsonia xyli</i> subsp. <i>xyli</i>	21
2.2.5 Preparo do inóculo e inoculação dos toletes.....	22
2.2.6 Tratamentos.....	23
2.2.7 Coleta de amostras para análises de componentes de produção e imunoensaio.....	23
2.2.8 Análise dos níveis de infecção em variedades de cana determinados por imunoensaio.....	24
2.2.9 Análise dos componentes de produção.....	26
2.2.10 Análise ultra-estrutural do xilema.....	28
2.3 Resultados e Discussão.....	29
2.3.1 Análise dos níveis de infecção em variedades de cana determinados por imunoensaio.....	29
2.3.2 Análise dos componentes de produção.....	33
2.3.2 Análise ultra-estrutural.....	43
2.4 Discussão Geral.....	45
3 CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS.....	50
ANEXOS.....	57

RESUMO

Avaliação da resistência à *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, agente causal do raquitismo-da-soqueira (RSD), em variedades comerciais de cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar (*Saccharum* ssp.) é uma das culturas agrícolas mais importantes da história da humanidade. Foi em Nova Guiné, seu provável centro de origem, que o homem teve o primeiro contato com a planta em seu estado silvestre. Atualmente, o Brasil lidera a lista dos 80 países produtores de cana-de-açúcar. É o primeiro também em exportação de seus derivados, seguido, respectivamente, pela Austrália, Tailândia, Guatemala e África do Sul. A área plantada no Brasil está próxima dos 7 milhões de hectares. A cana-de-açúcar, assim como a grande diversidade de culturas de interesse agrônomo, é hospedeira de uma série de patógenos que podem limitar sua produção, dentre os quais, destaca-se a bactéria *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, agente causal do raquitismo-da-soqueira (RSD). O RSD é considerado uma das mais importantes doenças da cana-de-açúcar que limita a produção no mundo todo e seu controle está fundamentado na adoção de um conjunto de medidas preventivas, pois poucas são as informações sobre materiais resistentes à doença e não existe um produto químico que a controle eficientemente. Historicamente, a dificuldade do diagnóstico do RSD, na maioria dos casos, é consequência da ausência de sintomas externos e pela não ocorrência de sintomas internos em determinados cultivares de cana-de-açúcar e neste sentido, técnicas de imunologia, molecular e de microscopia de contraste de fases têm sido bastante empregadas. A hipótese da possível correlação entre a anatomia vascular e a resistência de plantas a patógenos, é um assunto frequentemente discutido por pesquisadores e poderia elucidar os mecanismos envolvidos na resistência da planta ao patógeno. Assim, o presente trabalho teve como objetivo geral avaliar a resistência/suscetibilidade de 10 variedades comerciais de cana-de-açúcar RB, mais a variedade CB 49-260 incluída como padrão suscetível, correlacionando os danos apresentados por análises de componentes de produção tecnológicos e biométricos amostrados no campo, com a morfologia e quantificação de conjunto de feixes vasculares e os níveis de infecção detectados nos diagnósticos. Os resultados mostraram que as variedades RB 72 454, RB 83 5486, RB 86 7515, RB 92 8064, RB 92 5211, RB 92 5345 e RB 92 5268 comportaram-se como variedades suscetíveis. A RB 85 5156 comportou-se como variedade de resistência intermediária. As variedades RB 85 5536 e RB 85 5453, comportaram-se como tolerantes. Os danos apresentados tiveram relação direta com as concentrações do patógeno inoculadas no início do experimento, ou seja, quanto maior a concentração de inóculo, maiores foram os danos ocorridos nas variedades menos tolerantes. Contudo, não há correlações entre o tamanho médio do metaxilema e o número de feixes vasculares por área com a resistência da planta.

Palavras-chave: Raquitismo-da-soqueira; *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*; Métodos de inoculação; MEV; Resistência ao RSD

ABSTRACT

Resistance of sugarcane commercial cultivars to *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*; the causal agent of the ratoon stunting disease (RSD)

Sugarcane (*Saccharum* spp.) is one of the most important cultures in the history of the humanity. The center of origin is probably New Guinea, where people had the first contact with the plant in wild state. Presently, Brazil leads the list of the 80 sugarcane producing countries. Brazil is also the first in exporting sugarcane by-products, followed by Australia, Thailand, Guatemala and South Africa, respectively. The are grown in Brazil ranges 7 million hectares. As well as a great diversity of cultures of agronomical interest, sugarcane is host of a large number of pathogens which can limit its production. Among them, one can emphasize, *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, causal agent of ratoon stunting disease (RSD). RSD is considered one of the most important diseases of sugarcane limiting yield worldwide and the control is based on the adoption of a set of preventative measures, since the information about resistant materials and efficient chemical products are scarce. Historically, RSD diagnosis has been difficult because there are no definitive external symptoms and internal symptoms do not develop adequately in all varieties. Serological, molecular and microscopy techniques have been widely used to diagnose RSD. The hypothesis of the possible correlation among vascular anatomy and plant resistance has been discussed by researchers and could elucidate the resistance mechanisms involved in the resistance of plants to the pathogens. Thus, the overall objective of the present study was to evaluate the resistance/susceptibility of 10 RB sugarcane commercial varieties including CB 49-260 as a susceptible standard, correlate the damages presented by the analysis of technological and biometric production components of field samples, with the morphology and quantification of set of vascular bundles and the level of infections detected on the diagnostics. The results showed that varieties RB 72 454, RB 83 5486, RB 86 7515, RB 92 8064, RB 92 5211, RB 92 5345 and RB 92 5268 were susceptible. RB 85 5156, had a intermediary resistance and varieties RB 85 5536 and RB 85 5453 both showed tolerant behavior. The injuries presented had a direct relationship with the inoculum concentration, in other words, the higher the inoculum concentration the higher the injuries with the less tolerant varieties. However, there is no correlation between the average length of the metaxilem and the number of vascular bundles per area in plant resistance.

Keywords: Ratoon Stunting Disease, *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*; Inoculation methods; Electronic microscopy; RSD resistance

1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) é uma das culturas agrícolas mais importantes da história da humanidade. Foi em Nova Guiné, seu provável centro de origem, que o homem teve o primeiro contato com a planta em seu estado silvestre. Também é neste local que ocorre grande diversidade genética do gênero. De Nova Guiné, a cana-de-açúcar foi se disseminando para o sul do Oceano Pacífico, na Indochina, no Arquipélago da Malásia e Bengala. Contudo, o seu aparecimento como planta produtora de açúcar tem sido relatado como certo, na Índia Tropical. No século XII, a cana-de-açúcar chegou à Europa e importantes regiões produtoras surgiram nos séculos seguintes, especialmente no extremo oriente onde novas bebidas como o chá, o café e o chocolate eram adoçados com açúcar em meados do século XV. Em 1493, Cristóvão Colombo iniciou o cultivo da cana-de-açúcar nas Antilhas, onde hoje é a República Dominicana. As lavouras se estenderam mais tarde para Cuba e outras ilhas do Caribe ganhando novas dimensões (COPERSUCAR, 2005; MOZAMBANI et al., 2006). Foi, contudo, a América que ofereceu ao vegetal excelentes condições para o seu desenvolvimento. No Brasil, oficialmente foi Martim Affonso de Souza que em 1532 trouxe a primeira muda de cana-de-açúcar iniciando seu cultivo na Capitania de São Vicente, local onde o nobre e militar português construiu o primeiro engenho de açúcar.

Atualmente, o Brasil lidera a lista dos 80 países produtores de cana-de-açúcar. É o primeiro também em exportação de seus derivados, seguido, respectivamente, pela Austrália, Tailândia, Guatemala e África do Sul. A área plantada no Brasil está próxima dos 7 milhões de hectares. Na safra 2006/2007 foram obtidas 475,8 milhões de toneladas, matéria prima que rendeu uma produção de mais de 30 milhões de toneladas de açúcar e 20 bilhões de litros de álcool, produto integrante definitivo da matriz energética nacional (FNP Consultoria & Comércio, 2006; IBGE, 2007). Com essa grande importância socioeconômica, a exploração da cultura da cana-de-açúcar torna o setor responsável por mais de 1 milhão de empregos diretos na área rural e outros 400 mil diretos e indiretos na área industrial com mais de 350 unidades, todas privadas, e cerca de 50 mil produtores independentes em todo o país. No Estado de São Paulo, a cana-de-açúcar se destaca como o primeiro produto agrícola com 255

milhões de toneladas obtidas na safra 2005/2006, representando mais de 50% da produção nacional sendo, ainda, responsável por 35% do PIB do Estado (FNP, 2006).

No setor agrícola, trabalhos de melhoramento genético têm sido constantemente realizados através de seleções de clones visando a obtenção de variedades que apresentem maior produção de colmos e sacarose por hectare, maior tolerância ao estresse hídrico e melhor adaptabilidade à diferentes ambientes, melhor adaptação à colheita mecanizada e maior resistência a pragas e doenças. Neste último, a cana-de-açúcar, assim como a grande diversidade de culturas de interesse agrônômico, é hospedeira de uma série de patógenos que podem limitar sua produção, dentre os quais, destaca-se a bactéria *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, agente causal do raquitismo-da-soqueira (RSD). A doença causa danos à cultura nas principais regiões do mundo onde a agroindústria sucroalcooleira está presente (GILLASPIE JR. E DAVIS, 1992; DAVIS et al., 1994). O RSD é hoje uma das grandes preocupações por parte dos melhoristas muito embora, até bem pouco tempo atrás, se constituía em um tópico de interesse secundário nos processos de seleção. Contudo, a identificação de genótipos resistentes é ainda desconhecida, principalmente em variedades comerciais correntes (HARRISON E DAVIS, 1986; GIGLIOTI, 1997). Neste sentido, a busca de métodos rápidos e precisos para a identificação de materiais resistentes ou tolerantes ao RSD é a grande preocupação entre os pesquisadores, em particular, do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-Açúcar (PMGCA) da UFSCar, que se constitui num grupo de pesquisa e extensão responsável pela criação e manejo das variedades RB. Então, o ensaio propôs avaliar 10 variedades comerciais RB de cana-de-açúcar, mais a variedade CB 49-260 incluída como padrão suscetível, inoculadas artificialmente com diferentes concentrações da bactéria *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, agente causal do raquitismo-da-soqueira. O trabalho visou avaliar a resistência/suscetibilidade das diferentes variedades de cana-de-açúcar estudadas correlacionando os danos apresentados pelas análises dos componentes de produção (tecnológicos e biométricos) amostrados no campo com a morfologia e quantificação de conjunto de feixes vasculares e os níveis de infecção detectados nos diagnósticos.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão Bibliográfica

2.1.1 O Raquitismo-da-soqueira da cana-de-açúcar

2.1.1.1 História e distribuição

O raquitismo-da-soqueira (RSD) é considerado uma das mais importantes doenças da cana-de-açúcar que limita a sua produção no mundo todo. O RSD é causado pela bactéria *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (DAVIS et al., 1980; DAVIS E BAILEY, 2000). Historicamente, a sua primeira descrição se deu em Queensland, na Austrália, em 1944, durante uma primavera bastante seca, com o surgimento de retardamento anormal no crescimento e descoloração vascular em algumas plantas da variedade Q28 (JAMES, 1996; BRUMBLEY et al., 2006). De fato, a doença não está relacionada com a morte de plantas e sim com uma significativa redução da produtividade em cultivares suscetíveis, relatam Davis et al. (1988). Por muitos anos, acreditou-se que o RSD estava associado a um vírus, devido à dificuldade em conseguir isolar e cultivar o agente causal (MATSUOKA, 1972; JAMES, 1996; BRUMBLEY et al., 2006). O uso de hospedeiro indicador foi um método seguro de identificação da doença, até quando o agente causal foi descrito em 1984, como sendo *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* (DAVIS et al., 1984), hoje denominada *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*. (EVTUSHENKO et al., 2000). Esta classificação foi recentemente confirmada por Young et al. (2006). Estes pesquisadores trabalharam com 105 isolados realizando análises de DNA *fingerprinting* utilizando *primers* BOX e ERIC (REP-PCR) (BRUMBLEY et al., 2006).

Mais tarde, ou seja, 45 anos após a sua primeira constatação, o RSD, em 1989, já havia sido relatado em 61 países sendo encontrado na maioria das áreas cultivadas com cana-de-açúcar, podendo causar perdas acima de 50% em variedades suscetíveis ou não tolerantes, conforme relatam Gillaspie e Teakle (1989) e Tokeshi (1997). Adicionalmente, incrementos na incidência podem contribuir para o declínio sucessivo durante o cultivo no campo. O agente causal do RSD encontra-se distribuído por todas as regiões canavieiras do país, atacando diferentes genótipos da planta, sob as mais diversas condições ambientais (GILLASPIE E TEAKLE, 1989). As perdas na

agroindústria devido à doença têm sido provavelmente bem acima daquelas causadas por outras doenças nos últimos quarenta anos (JAMES, 1996). Dean e Davis (1989) estimaram perdas anuais variando de 5 a 15% em plantios na Flórida (EUA), as quais representaram cerca de U\$ 36,8 milhões na safra 1988-89. Na Austrália, a doença é responsável por perdas anuais de U\$ 11 milhões no setor agroindustrial, de acordo com Fegan et al., (1998). Descrita pela primeira vez no Brasil em 1956, na Estação Experimental de Campos (município de Campos dos Goyatacazes, RJ) por Frederico Veiga (SEGATO et al., 2006), as perdas provavelmente sejam ainda maiores, já que, mais de seis milhões de hectares são cultivados com cana-de-açúcar (FNP Consultoria & Comércio, 2006). Com base nestas estimativas, Giglioti (1997) relatou que nos últimos 30 anos o RSD pôde ter sido responsável por perdas que se aproximaram dos 2 bilhões de dólares somente no Estado de São Paulo.

2.1.1.2 Etiologia do agente causal

Leifsonia xyli subsp. *xyli* (DAVIS et al, 1984; EVTUSHENKO et al., 2000; YOUNG et al., 2006) é uma bactéria gram-positiva, fastidiosa, corineforme, não móvel, aeróbia obrigatória e restrita ao xilema das plantas (KAO E DAMANN, 1980). Suas células são geralmente baciliformes e medem de 0,25-0,5 µm por 1-4 µm, com forma reta ou levemente curva e ocasionalmente inchada na ponta ou no meio (TEAKLE et al., 1979). A bactéria pode ser isolada da cana-de-açúcar infectada em meio específico (COMSTOCK E LENTINI, 1991) atingindo seu crescimento máximo em torno de 7-8 dias à temperatura de 28-30 °C. As colônias apresentam aspecto circular não pigmentado, com diâmetro variando de 0,1 a 0,3 mm em meio de cultura SC (DAVIS et al., 1984). A bactéria não forma esporos e é caracterizada pela presença de ácido 2,4 diaminobutírico (L-DAB e D-DAB em igual proporção) em sua parede celular e predominância de metaquinonas com 9 a 10 cadeias de carbono e fosfatidilglicerol e difosfatidilglicerol como principais fosfolipídios (DAVIS et al., 1984; DAVIS, 1986; YOUNG et al., 1992, EVTUSHENKO et al., 2000). Os mesmos autores descrevem também a ausência de ácidos micólicos na parede celular, fato que foi confirmado pelo

seqüenciamento devido à ausência de genes *cmaA* / B, C e D, presentes em micobactérias, como relatado por Cole et al., (2001) e Monteiro-Vitorello et al. (2004).

O conteúdo de G+C de *L. xyli* subsp. *xyli* é 66-73 mol % (EVTUSHENKO et al., 2000; MONTEIRO-VITORELLO et al., 2004). O extrato de ácidos graxos totais possui de 17 a 24, de 5 a 14 e de 62 a 72% dos ácidos 15:0 anteiso, 16:0 iso e 17:0 anteiso, respectivamente (GILLASPIE JR. E DAVIS, 1992). Trabalhos publicados por Davis e colaboradores relataram que não foram identificadas variações em patogenicidade e virulência entre isolados de *L. xyli* subsp. *xyli*. Isolados de diferentes regiões do mundo apresentaram grande grau de similaridade, tanto na morfologia e na reação de sorologia, quanto à composição bioquímica (DAVIS et al., 1980; DAVIS et al., 1984).

2.1.1.3 Métodos de controle

O controle desta importante doença está fundamentado na adoção de um conjunto de medidas preventivas, pois poucas são as informações sobre materiais resistentes e não existe um produto químico que a controle eficientemente. A incidência de RSD nos cultivares, quando não são praticadas medidas de controle, está diretamente relacionada com o alto número de vasos colonizados (COMSTOCK et al. 1996). Devido à forma de transmissão, o controle tem sido realizado através de métodos de exclusão, baseados no uso de material sadio para plantio. Facões devem ser desinfestados, especialmente quando usados em campos de propagação de material. A desinfestação pode ser realizada quimicamente, através da utilização de amônia quaternária, solução de ácido cresílico e etanol 50% (STEINDL, 1961; TEAKLE, 1983; GILLASPIE JR. E TEAKLE, 1989) ou físico, utilizando calor. O uso de tratamento térmico ou termoterapia com calor (vapor ou água quente) a 52 °C por 30 minutos (SANGUINO, 1989) ou 50,5 °C por 2 horas (TOKESHI E GHELLER, 1983; GHELLER, 1986; TOKESHI, 1997) em estacas ou colmos-sementes é bastante empregado visando a produção de material sadio no estabelecimento de viveiros livres da doença e a multiplicação para ampliação de campos comerciais. No entanto, é indispensável associar à termoterapia, a prática de *roguing*, que consiste em eliminar plantas doentes

(TOKESHI, 1997). Propagação clonal utilizando cultivo de meristema ou calos embriogênicos (células diferenciadas) derivados de folhas é uma técnica bastante eficiente que também tem sido adotada pelos produtores para evitar a entrada do patógeno numa nova área de cultivo comercial e para formação de viveiros (HOY et al., 2003). No entanto, apesar das características positivas como vantagens na qualidade sanitária das mudas, facilidade no transporte, homogeneidade do plantio e rápido acesso pelos produtores a cultivares recém-lançados, de acordo com o Professor Lee Tseng, do Departamento de Biotecnologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos, um dos pioneiros a utilizar essa técnica no Brasil, a adoção em massa por parte dos produtores se esbarra no elevado custo das mudas, na necessidade de manutenção de viveiros primários e na falta de informações dos produtores quanto aos benefícios anteriormente citados (GERALD, 1992).

Embora até recentemente o objetivo de produzir variedades resistentes tenha sido de importância secundária nos processos de seleção de clones (HARRISON E DAVIS, 1986; GIGLIOTI, 1997), atualmente a maioria dos programas de melhoramento genético da cana-de-açúcar está envolvida e interessada em executar atividades de rotina para a identificação de materiais resistentes ou tolerantes ao RSD.

2.1.1.4 Diagnose

Historicamente o diagnóstico do RSD não tem sido tarefa fácil. Esta dificuldade, na maioria dos casos, é conseqüência da ausência de sintomas externos e pela não ocorrência de sintomas internos em determinados cultivares de cana-de-açúcar (COMSTOCK E LENTINI, 1991). A contagem direta de células de bactérias fazendo uso da microscopia de contraste de fases foi utilizada pela primeira vez por Bailey em 1976 e, a partir de 1977, essa metodologia foi empregada pela *Sugar Association Experiment Station*, na África do Sul, para análises rotineiras de diagnose da doença. Naquela época, quando então a doença foi associada à natureza bacteriana, o método teve relevante importância para estimar a população de bactérias em fluido vascular, tanto para a identificação de clones tolerantes nos processos de seleção de variedades, como na expansão de plantios comerciais, objetivando evitar a

multiplicação em larga escala de mudas contaminadas. A técnica de microscopia de contraste de fases é, até nos dias de hoje, bastante utilizada com os mesmos objetivos (BAILEY E FOX, 1985; JAMES, 1996). Mais tarde, porém, o êxito no cultivo de *L. xyli* subsp. *xyli* em meio de cultura artificial (DAVIS et al., 1980) possibilitou a produção específica de anticorpos úteis para a detecção do patógeno. Assim, técnicas como a imunofluorescência, que leva em consideração o número de vasos colonizados pelo patógeno, tem auxiliado também para a seleção de cultivares resistentes (JAMES, 1996; HARRISON E DAVIS, 1988). Contudo são metodologias difíceis e demoradas e atualmente outras técnicas são empregadas para a diagnose do RSD, das quais ser destacam: ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), EB-EIA (evaporative-binding enzyme-linked immunoassay), (DAVIS et al. 1988; ROACH 1992, citado por CROFT, 2002), "Dot-blot enzyme immunoassay" (HARRISON E DAVIS, 1990) e PCR (LOUWS et al., 1995; JAMES, 1996; LOUWS et al., 1998), esta última, utilizando iniciadores específicos derivados da região 16S e 23S do rRNA (FEGAN et al., 1998). A técnica de PCR permite a análise de DNA puro da bactéria e, assim como as técnicas de sorologia de ELISA e Dot-blot, possibilitou analisar células de extratos de planta, conteúdo líquido dos vasos condutores e colônias coletadas de placas ou amostras de meio de cultura líquido (SCHNEIDER E deBRUIJN, 1996). Outros trabalhos de diagnose como a SFDV conhecida como doença de Fiji, a SCMV ou vírus do mosaico da cana-de-açúcar (SMITH E VAN DE VELDE, 1994) e a Escaldadura das Folhas, causada pela bactéria *Xanthomonas albilineans* (HONEYCUTT et al., 1993) também foram bem sucedidos utilizando a técnica de PCR.

Populações de *L. xyli* subsp. *xyli* entre 10^5 a 10^9 cél/mL no fluido vascular (DAVIS et al., 1988) podem determinar a extensão de disseminação do patógeno provocadas por implementos agrícolas, tais como plantadoras, colheitadeiras e facões de corte (objetos de corte bastante utilizados nos processos de plantio e colheita) e, assim, aumentar as perdas no campo. De acordo com Harrison e Davis (1988), é possível que haja também uma boa relação entre a população de bactéria nos extratos de xilema com a resistência dos cultivares. Neste sentido, a aplicação de diagnósticos que expressam níveis de infecção tem despertado o interesse dos pesquisadores e produtores de cana-de-açúcar para recomendações de manejos varietais adequados e

instalação de viveiros sadios. Diagnósticos com tais características que visam, principalmente, determinar diferentes graus populacionais do agente causal, podem oferecer parâmetros para o estabelecimento de correlações com as conseqüentes perdas provocadas em diferentes genótipos de cana-de-açúcar e a real necessidade de se realizar o tratamento térmico.

2.1.2 Resistência varietal ao RSD e anatomia vascular

Diferentes genótipos de cana-de-açúcar têm se comportado também distintamente em diferentes ambientes de cultivo quanto ao grau de resistência/suscetibilidade ao RSD. A pouca ou a ausência da propagação do RSD, de acordo com COMSTOCK et al. (1996), pode ser uma medida de resistência de campo da planta. Estudos avaliando cultivares resistentes na Flórida, constataram que a resistência está presente em uma série de cultivares de cana-de-açúcar, no entanto, nenhum cultivar é imune à infecção do patógeno (DAVIS et al., 1988; COMSTOCK E LENTINI, 2005). Contudo, alguns cultivares que possuem alta população da bactéria podem sofrer menores perdas no campo (CROFT, 2002) e, portanto, apresentar características de tolerância.

No Brasil, a identificação de genótipos resistentes ou tolerantes ao RSD é ainda incipiente, principalmente em variedades comerciais correntes. Trabalhos de melhoramento genético têm sido constantemente realizados visando, entre outras características, adaptações ambientais e aumento da resistência varietal a pragas e doenças. Embora até bem pouco tempo atrás tenha sido de interesse secundário nos processos de seleção (HARRISON E DAVIS, 1986; GIGLIOTI, 1997), hoje a identificação de clones e variedades comerciais resistentes à doenças, principalmente ao RSD, é uma das grandes preocupações dos melhoristas. A sempre e constante demanda de informações sobre as características agronômicas particulares das variedades de cana-de-açúcar esbarram na grande dificuldade em avaliar a resistência/suscetibilidade de genótipos relacionados normalmente à difícil tarefa de se cultivar o agente causal em meio artificial e assim realizar ensaios utilizando métodos de inoculação.

A hipótese da possível correlação entre a anatomia vascular e a resistência de plantas a patógenos tem sido discutida por pesquisadores com bastante ênfase desde a década de 70 (TEAKLE et al., 1975). Os mesmos pesquisadores, naquela época, realizaram dois importantes testes utilizando 11 genótipos de cana-de-açúcar. Tais estudos visaram determinar a ocorrência de resistência entre fluxo de água e a concentração de bactérias que coloniza o colmo da planta. Os resultados dos testes demonstraram ocorrer correlação entre a resistência e o movimento de água através dos feixes vasculares com a resistência da planta à bactéria. A consequência disso é a alta variabilidade na suscetibilidade existente entre clones e a análise desses cultivares revelou uma correlação entre anatomia do xilema e resistência ao RSD. A anatomia vascular, neste sentido, poderia, segundo os autores das pesquisas, elucidar os mecanismos envolvidos na resistência da planta ao patógeno (TEAKLE et al., 1975). Cultivares com alta ramificação do xilema e poucos vasos passando ininterruptamente entre na região nodal têm alta resistência, presumidamente pela restrita oportunidade de colonização sistêmica. Outros trabalhos relatam que pode haver também boa relação entre a população de bactérias no fluido vascular e o número de feixes colonizados. Desta forma, cultivares resistentes suportam menos bactéria no fluido vascular do que os cultivares suscetíveis (HARRISON E DAVIS, 1988).

A proposta do presente trabalho foi avaliar o comportamento de dez variedades comerciais de cana-de-açúcar no campo, mais uma variedade utilizada como padrão suscetível, frente a diferentes concentrações de inóculo com a bactéria *L. xyli* subsp. *xyli*, agente causal do RSD. O trabalho visou confrontar os resultados dos danos apresentadas no campo com a mensuração do calibre do metaxilema e o número médio de conjunto de feixes vasculares dos diferentes genótipos avaliados e os níveis de infecção apresentados pelo diagnóstico qualitativo (Dot Blot).

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Local de implantação do experimento

O experimento foi conduzido em solo argiloso (latossolo podzólico eutrófico) no Talhão 19, Zona 203 da Fazenda do Bosque Código 90002 da Usina da Barra, localizado na cidade de Barra Bonita, Estado de São Paulo na região canavieira de Jaú. Os ensaios foram instalados no dia 22 de Dezembro de 2004 e os resultados colhidos em 27 de Outubro de 2005, 08 de Setembro de 2006 e 10 de Julho de 2007.

2.2.2 Material vegetal

Na Tabela 1 estão relacionadas as 10 variedades comerciais de cana-de-açúcar estudadas no presente trabalho e a variedade CB 49-260, atualmente em desuso comercialmente, incluída como padrão suscetível. A escolha das variedades foi baseada no censo varietal do Programa de Melhoramento Genético (PMGCA/UFSCar) de 2004 que incluiu as seis variedades RB mais plantadas no Estado de São Paulo e quatro, então na época, clones da série 92, hoje já liberadas como variedades comerciais. As gemas foram obtidas a partir da coleção de germoplasma do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos no *campus* de Araras-SP. Foram extraídos, aproximadamente 33.000 toletes de uma gema ou seja 3.000 de cada. Esse número corresponde à aproximadamente 6 vezes o valor necessário para o experimento que utilizou 480 plantas de cada variedade. Tal procedimento foi adotado devido à baixa brotação das gemas atribuídas ao tratamento térmico e à época em que foi realizada a primeira etapa do trabalho.

Tabela 1 - Relação das variedades selecionadas e do padrão suscetível

Número	Variedade	Sigla
01	RB 72 454	RB 01
02	RB 83 5486	RB 02
03	RB 85 5156	RB 03
04	RB 85 5453	RB 04
05	RB 85 5536	RB 05
06	RB 86 7515	RB 06
07	RB 92 8064	RB 07
08	RB 92 5211	RB 08
09	RB 92 5345	RB 09
10	RB 92 5268	RB 10
11	CB 49-260	CB 01

2.2.3 Tratamento térmico (termoterapia):

Os colmos de cada variedade foram cortados em toletes de uma gema. Os toletes foram separados em 4 partes iguais (aproximadamente 825 gemas) e colocados em sacos de polipropileno (tipo saco de cebola) com capacidade de 50 kg. O tratamento térmico foi realizado para eliminar alguma infecção natural de *L. xyli* subsp. *xyli* (pela submersão destes materiais em água a 50,5 °C por 2 horas segundo trabalhos descritos por Tokeshi e Gheller (1983), Gheller (1986) e Tokeshi (1997).

2.2.4 Estirpe de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*

Utilizou-se no trabalho a estirpe CTC B07 de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (IBSBF 1853) (GAGLIARDI, 2003), a mesma que teve o seu genoma seqüenciado pelo “Projeto Genoma *Leifsonia*” realizado pelo Grupo de Seqüenciamento de Genomas Agronômicos e do Meio-Ambiente (AEG) da rede ONSA-FAPESP (MONTEIRO-VITORELLO et al., 2004)).

2.2.5 Preparo do inóculo e inoculação dos toletes

O inóculo foi preparado cultivando a bactéria *L. xyli* subsp. *xyli* estirpe CTC B07 em meio de cultura líquido S8 descrito por Davis et al. (1984) a 28 °C por 8 dias sob agitação. Para o preparo de um litro do meio de cultura, foram utilizados 8,0 g de peptona de soja (Biobrás), 30 mL de solução 0,1% de hemina bovina - Sigma Tipo I em NaOH 0,05 N, MgSO₄.7H₂O 0,01 M, 13 mL de K₂HPO₄ (0,1M), 87 mL de KH₂PO₄ (0,1 M) e 800 mL de água destilada deionizada. O pH foi ajustado para 7,5 com NaOH e a mistura autoclavada. Depois que o conteúdo autoclavado atingiu a temperatura próxima de 50 °C, o meio foi suplementado com 100 mL de uma solução contendo 5,0 g de glucose, 0,5 g de cisteína – Sigma e 2,0 g de albumina bovina Sigma - fração V; esterilizada em filtro 0,2 µm.

As concentrações do inóculo foram ajustadas adicionando-se tampão fosfato 0,01M ao meio líquido contendo a bactéria. As concentrações finais de 10⁸, 10⁴ e 10² células por mL foram ajustadas utilizando aparelho espectrofotômetro (OD 600nm) de acordo com a curva de crescimento descrita por Rosa (2006) e a metodologia utilizada está de acordo com o trabalho descrito por Harrison e Davis (1986). Os toletes, tratados termicamente (**item 2.2.3**), foram drenados e submersos em suspensões de células nas concentrações acima determinadas por uma hora. A testemunha foi realizada apenas submergindo os toletes em tampão fosfato pelo mesmo tempo.

Após a inoculação, os toletes de uma gema foram novamente drenados e acondicionados em caixas plásticas com capacidade de aproximadamente 14 litros de substrato (vermiculita). Este material permaneceu em casa-de-vegetação por aproximadamente 50 dias sob temperatura e umidade controladas (controlador modelo Every Control – EC 3-180) com duas regas diárias. Após este período, as plantas foram levadas ao campo e transplantadas em parcelas de 22,5 m² contendo 3 linhas (sulcos) de 5 metros de comprimento por 1,5 metro de largura com 30 plantas ou seja 2 plantas por metro linear em 4 repetições, como representado no croqui anexo. A condução do plantel foi a mesma utilizada nos canaviais comerciais da empresa (condições normais de campo) com adubação NPK de 05-25-25, irrigações periódicas nos primeiros meses, controle manual de plantas invasoras, e aplicação de 500g/ha. de Fipronil (Regent

800WG) nas covas antes da implantação do experimento para evitar o ataque de cupins.

2.2.6 Tratamentos

O experimento foi conduzido inoculando-se cada variedade de cana-de-açúcar com 4 níveis de concentração de inóculo da bactéria *L. xyli* subsp. *xyli* estirpe CTC B07 em 4 repetições sob delineamento de blocos casualizados. As parcelas foram compostas de 3 sulcos de 5 metros de comprimento por 1,5 de largura cada, com 2 plantas por metro linear, ocupando uma área total de 6.000 m² ou 0,6 ha., conforme croqui apresentado no ANEXO A. A adubação utilizada em cana-planta foi de 400 kg.ha⁻¹ da fórmula 05-30-20, e de 100 kg.ha⁻¹ de uréia em cobertura. Nas soqueiras, empregaram-se 500 kg.ha⁻¹ de fórmula 20-00-32, por ocasião do cultivo da cana.

2.2.7 Coleta de amostras para análises de componentes de produção e imunoensaio

A coleta das amostras foi realizada retirando-se 20 canas ao acaso de cada parcela. O processo ocorreu quebrando a planta na base, identificando o material e levando-o imediatamente para um galpão para o pré-processamento das amostras. Em tal procedimento não foram, portanto, utilizados facões e outros instrumentos de corte para evitar contaminações de outras parcelas com a bactéria inoculada. Metade deste material (10 canas), foi submetido à pesagem, medições do tamanho da planta e do diâmetro do 5º internódio, neste último, com auxílio de aparelho paquímetro. Após estes procedimentos o material foi encaminhado ao Laboratório da Usina para análise tecnológica de fibra e teor de açúcar. As outras 10 canas foram utilizadas para a retirada do fluido do xilema para as análises de diagnose. Devido à frequência da bactéria do RSD ser maior na parte basal, mais madura do colmo, foram utilizados o 1º e o 2º internódio no processo de retirada do fluido. Colmos com perfuração de brocas ou colmos podres das plantas foram evitados na coleta do material em campo. Os colmos coletados foram limpos com pano úmido, para evitar a contaminação por partículas de solo e outras impurezas nas amostras. Entre o segundo e terceiro entrenó

da base para cima do colmo, foi feito um corte em bisel na parte inferior e um corte transversal na parte superior. Os cortes das extremidades foram efetuados em colmos individualizados, para, em seguida, realizar a extração da seiva de xilema. Um compressor de baixa pressão (Marca Chiaperini: Modelo MC 7.6 24L - 2HP; 126 lbs de pressão) adaptado de uma teteira de borracha (tipo ordenhadeira) na extremidade mangueira foi utilizado para facilitar a extração. De cada colmo amostrado foi coletado, aproximadamente 0,5 mL do fluido vascular acondicionado em microtubos plásticos com capacidade para 1,5mL contendo 50 μ L de solução estabilizadora de digluconato de clorexidina a 0,02% (Merthiolate® incolor), identificados corretamente. A contagem dos perfilhos de cada parcela também foi realizada para estimar biometricamente a sua produtividade. Todos estes procedimentos foram realizados ano a ano iniciando no primeiro ano após o plantio, portanto nos anos de 2005, 2006 e 2007.

2.2.8 Análise dos níveis de infecção em variedades de cana determinados por imunoensaio

2.2.8.1 Produção de antissoro policlonal

O antígeno foi preparado conforme protocolo de Carneiro et al. (2004) modificado. Células de *L. xyli* subsp. *xyli* puras, cultivadas por 10 dias a 28 °C em meio líquido S8 segundo Davis (1984) descrito anteriormente, foram centrifugadas a 10.000 rpm, durante 10 min e ressuspendidas em tampão fosfato salino (PBS). O pellet de células foi lavado centrifugando e ressuspendido em PBS e as células foram dialisadas por duas vezes, à noite por 12 h a 4 °C, em solução de glutaraldeído 2% (preparada em PBS) e em PBS puro, respectivamente de acordo com Guzmán e Victoria (1993). As células, então dialisadas, foram ajustadas na concentração para densidade ótica de 0,2 de absorbância a 600nm. Em 2 coelhos da raça Nova Zelândia branco, adquiridos do biotério da Universidade Estadual Paulista (UNESP) em Araraquara-SP, foram aplicadas quatro injeções intramusculares de 2 mL com intervalo de 15 dias, em cada um deles. Na primeira aplicação utilizou-se antígeno com adjuvante completo de Freund (1:1) e, na segunda, adjuvante incompleto de Freund (1:1). As demais aplicações foram realizadas com o antígeno puro. As coletas de sangue ocorreram

após 5 dias da última aplicação pela veia arterial das orelhas. O sangue coletado foi centrifugado a 2.500 rpm, por 10 min, para a total separação do plasma dos demais componentes sólidos do sangue. O plasma, agora denominado de anti-soro bruto foi armazenado em freezer, a -20°C para posterior teste de sua reatividade que foi realizada em diferentes diluições (GUZMÁN E VICTORIA, 1993). Neste caso foram realizadas reações contra a bactéria *L. xyli* subsp. *xyli* cultivada *in vitro* e também com fluido de xilema de cana-de-açúcar sabidamente infectada. Avaliações de especificidade também foram realizadas utilizando as bactérias *Xanthomonas albilineans*, também habitante dos vasos do xilema da cana-de-açúcar agente causal da escaldadura das folhas e, *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*, outro patógeno de bastante importância para a cultura, agente causal da estria vermelha (TOKESHI E RAGO, 2005). As suspensões bacterianas foram ajustadas para a densidade ótica de 0,2 absorbância (600 nm) que correspondem aproximadamente a $1,0 \times 10^8$ células/mL (GUZMÁN E VICTORIA, 1993). Fluido de xilema negativo para PCR-específico também foi incluído na análise de especificidade do antissoro. O antissoro foi analisado nas diluições de 1:50, 1:1.000, 1:5.000 e, 1:10.000, pela técnica de sorologia “dot-blot enzyme immunoassay”.

2.2.8.2 Análises das amostras por meio de imunoensaio

A técnica de “dot-blot enzyme immunoassay” (HARRISON E DAVIS, 1990), utilizando antissoro específico, foi realizada com amostras de fluido vascular de colmos retirados da base (1.º e 2.º internódios) de 10 plantas por parcela, coletadas utilizando pressão positiva. As canas foram cortadas no campo e imediatamente levadas a um galpão onde já anteriormente estavam preparados os materiais necessários a retirada das amostras. O conteúdo líquido foi acondicionado em microtubos de 1,5 mL contendo 20 uL de solução de merthiolate 0,2% e seguiu para a geladeira até o momento do transporte para o laboratório.

No laboratório, o ensaio sorológico foi iniciado com a hidratação da membrana de nitrocelulose Hybond-ECL neutra (Amershan Bioscience-Alemanha) com água ultra-pura (milli-Q), por 10 min. Em seguida as amostras foram aplicadas com

micropipeta na membrana de nitrocelulose com o uso de um aparato Bio-Dot Microfiltration Apparatus Bio-Rad (Bio Dot-USA) acoplado à uma bomba de vácuo modelo 57 (Marconi-Piracicaba), à pressão de -200mmHg. A membrana foi, então, bloqueada por 1h em solução tampão TS (tris base- tris plusone-Amershan-Alemanha 100mM, pH 7,4; NaCl Jt Baker, México 1,5M; tween 20 Sigma-USA 0,5%) com 0,3% de leite em pó desnatado (Molico - Nestlé®), lavando-se logo após, em solução TS, por três vezes, durante 10 min cada. Em seguida, a membrana foi incubada em solução anti-soro produzido anteriormente (nas diluições de 1:500, 1:1.000, 1:5.000 e 1:10.000 no teste do atissoro e na diluição de 1:500 para a análises de diagnoses) por 1h em solução TS com 0,1% de leite. Novamente lavada em tampão TS, por três vezes, durante 10 min, a membrana foi incubada por 2h com antissoro de cabra contra IgG de coelho conjugado a fosfatase-alcalina (Sigma-USA) diluído 1:2000 em solução tampão TS com 0,1% de leite em pó. Foram repetidas as três lavagens sucessivas em tampão TS, 10 min cada, e mais uma vez por 15 min em PBS 0,1M (K₂HPO₄, Potassium Phosphate Dibasic-Spectrum-Gardena/USA; KH₂PO₄ Potassium Phosphate-Spectrum-Gardena-USA, água milli-Q, NaCl Jt Baker (México)). O processo sorológico foi finalizado no escuro, local onde a membrana foi mantida por 15 min em solução reveladora (TS, 0,03g de Naphtol-AS-Phosphate Sigma-USA; 0,5ml de Dimetylformamide Fluka-Switzerland) juntamente com a solução Fast Blue BB Salt Sigma (Germany), previamente preparada (0,1 g de Fast Blue Salt dissolvido em 500 µL de MgCl₂ para 100 ml de solução revelação). Após a incubação, a membrana foi lavada em solução hipoclorito de sódio a 2% sob agitação e no escuro para a remoção do “background”. Todo o processo sorológico foi conduzido sob agitação e à temperatura ambiente. Controles contendo concentrações conhecidas de células da bactéria foram adicionados para comparação dos níveis de infecção expressos.

2.2.9 Análise dos componentes de produção

Os atributos de produção determinantes para a formação do potencial agrícola da cana-de-açúcar estão diretamente relacionados, segundo Landell e Silva (2004) com o diâmetro e a altura dos colmos e o número de perfilhos. Neste sentido,

foram realizadas avaliações do experimento considerando o diâmetro mediano, a altura da planta e o número de perfilhos da parcela. Para Stupiello (1987), a qualidade da cana-de-açúcar depende de um grupo de variáveis e não apenas do seu rendimento em sacarose, ainda que este seja o parâmetro mais importante. Os principais parâmetros utilizados para indicar a qualidade são: a POL (%), o Brix (%) e a pureza aparente.

As análises tecnológicas, utilizadas para expressar o padrão de qualidade dos materiais, foram realizadas parte no Laboratório de Análises Tecnológicas da Usina da Barra, localizado em Barra Bonita - SP, local onde foi desenvolvido o experimento e parte no Laboratório de Tecnologia de Alimentos do DTAiSER - Departamento de Tecnologia Agroindustrial e Sócio-Economia Rural do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos no *campus* de Araras. Nas análises tecnológicas foram avaliados Brix, que expressa a porcentagem, em peso, de sólidos solúveis aparentes contidos no caldo da cana, Pol%Cana que é o principal fator considerado na avaliação da cana-de-açúcar para pagamento (LOPES, 1986; CÉSAR et al. 1993) e o percentual de fibra (Fibra %).

A amostragem foi composta de dez colmos, colhidos ao acaso na linha, em cada parcela, para análise tecnológica (TANIMOTO, 1964; PLANALSUCAR 1980), a fim de obter dados de Brix, Pol % cana e fibra % cana analisados nos três anos, sendo, um ano após o plantio (cana planta), soca (segundo corte) e re-soca (terceiro corte), respectivamente. Estes dados juntamente com número médio de colmos das parcelas, o diâmetro médio dos colmos e o tamanho médio de dez plantas utilizando-se o teste de Tukey a 5% para as comparações de médias, de acordo com Pimentel Gomes (1990). A queda de produtividade (Q%) do 1.º ao 3.º corte foi obtida empregando a expressão $Qx\% = [(P1 - Px)/P1] \times 100$, adaptada de Alvarez et al. (1987), a qual Px representa a produtividade do corte considerado e P1, a produtividade do tratamento Controle (Tratamento 1).

2.2.10 Análise ultra-estrutural do xilema

Cada variedade foi submetida a análises de microscopia eletrônica de varredura (M.E.V.) de acordo com a metodologia descrita por Kitajima e Leite (1999). Os colmos foram analisados com o propósito de dimensionar o calibre dos vasos do xilema (metaxilema) e quantificar o número de conjuntos de feixes vasculares por área (CFV/cm²) de cada variedade em estudo.

O material vegetal (de cada variedade) foi colocado por 1 hora em fixador Karnovsky modificado (glutaraldeído 2,5%, formaldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,05M, pH 7,2 e CaCl₂ 0,001 M). Em seguida, foram lavados com tampão cacodilato 0,05 M (3 vezes por 10 minutos) e imersos em uma solução de tetróxido de ósmio 1% (1 parte da solução estoque a 2% e 1 parte de tampão cacodilato 0,05 M pH 7,2). Esse procedimento foi realizado em capela, onde as amostras ficaram no fixador por 1 hora a temperatura ambiente. Após a fixação na solução de ósmio, as amostras foram lavadas com água destilada e, em seguida, imersas em soluções de concentrações crescentes de álcool (10, 50, 70, 90 e 100%). As amostras foram, em seguida, secas ao ponto crítico em aparelho Balzers CPD 030 para eliminar o álcool e o material vegetal foi “criofraturado” utilizando nitrogênio líquido. Tal processo foi utilizado com o objetivo de não danificar o material, o que geralmente ocorre quando se utilizam lâminas ou bisturis. Após estes procedimentos, as amostras foram metalizadas com ouro (MED 010 BALZERS) e visualizadas em microscópio de varredura (ZEISS DSM 940 A).

2.3 Resultados e Discussão

2.3.1 Análise dos níveis de infecção em variedades de cana determinados por imunoenensaio

2.3.1.1 Produção de antissoro

O antissoro produzido foi testado nas diluições de 1:500, 1:1.000, 1:5.000 e 1:10.000, ocorrendo reações positivas contra a bactéria *L. xyli* subsp. *xyli* cultivada em meio de cultura MSC New (Figura 34) e em fluido vascular de cana-de-açúcar doente (Figura 35). Estes resultados superam aqueles conseguidos Guzmán e Victoria (1993) e Gillaspie (1978) que obtiveram títulos de 1:2.560 e 1:1.280, respectivamente e, corroboram os resultados de Carneiro Jr. (2001) sugerindo também que títulos superiores poderão ser conseguidos, se estudados com maiores detalhes. A especificidade do antissoro foi testada em suspensões de células de *Xanthomonas albilineans* e *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*, bactérias que infectam a cultura, não se observando, contudo, reações positivas contra estes patógenos (Figura 35). A especificidade do antissoro em bactérias diazotróficas, organismos da microbiota da cana-de-açúcar, foi também realizada e relatada por Carneiro Jr. (2001).

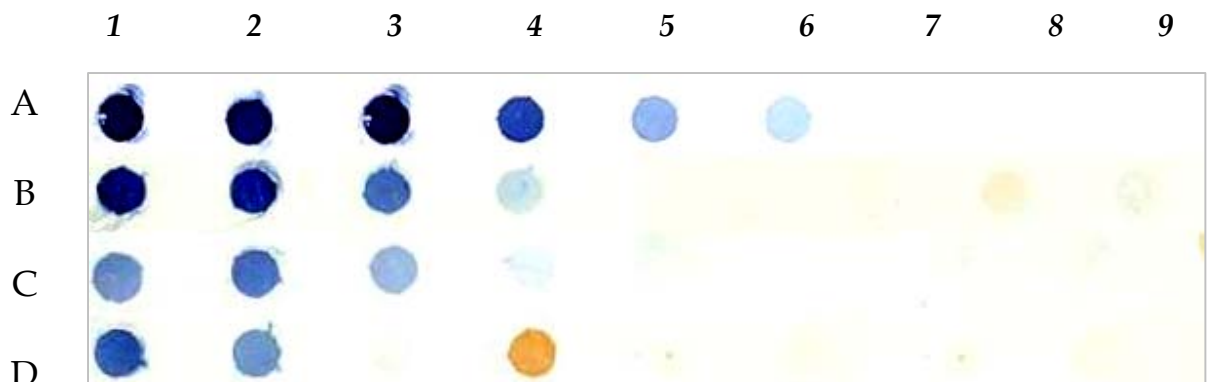


Figura 1 - Membrana de nitrocelulose contendo diluições da suspensão de células da bactéria *L. xyli* subsp. *xyli* cultivada em meio de cultura MSC New. 1 - suspensão de 10^9 UFC/mL; 2 - suspensão de 10^8 UFC/mL; 3 - suspensão de 10^7 UFC/mL; 4 - suspensão de 10^6 UFC/mL; 5 - suspensão de 10^5 UFC/mL; 6 - suspensão de 10^4 UFC/mL; 7 - suspensão de 10^3 UFC/mL; 8 - suspensão de 10^2 UFC/mL e, 9 - suspensão de 10^1 UFC/mL. A, B, C e D, diluições do antissoro bruto, 1:500, 1:1.000, 1:5.000 e, 1:10.000, respectivamente

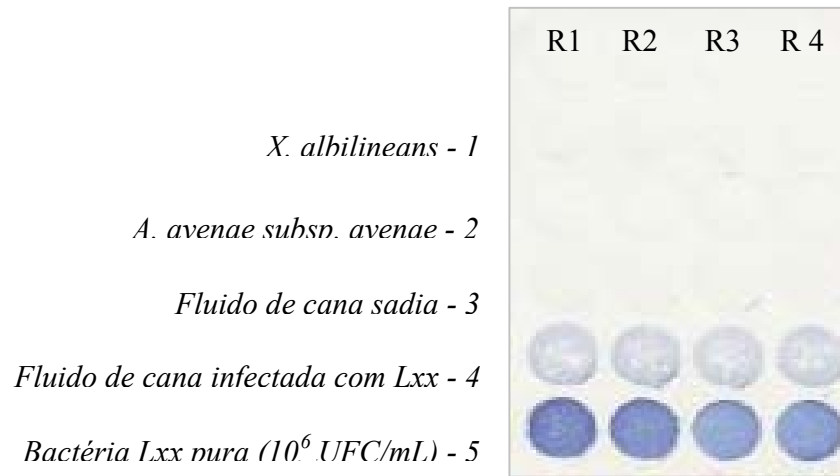


Figura 2 - Membrana de nitrocelulose contendo em: 1 - suspensão de 10^6 UFC/mL da bactéria *Xanthomonas albilineans*; 2 - suspensão de 10^6 UFC/mL da bactéria *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*; 3 - fluido de cana sadia, 4 - fluido de cana doente e, 5 - células da bactéria *L. xyli* subsp. *xyli* cultivada em meio de cultura. R1, R2, R3 e R4, repetições

O sucesso na utilização do antissoro bruto descrito pelo mesmo autor também foi confirmado nos testes realizados no presente trabalho e o nível de detecção do método de Dot Blot, estimado em 10^6 células bacterianas por mL, de forma semelhante, está de acordo com Harrison e Davis (1990). O método possibilitou a obtenção de antissoro altamente reativo e específico sem a necessidade de purificação do antissoro bruto mostrando ser, portanto, um método eficiente, simples e rápido para a produção de anti-soro policlonal. A técnica de Dot Blot embora seja de menor sensibilidade que a imunofluorescência e o PCR (Carneiro JR., 2001), a reação de peroxidase aferida também mostrou-se eficiente e rápida na detecção de *L. xyli* subsp. *xyli* cultivada em meio de cultura MSC New e nas amostras de fluido vascular de canas-de-açúcar infectadas com a bactéria. Tanto para a diagnose rotineira como para atender aos objetivos propostos no presente trabalho, a metodologia proporciona grande utilidade na detecção e estudo do patógeno e pode também auxiliar na implementação de novas pesquisas que buscam o controle do RSD.

2.3.1.2 Análises das amostras por meio de imunoenensaio

As amostras obtidas de 10 canas de cada parcela foram analisadas no Laboratório de Genética Molecular (LAGEM/CCA/UFSCar) pela técnica de técnica de Dot Blot (*dot-blot enzyme immunoassay*) de acordo com Harrison e Davis (1990). Os resultados mostraram que em nenhuma das parcelas analisadas ocorreram reações positivas nos controles, ou seja, nos tratamentos em que os colmos foram submersos em tampão fosfato sem a bactéria, nos três anos amostrados (ANEXO B, Figuras B1 a B11 e Quadros B1 a B11). No primeiro corte, contudo, apenas não foi detectada a presença da bactéria na variedade RB 01, sendo que nas demais variedades ocorreram reações positivas nos tratamentos com “média” e “alta” concentrações de inóculo. Estes resultados mostram a eficiência da metodologia de inoculação empregada (HARRISON E DAVIS, 1986) e que atividade infectiva da estirpe CTC B07 de *L. xyli* subsp. *xyli* nos colmos das diferentes variedades ocorreu também de forma satisfatória. Na análise da variedade CB 01 (CB49-260), incluída no estudo como padrão suscetível, foi possível observar (ANEXO B, figura B.11), já no primeiro corte, a detecção da bactéria nos tratamentos 3 e 4 sendo que neste último, onde foi realizada inoculações com alta concentração da bactéria, ocorreu, em 100% das amostras, a detecção de altos níveis do patógeno (Nível 3 de infecção). Os resultados apresentados mostraram que as variedades apresentaram diferentes graus de resistência à *L. xyli* subsp. *xyli*. De acordo com Davis et al. (1988) e Comstock e Lentini (2005), numa avaliação realizada na Flórida em diferentes cultivares de cana-de-açúcar, constatou-se a ocorrência de resistência de alguns materiais à infecção da bactéria *L. xyli* subsp. *xyli*, contudo, nenhum cultivar apresentou-se imune. No presente trabalho, por sua vez, a partir do segundo ano de coleta e amostragem do experimento, todas as variedades apresentaram variações quanto ao grau de colonização da bactéria em todas as parcelas tratadas com as diferentes concentrações de inóculo. Assim, análises laboratoriais são, portanto, imprescindíveis para o correto diagnóstico da doença. Neste sentido, análises rotineiras realizadas no LAGEM/CCA/UFSCar desde 2005, com objetivo avaliar a incidência e determinar os níveis de infecção da bactéria (HARRISON E DAVIS, 1986) em viveiros de mudas e canaviais comerciais, evitando assim a

multiplicação de lotes de mudas altamente contaminadas, têm sido realizados com a função de orientar trabalhos para futuras multiplicações de clones ou variedades, estabelecendo, a real necessidade do uso do tratamento térmico. Em adição, os resultados permitem monitorar a disseminação da bactéria dentro das áreas plantadas e talhões vizinhos. Um levantamento da doença de 118.826 amostras de 98 variedades diferentes enviadas ao LAGEM por unidades produtoras de cana-de-açúcar do Estado de São Paulo utilizando metodologia sorológica de Dot Blot, no período de 2005 a 2007 mostrou que 4,2% ou seja, 4.962 amostras foram diagnosticadas como positivas. Três variedades analisadas com maior incidência na diagnose foram: a variedade RB 86 7515 com 15,3% de incidência, a SP 81-3250 com 6,5% e a RB 72 454 com 4%. Embora tenha sido identificada a presença do patógeno em todas as variedades, na RB 86 7515 ocorreu 85% de Nível 1 (10^3 UFC/mL) de infecção, 14% de Nível 2 (10^6 UFC/mL) e apenas 1% de Nível 3 (acima de 10^8 UFC/mL). A variedade SP 80-1842 foi a que apresentou maior percentual de Nível 3, com 9%. Esses resultados sugerem que as variedades podem variar quanto ao grau resistência (GANEM et al., 2007).

2.3.2 Análise dos componentes de produção

2.3.2.1 Análise Tecnológica

Os atributos avaliados neste item incluíram “Peso”, “Brix”, “Pol%Cana” e “Fibra” e, as tabelas das médias com as análises estatísticas encontram-se no ANEXO C.

Para a variável “Peso” apenas as variedades RB 07 e CB 01 apresentaram diferenças significativas entre as médias dos tratamentos em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Na variedade RB 07 as diferenças ocorreram nos cortes 01 e 02 com diminuição da média do peso das parcelas inoculadas em relação à testemunha (tratamento “Controle”). No corte 3, contudo, essas diferenças não foram significativas entre as médias dos tratamentos. A variedade padrão (CB 01) por sua vez apresentou diferenças nos três cortes avaliados (ano de 2005, 2006 e 2007) com significativas reduções do peso médio nas parcelas inoculadas em relação ao tratamento “Controle” (Tabela C.11) .

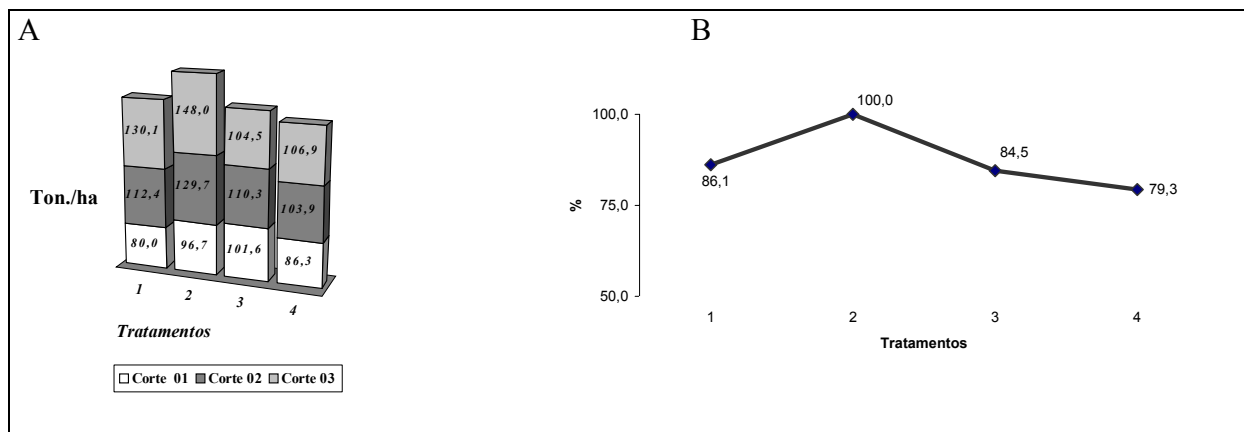


Figura 3 – Estimativa da produtividade (A) e Percentual de danos (B), acumulados nos 3 cortes da Variedade RB 01. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 células por mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 células por mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 células por mL.

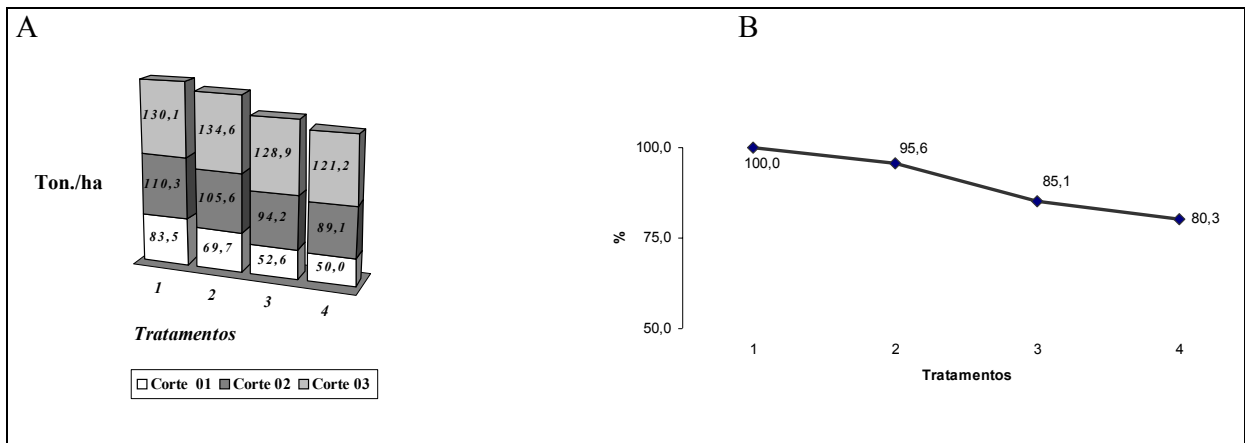


Figura 4 – Estimativa da produtividade (A) e Percentual de danos (B), acumulados acumuladas nos 3 cortes da Variedade RB 02. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 células por mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 células por mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 células por mL.

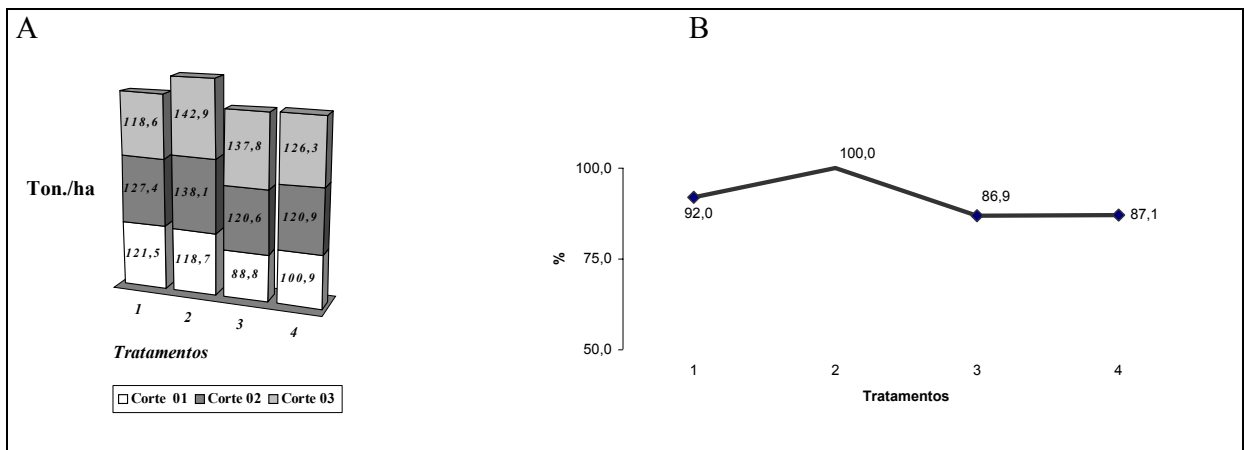


Figura 5 – Estimativa da produtividade (A) e Percentual de danos (B), acumulados nos 3 cortes da Variedade RB 03. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 células por mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 células por mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 células por mL.

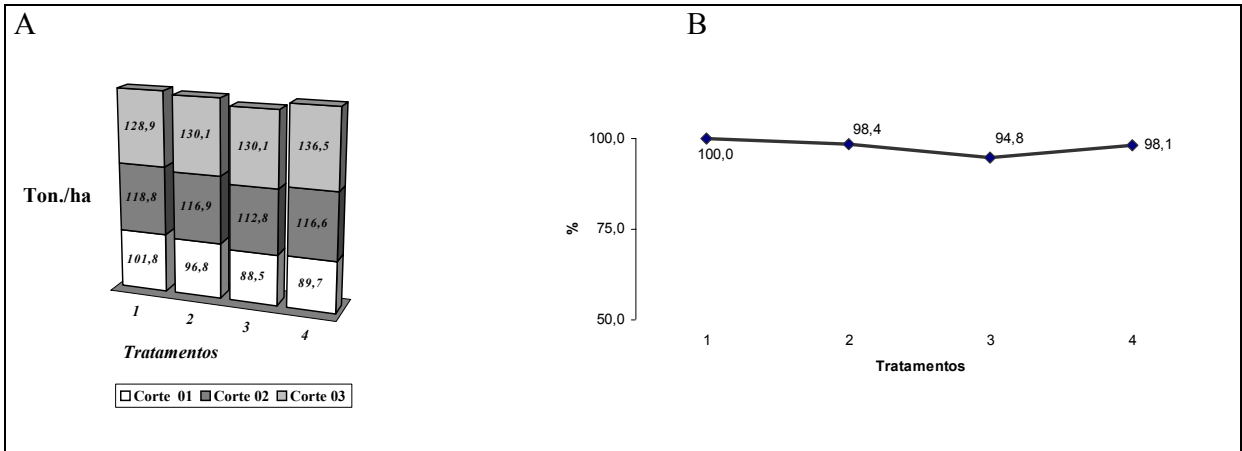


Figura 6 – Estimativa da produtividade (A) e Percentual de danos (B), acumulados nos 3 cortes da Variedade RB 04. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 células por mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 células por mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 células por mL.

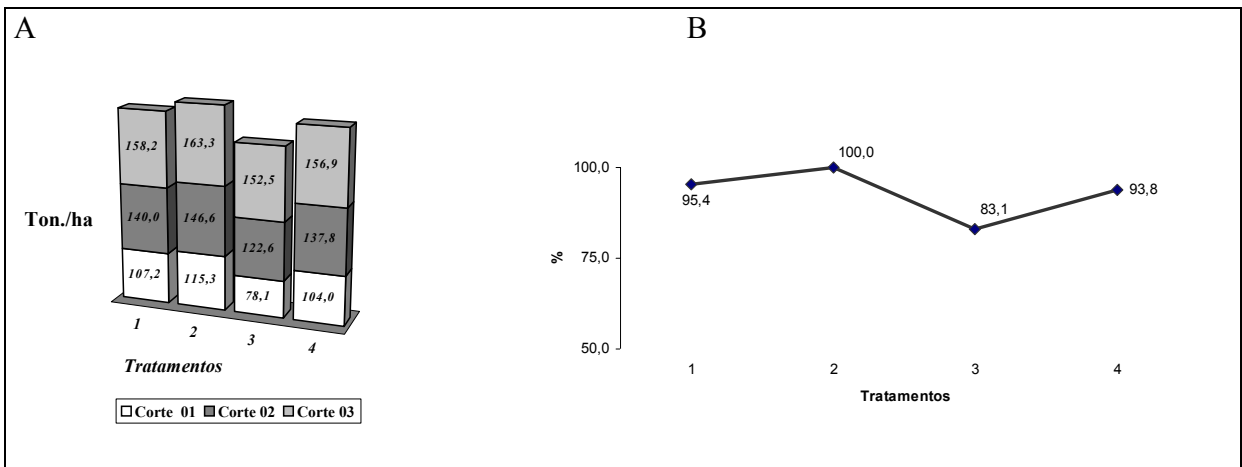


Figura 7 – Estimativa da produtividade (A) e Percentual de danos (B), acumulados nos 3 cortes da Variedade RB 05. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 células por mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 células por mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 células por mL.

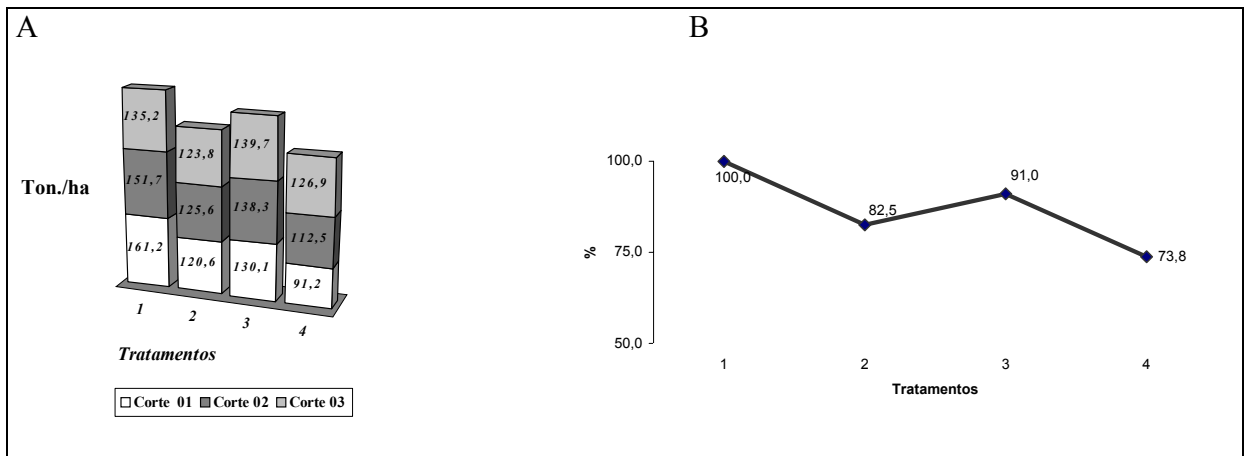


Figura 8 – Estimativa da produtividade (A) e Percentual de danos (B), acumulados nos 3 cortes da Variedade RB 06. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 células por mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 células por mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 células por mL.

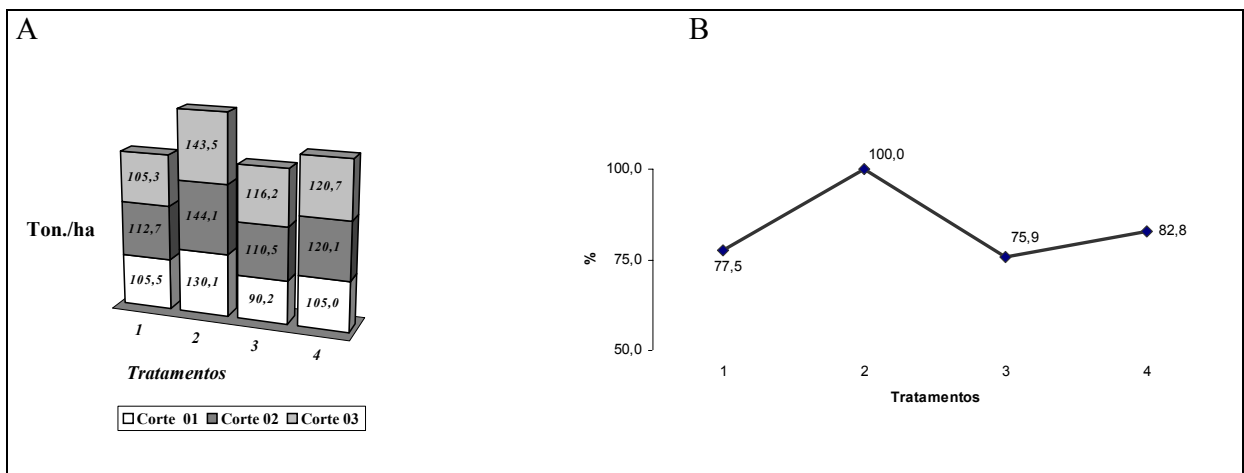


Figura 9 – Estimativa da produtividade (A) e Percentual de danos (B), acumulados nos 3 cortes da Variedade RB 07. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 células por mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 células por mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 células por mL.

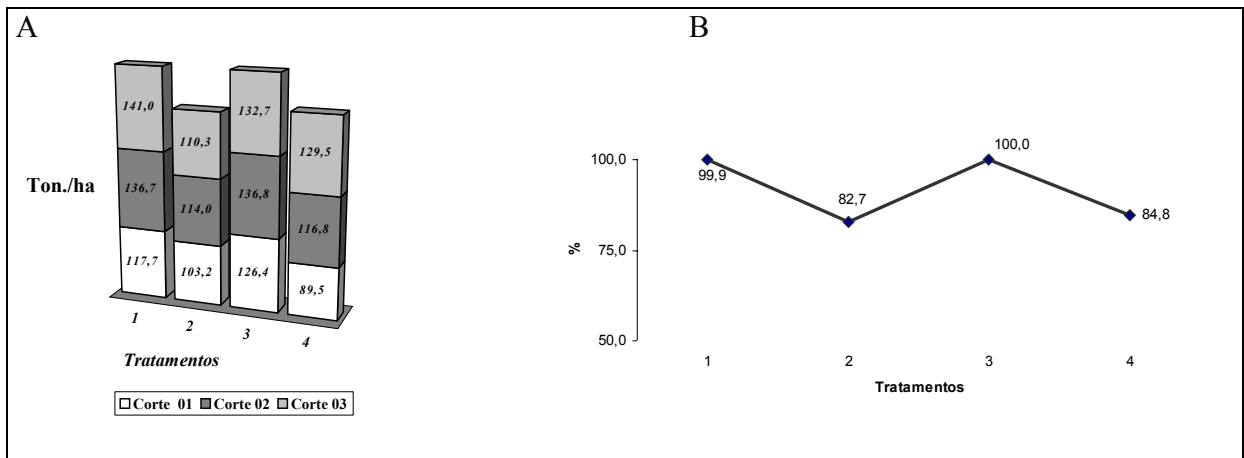


Figura 10 – Estimativa da produtividade (A) e Percentual de danos (B), acumulados nos 3 cortes da Variedade RB 08. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 células por mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 células por mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 células por mL.

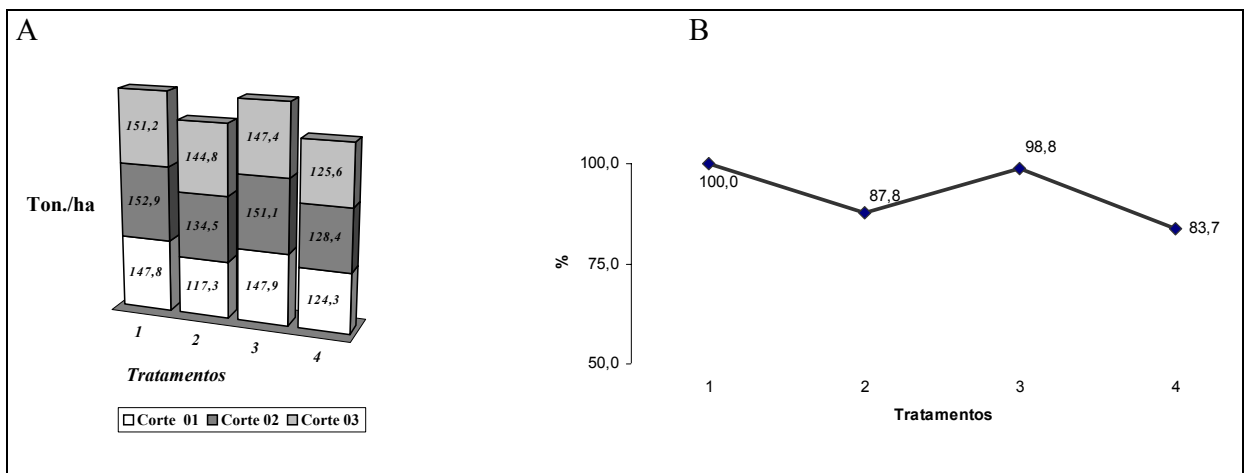


Figura 11 – Estimativa da produtividade (A) e Percentual de danos (B), acumulados nos 3 cortes da Variedade RB 09. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 células por mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 células por mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 células por mL.

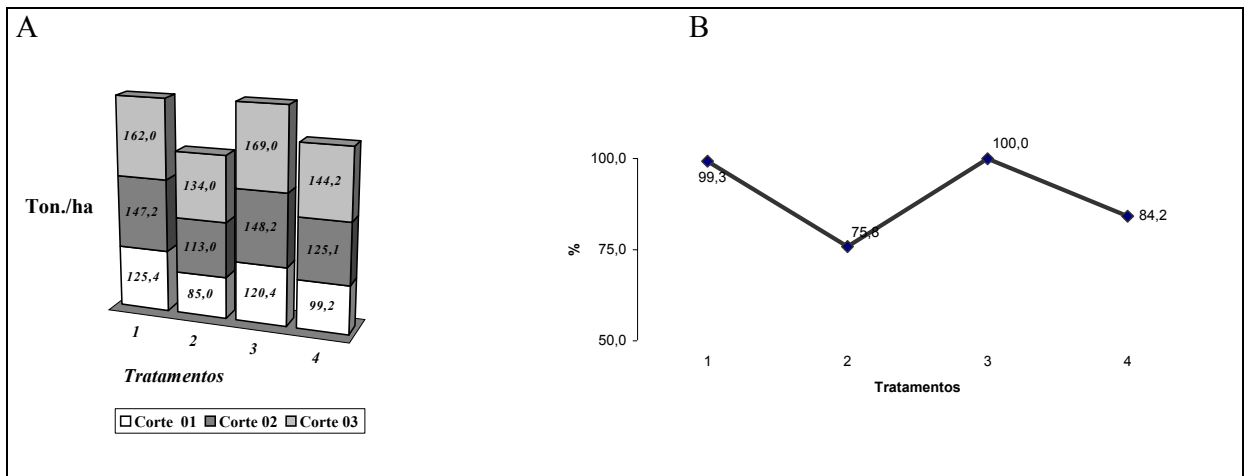


Figura 12 – Estimativa da produtividade (A) e Percentual de danos (B), acumulados nos 3 cortes da Variedade RB 10. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 células por mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 células por mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 células por mL.

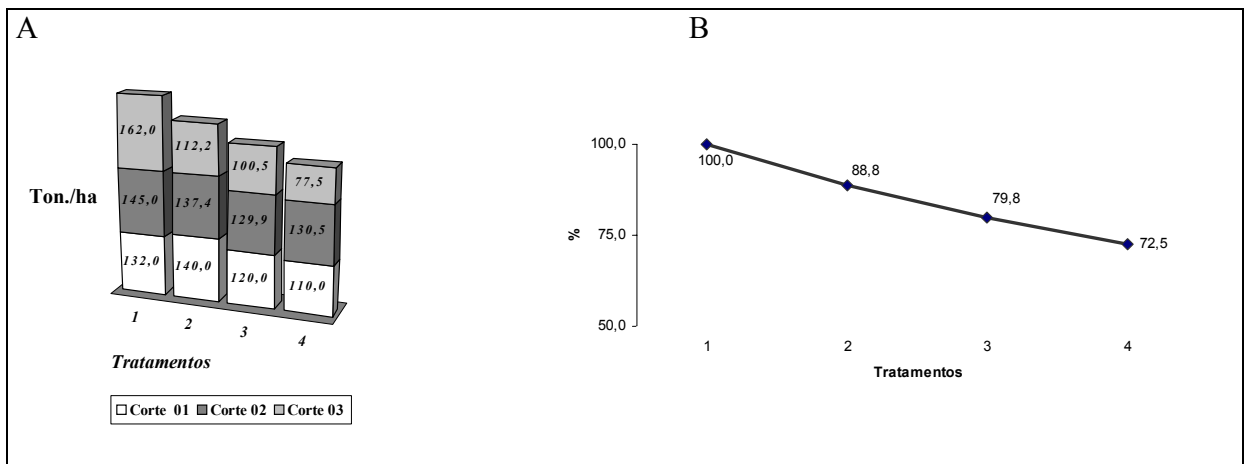


Figura 13 – Estimativa da produtividade (A) e Percentual de danos (B), acumulados nos 3 cortes da Variedade CB 01. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 células por mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 células por mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 células por mL.

Estes resultados confirmam a característica de suscetibilidade da variedade CB 49-260 à bactéria *L. xyli* subsp. *xyli*. Para a mesma variável (“Peso”), nas demais variedades e em todos os cortes, o Teste F indicou não haver diferenças entre as médias de tratamentos (figura C.1 a C.10).

Embora estatisticamente tenha ocorrido diferenças significativas apenas nas variedades RB 07 e CB 01 acima citadas, numa análise da estimativa da produtividade em toneladas por hectare (figuras de 3 A a 13 A) e percentuais das perdas (figuras de 3 B a 13 B) dos três anos estudados, observa-se a ocorrência de uma tendência de redução de produtividade nas variedades RB 01, RB 06 e RB 10 quando se compara o peso dos tratamentos inoculados com aqueles não inoculados. O efeito do RSD, neste caso, torna-se mais evidente (Tabela 2) ao longo dos três cortes. Nestas condições, considerando o critério produtividade nos ensaios de campo (MATSUOKA, 1980; DAVIS, 1988) aliados aos níveis de concentração da bactéria determinados por Dot Blot, didaticamente, as variedades foram classificadas quanto ao grau de tolerância.

A tentativa de classificação apresentada na Tabela 3 foi realizada tomando-se como base a variedade padrão CB 01, a qual apresentou reduções de 11,2%, 20,2% e 27,5%, respectivamente nos tratamentos 2, 3, e 4. Portanto, de acordo com estes critérios, as variedades RB 01, RB 02, RB 06, RB 07, RB 08, RB 09, RB 10 e a variedade padrão CB 01 apresentaram comportamento suscetível, já que a produtividade média no tratamento 4 sofreu reduções acima de 15%, as variedades RB 04 e RB 05 como tolerantes e, embora tenha ocorrido alta infecção a variedade RB 03, foi considerada como padrão intermediário de resistência pois a redução da produtividade comparada com a variedade padrão foi bem baixa. Contudo, a redução da produtividade em, 13,9%, 8,0%, 4,6% e 22,5% no Tratamento 1 (Controle) comparada com o Tratamento 2 (baixa concentração de inóculo) respectivamente nas variedades RB 01, RB 03, RB 05 e RB 07, pode estar relacionado com a ocorrência de erro experimental, uma vez que, nos tratamentos 3 e 4 (média e alta concentrações de inóculo, respectivamente), os percentuais de redução da produtividade aumentaram.

Tabela 2 – Médias dos pesos das parcelas (kg) de três anos das 11 variedades estudadas

<i>Níveis de Inóculo</i>	RB 01	RB 02	RB 03	RB 04	RB 05	RB 06	RB 07	RB 08	RB 09	RB 10	CB 01
	<i>Médias dos pesos⁽¹⁾ das parcelas (kg)</i>										
Controle	250,42ab	220,42a	242,08a	259,58a	290,42a	281,67a	276,25ab	273,75ab	287,50a	310,00ab	348,66a
Baixo	285,42 a	220,42a	279,58a	248,33a	307,08a	251,25ab	283,33a	267,08ab	261,67a	264,17b	315,00ab
Médio	209,92b	196,67a	249,17a	256,67a	274,58a	272,50ab	238,00b	296,67a	300,42a	316,25a	257,51b
Alto	220,0b	207,08a	253,33a	252,08a	279,17a	241,67b	238,83b	252,50b	279,17a	282,92ab	188,54c
F.....	4,08**	1,70 ^{ns}	2,54 ^{ns}	0,78 ^{ns}	0,99 ^{ns}	4,2**	4,49**	2,76 ^{ns}	2,42 ^{ns}	3,61**	19,73**
Tukey (5%)	63,69	33,45	38,81	21,29	55,07	34,13	42,98	41,91	39,47	48,27	59,79
CV %.....	4,16	14,51	13,88	7,67	17,52	11,94	15,19	14,09	12,81	15,07	19,74

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Tabela 3 – Percentual de danos nos três anos de análise e classificação quanto ao grau de tolerância (S) suscetível, (I) intermediária e (T) tolerante

	Tratamentos				Classificação
	1	2	3	4	
	<i>Redução da produtividade (%)</i>				
RB 01	13,9	0,0	15,5	20,7	S
RB 02	0,0	4,4	14,9	19,7	S
RB 03	8,0	0,0	13,1	12,9	I
RB 04	0,0	1,6	5,2	1,9	T
RB 05	4,6	0,0	16,9	6,2	T
RB 06	0,0	17,5	9,0	26,2	S
RB 07	22,5	0,0	24,1	17,2	S
RB 08	0,1	17,3	0,0	15,2	S
RB 09	0,0	12,2	1,2	16,4	S
RB 10	0,7	24,2	0	15,8	S
CB 01	0,0	11,2	20,2	27,5	S

Para a variável “Brix” as variedades RB 03, RB 08 e RB 09 apresentaram diferenças entre as médias com redução do percentual de seus tratamentos no corte 01 (ANEXO C). Nas variedades RB 04 e CB 01 as diferenças ocorreram no corte 01 e, no corte 02 apenas na variedade padrão suscetível também reduzindo o percentual em relação ao tratamento “Controle”. Nas demais variedades, para a mesma variável, o Teste F indicou não haver diferenças entre as médias de Tratamentos em nenhum dos anos avaliados. O coeficiente de variação revela média precisão dos resultados. Brix é a porcentagem em massa de sólidos solúveis contidos em uma solução de sacarose quimicamente pura. O Pol e o Brix medem a pureza do caldo extraído da moagem da cana-de-açúcar.

Para a variável “Pol%Cana”, que é a porcentagem em massa de sacarose aparente contida em uma solução açucarada, as variedades RB 01, RB 03, RB 08 e RB 09 apresentaram diferenças entre as médias de seus tratamentos no corte 01 com redução do percentual (ANEXO C). Nas variedades RB 01, RB 04, RB 05 e CB 01 as

diferenças ocorreram no corte 02 sendo que esta última o Teste F indicou haver diferenças entre as médias de tratamentos. Nas demais variedades, para a mesma variável, não ocorreram diferenças entre as médias de tratamentos em nenhum dos anos avaliados no teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para a variável “Fibra” as variedades RB 01, RB 03 e RB 08 apresentaram diferenças entre as médias de seus tratamentos nos cortes 01 e 02, e na variedade padrão, nos cortes 02 e 03 (ANEXO C). Para a mesma variável nas demais variedades e nos três cortes analisados, o Teste F indicou não haver diferenças entre as médias de tratamentos com redução em relação ao tratamento “Controle”. O coeficiente de variação revela média precisão dos resultados. O teor de fibra, é parâmetro fundamental no cálculo de ATR (açúcares totais recuperáveis). Além disso, a indústria produtora calcula a quantidade de bagaço para a produção de vapor indispensável na produção de calor para o aquecimento e concentração do caldo por evaporação nos processos de fabricação de açúcar bem como na geração de energia elétrica.

2.3.2.2 Análise Biométrica

Os atributos avaliados neste item incluíram “diâmetro médio dos colmos”, “altura média das plantas”, “número médio de perfilhos” e as tabelas das médias com as análises estatísticas encontram-se no ANEXO D nas figuras de D.1 a D.11.

Para a variável “diâmetro médio dos colmos”, apenas as variedades RB 04 e RB 08 não apresentaram diferenças significativas entre as médias dos tratamentos em nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. Nas variedades RB 01, RB 02 e CB 01 as diferenças ocorreram nos três cortes analisados (2005, 2006 e 2007). Nas demais variedades ocorreram diferenças nos cortes 02 e 03.

Para a variável “altura média das plantas”, apenas a variedade RB 05 não apresentou diferenças entre as médias de seus tratamentos. Nas demais variedades as diferenças ocorreram no corte 01 para as variedades RB 02, RB 06 e RB 07 e, nos cortes 02 e 03 nas demais exceto na variedade RB 02,

Para a variável “número médio de perfilhos”, apenas a variedade padrão suscetível CB 01 apresentou diferenças entre as médias de seus tratamentos. Contudo

no corte 01 não ocorreram diferenças. Nas demais variedades, para a mesma variável, não ocorreram diferenças entre as médias de tratamentos em nenhum dos anos avaliados segundo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.3.2 Análise ultra-estrutural

A anatomia vascular das variedades e o conjunto de feixes vasculares formados pelo metaxilema, elementos do xilema, floema e lacuna foram examinados por microscopia eletrônica de varredura. Os diâmetros médios do metaxilema e o número de vasos por centímetro quadrado estão representados na Tabela 4. Os valores correspondem às médias obtidas da análise de 10 colmos de cada variedade.

Tabela 4 - Diâmetro Médio do Metaxilema e Número Médio de Conjunto de Feixes Vasculares por cm^2 das dez variedades RB, mais a variedade padrão suscetível, a CB 49-260 apresentada como CB 01

Variedade	Diâmetro Médio do MTX ⁽¹⁾ (μm)	C ⁽²⁾	Número Médio de Conjunto de Feixes/ cm^2 ⁽¹⁾	C ⁽²⁾
RB 01	170,5 A	1	71,0 D	4
RB 02	120,3 BCD	5	142,0 B	2
RB 03	128,0 BC	4	71,0 D	4
RB 04	129,0 BC	4	105,0 C	3
RB 05	115,7 CD	6	142,0 B	2
RB 06	139,5 AB	2	71,0 D	4
RB 07	94,5 CD	6	142,0 B	2
RB 08	132,7 ABC	3	142,0 B	2
RB 09	85,7 D	7	177,0 A	1
RB 10	115,0 BCD	5	105,7 C	3
CB 01	111,0 BCD	5	71,0 D	4
F.....	7,53**		123,61**	
Tukey (5%).....	40,36		5,58	
CV %.....	13,40		2,02	

**.: Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

⁽²⁾: Classificação

O Teste F na variável diâmetro médio do metaxilema nas 10 variedades indicou haver diferenças entre as variedades. As variedades RB 01, RB 06 e RB 08 não se diferenciaram entre si mas apresentaram diferenças significativas quando

comparadas às demais. Estas, apresentaram as maiores médias de diâmetro, 170,5 μm , 139,5 μm e 132,7 μm , respectivamente. As variedades RB 02, RB 03, RB 04, RB 06, RB 08, RB 10 e CB 01 não se diferenciam entre si mas, apresentam diferenças significativas quando comparadas às demais. Contudo, as variedades RB 07 e RB 09 apresentaram as menores médias de diâmetro do metaxilema, 94,5 μm e 85,7 μm , respectivamente. Para a variável média dos conjuntos de feixes vasculares por centímetro quadrado o Teste F também indica haver diferenças entre as suas médias. As variedades RB 01, RB 03, RB 06 e CB 01 apresentaram as menores médias todas com 71 feixes vasculares/cm². apresentando diferenças significativas quando comparadas às demais no Teste de Tukey a 5% de probabilidade. Ao contrário, a variedade RB 09 apresentou a maior média de número de conjunto de feixes vasculares/cm², diferenciando-se estatisticamente das demais.

Estes resultados mostram que, nas variedades estudadas, quanto maior o diâmetro do metaxilema, menor será quantidade de conjunto de feixes vasculares por área. Contudo não há nenhuma relação direta com o grau de resistência da planta. A planta parece apenas, nestes casos, usar uma forma de compensar o suprimento de água com o aumento do diâmetro ou número de vasos condutores. A Tabela 4 mostra que, a exemplo da variedade incluída como padrão suscetível (CB 01), as variedades RB 01, RB 03 e RB 06 tiveram também a relação diâmetro médio do metaxilema e número de conjunto de feixes vasculares por centímetro quadrado, proporcionalidades inversas. Teakle et.al. (1978), realizaram estudos sobre as bases anatômicas envolvidas da resistência ao RSD em cana e fluxo de água no interior da planta. As investigações sugerem que cultivares resistentes (aquelas com fluxo lento de água) apresentavam também maior ramificação nos vasos do metaxilema na região nodal se comparados aos clones suscetível. Estudos mais aprofundados, quanto a anatomia e presença de poros na região nodal devem ser ainda realizadas com maior frequência pois, para Teakle e colaboradores estes fatores podem se constituir em características que estariam envolvidas como mecanismos de resistência restringindo a distribuição do patógeno ao longo do xilema. Este fato, *per se*, pode não ser suficiente para explicar a imunidade varietal já que o menor poro existente nas células do metaxilema é maior que a bactéria do RSD e a possível resistência encontrada pelos pesquisadores

apresentada pela H60-6909 (um clone testado) poderia ser incrementado pela produção de gomas e tiloses pela planta (TEAKLE et al., 1978). Neste sentido, Valarini (1978) e Davis (1986) compararam as diferenças na condução de água em plantas infectadas e não infectadas com RSD de distintos genótipos e verificaram que não havia correlação com a resistência a doença. Assim apenas foi possível a correlação direta com a resistência ao RSD quando foram realizadas comparações dentro do mesmo cultivar utilizando parcelas sadias e doentes. A micrografia eletrônica do corte transversal de colmos de cana-de-açúcar sadia de cada variedade estudada da região do nodal estão apresentados no ANEXO E nas figuras de E.1 a E.11.

2.4 Discussão Geral

Os resultados apresentados no presente trabalho mostraram que nenhuma variedade analisada apresentou-se como resistente à colonização da bactéria *L. xyli* subsp. *xyli*. Há, contudo, uma grande variação tanto na produtividade das parcelas analisadas como nos níveis de concentração da bactéria na planta analisadas por imunoensaio (ANEXOS B, C e D). De uma forma geral, cada variedade apresenta certas características particulares quanto à adaptação das condições edafoclimáticas, à produtividade e à resistência a pragas e doenças. Neste sentido, a escolha pelos produtores da variedade ideal a cada ambiente de cultivo é um aspecto muito importante pois pode proporcionar melhor rendimento agrícola sem que haja custo adicional. De acordo com Davis et al. (1988) e, Comstock e Lentini (2005), numa avaliação realizada na Flórida em diferentes cultivares de cana-de-açúcar, constatou-se que alguns materiais apresentavam caráter tolerante à infecção da bactéria *L. xyli* subsp. *xyli*, contudo, nenhum cultivar apresentou-se imune. No presente trabalho a maioria das variedades apresentou caráter suscetível, uma vez que, foram encontrados danos elevados na produtividade nas variedades RB 01 (RB 72 454), RB 02 (RB 83 5486), BR 06 (RB 86 7515), RB 07 (RB 92 8064), RB 08 (RB 92 5211), RB 09 (RB 92 5345), RB 10 (RB 92 5268) e CB 01 (CB 49-260). Além disso, as mesmas variedades apresentaram altos níveis de infecção pelo patógeno, com até 100% de Nível 3 de infecção ou seja $1,0 \times 10^8$ UFC/mL nas parcelas tratadas com alta concentração de inóculo. Assim, a utilização de métodos que quantificam a densidade populacional, a

taxa de colonização ou níveis de concentração do patógeno pode ser útil na avaliação de materiais com resistentes. Porém, a diagnose da doença e sua correlação com danos e conseqüentes perdas na produção, efetivamente, para o reconhecimento da resistência/suscetibilidade de cultivares, não estão ainda bem elucidadas. Ensaio de campo comparando parcelas sadias e doentes continuam ainda sendo a única metodologia capaz de determinar o efeito do RSD em cultivares de cana-de-açúcar (DAVIS, 1988). O uso de métodos sorológicos, contudo, já foi sugerido para analisar a taxa de infecção da bactéria *L. xyli* subsp. *xyli* para programas de melhoramento genético (GIGLIOTTI, 1997) que conciliado à outras metodologias têm o propósito de identificar genótipos resistentes ao RSD. No entanto, a primeira avaliação com base na taxa de infecção, foi realizada por Ros (2004) na busca de fontes de progenitores resistentes para aumentar a freqüência de progêneses tolerantes ao RSD e, assim, selecioná-las durante a etapa de desenvolvimento de novas variedades. Segundo Davis (1994) e Miller et al. (1995) a capacidade que cada variedade tem em limitar a taxa de colonização da bactéria é inversamente proporcional à sua própria colonização e, medidas fitossanitárias tradicionais para seu controle não são 100% eficientes. Neste sentido, é provável que a bactéria ainda esteja causando perdas consideráveis nos canaviais brasileiros até os dias de hoje e portanto a adoção de medidas sanitárias mais eficientes e esforços na obtenção de variedades resistentes devem ser adotados e estudados com mais atenção pelos programas de melhoramento genético (ROS, 2004). Um sistema de orientação para a tomada de medidas de controle do RSD baseado na resistência e tolerância de genótipos de cana-de-açúcar em muito contribui para racionalizar o manejo varietal pois, visa manter a doença abaixo do nível econômico de dano, para que não haja comprometimento da produtividade de canaviais comerciais.

Atualmente a maioria dos programas de melhoramento tem a disponibilidade de sistemas de orientação para atender as unidades produtoras de cana. Contudo, considerando a teoria de que “controle em excesso é tão ineficiente quanto a ausência de controle” como relatam Bergamim Filho e Amorim (1996), o dilema da real necessidade de tratar mudas de todos os genótipos e gastar desnecessariamente com aqueles resistentes ou simplesmente não tratar nenhuma e perder dinheiro mediante a utilização de genótipos intolerantes ou susceptíveis parece ainda persistir. De qualquer

forma, o balanço econômico entre os gastos desnecessários e as perdas causadas pela bactéria *L. xyli* subsp. *xyli* é função da proporção da área ocupada por genótipos intolerantes e suscetíveis e o dilema citado poderia ser resolvido se genótipos com baixo potencial epidemiológico fossem identificados dentre aqueles liberados para o uso comercial (ROS, 2004). Assim, somente os genótipos com potencial epidemiológico elevado seriam submetidos ao tratamento térmico permanecendo as práticas de desinfestação de equipamentos de plantio e colheita a cada mudança de talhão. Desta forma, esta racionalização evitaria gastos por falta ou excesso de medidas fitossanitárias, permitindo maior adesão e sucesso ao controle integrado ao RSD por parte dos produtores.

A dificuldade de diagnosticar a doença no campo e a transmissão facilitada por instrumentos de corte nos processos de plantio e colheita continuam fazendo desta doença uma ameaça aos canaviais de todo o país. A idéia de que a avaliação do número de feixes vasculares e o calibre dos vasos condutores de seiva bruta não surgiu recentemente (TEAKLE et.al.,1978). Contudo nas variedades estudadas no presente trabalho parece não haver relação entre estes componentes fisiológicos com a resistência da planta. Plantas que apresentaram caráter suscetível quanto aos danos apresentados na produtividade e concentração do patógeno determinado por sorologia apresentaram diferenças entre o número de feixes vasculares o diâmetro do metaxilema analisados pelo microscópio eletrônico de varredura (ANEXO E)

Então, testes de rotina para a orientação da escolha e manejo de genótipos de cana-de-açúcar para o controle integrado devem ser dirigidos associando métodos de diagnósticos como Dot Blot (CHAGAS, 1986), MCVX e TBIA (GIGLIOTI, 1997) com dados de produção de parcelas sadias e doentes (MATSUOKA, 1980; GIGLIOTI, 1997). Diante destes fatos, análises laboratoriais são imprescindíveis para o correto diagnóstico da doença. Neste sentido, análises rotineiras têm sido realizadas no LAGEM/CCA/UFSCar desde 2005. O programa tem como objetivo avaliar a incidência e determinar os níveis de infecção da bactéria (HARRISON E DAVIS, 1986) em viveiros de mudas e canaviais comerciais, evitando assim a multiplicação de lotes de mudas altamente contaminadas. Em adição, tem função de orientar trabalhos para futuras multiplicações de clones ou variedades, estabelecendo, a real necessidade do uso do

tratamento térmico. Os resultados das análises permitem também monitorar a disseminação da bactéria dentro das áreas plantadas e talhões vizinhos. Desta forma, a obtenção e posterior utilização de mudas limpas, que resultem em produtos de alta qualidade e produtividade, iniciam-se com diagnósticos precisos, práticas fitossanitárias e, caso haja necessidade, o uso da termoterapia.

Cabe também, aqui no presente trabalho, destacar a importância da atuação dos programas de melhoramento genético que há anos vêm testando novas cultivares de cana e seus derivados e trabalhos onde se compara novos materiais com aqueles atualmente em uso, são de extrema importância para todo o sistema produtivo.

3 CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados foi possível concluir que:

1. As variedades RB 01 (RB 72 454), RB 02 (RB 83 5486), BR 06 (RB 86 7515), RB 07 (RB 92 8064), RB 08 (RB 92 5211), RB 09 (RB 92 5345) e RB 10 (RB 92 5268) comportaram-se como variedades suscetíveis, uma vez que, apresentaram as maiores reduções das produtividades e altos níveis de infecção da bactéria;
2. Apenas a variedade RB 03 (RB 85 5156) comportou-se como variedade de resistência intermediária;
3. As variedades RB 04 (RB 85 5453) e RB 05 (RB 85 5536), ambas com elevados níveis de colonização do patógeno, comportaram-se como tolerantes, uma vez que, apresentaram as menores perdas de produtividade média;
4. Os danos apresentados tiveram relação direta com as concentrações do inóculo, isto é, quanto maior a concentração de inóculo, maiores foram as reduções da produtividade apresentadas nas variedades menos tolerantes, sendo 27,5%, 26,2%, 20,7%, 19,7%, 17,2%, 16,4%; 15,8% e 15,2%, respectivamente nas variedades CB 01 (CB 49-260), BR 06 (RB 86 7515), RB 01 (RB 72 454), RB 02 (RB 83 5486), RB 07 (RB 92 8064), RB 09 (RB 92 5345), RB 10 (RB 92 5268) e RB 08 (RB 92 5211);
5. Não há correlações entre o tamanho médio do metaxilema e o número de feixes vasculares por área com a resistência da planta.

REFERÊNCIAS

AÇÚCAR GUARANI.

<http://www.acucarguarani.com.br/br/institucional/TudoSobreAcucar.aspx> > .Acesso em: 10 jun. 2007.

BAILEY, R. A. The systemic distribution and relative occurrence of bacteria in sugarcane varieties affected by ratoon stunting disease. **Proceedings of the South African Technologists Association**, Mount Edgecombe, v.6, n.9, p. 466-467, 1977.

BAILEY, R.A.; FOX, P.H. A large-scale diagnostic service for ratoon stunting disease. **Proceeding of South Africa Sugar Technology Association**, Durban, n.58 p.204-210, 1984.

BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: Epidemiologia e controle econômico**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1996. 289p.

BRUMBLEY, S.M.; PETRASOVITS, L.A.; HERMANN, S.R.; YOUNG, A. J.; CROFT , B. J. Recent advances in the molecular biology of *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, causal organism of ratoon stunting disease. **Australasian Plant Pathology**, Collingwood, v.35, p.681–689, 2006.

CARNEIRO JR., J.B. **Obtenção e análise de especificidade de antissoro (policlonal) contra *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, agente causal do RSD. Campos de Goytacazes**, 2001. 39p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Centro de Ciências Tecnológicas, Universidade Estadual do Norte Fluminense, 2001.

CARNEIRO JR., J.B.; SILVEIRA, S.F.; DE SOUZA FILHO, G.A.; OLIVARES, F.L.; GIGLIOTI, E.A. Especificidade de anti-soro policlonal à *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, p.614-619, 2004.

CHAGAS, P.R.R. **Método de coloração do xilema pela corrente transpiratória aplicando na determinação de infecção do raquitismo-da-soqueira em viveiros de cana-de-açúcar**. 1986. 123p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Escola superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1986..

COMSTOCK, J.C.; SHINE JR., J.M.; DAVIS, M.J.; DEAN, J.L. Relationship between resistance to *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* colonization in sugarcane and spread of ratoon stunting disease in the field. **Plant Disease**, St Paul, v.80, p.704–708, 1996.

COMSTOCK, J.C.; LENTINI, R.S. Sugarcane Ratoon Stunting Disease 1991 Disponível em:<http://edis.ufl.edu/body_SC002>.Acesso em: 15 ago.. 2007.

COMSTOCK, J.C. ; LENTINI, R.S. Sugarcane Ratoon Stunting Disease. 2005. Disponível em:<http://edis.ufl.edu/body_SC008>. Acesso em: 15 ago.. 2007.

COOPERATIVA CENTRAL DOS PRODUTORES DE AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO. Academia do açúcar e do álcool (2005)

Disponível em:

http://www.copersucar.com.br/institucional/por/academia/cana_acucar.asp. Acesso em: 30 nov. 2007.

CROFT, B.J. A method for rating sugarcane cultivars for resistance to ratoon stunting disease based on an enzyme-linked immunoassay. **Australasian Plant Pathology**, Collingwood, n.31, p.63-66, 2002.

DAVIS, M.J. Taxonomy of plant-pathogenic coryneform bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.24, p.115-140, 1986.

DAVIS, M.J.; PURCEL, A.H.; THOMSON, S.V. Isolation media for the Pierce's disease bacterium. **Phytopathology**, Lancaster, v.70, p.425-429, 1980.

DAVIS, M.J.; BAILEY, R.A. Ratoon stunting. In: ROTT,P.; BAILEY, R.A.; COMSTOCK, J.C.; CROFT, B.J. ; SAUMTALLY, A.S. (Ed).. **A guide to sugarcane diseases** Montpellier: CIRAD Publications Service, 2000. p.49-54.

DAVIS, M.J.; DEAN, J. L.; HARRISON, N. A. Quantitative variability of *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* populations in sugarcane cultivars differing in resistance to ratoon stunting disease. **Phytopathology**, Lancaster, v.78, p.462-468, 1988.

DAVIS, M.J; DEAN, J.L.; MILLER, J.D. SHINE, J. M., Jr. A method to screen for resistance to ratoon stunting disease of sugarcane. **Sugar Cane**, Manchester, v.6, p.9-16, 1994.

DAVIS, M.J.; GILLASPIE JR. A.G.; VIDAVER, A.K.; HARRIS, R.W. *Clavibacter*. a new genus containing some phytopathogenic coryneform bacteria, including *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* sp. nov. subsp. nov and *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* subsp.nov.; pathogens that cause ratoon stunting disease of sugarcane and Bermuda grass stunting disease. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Washington, v.34, p.107-117, 1984.

DEAN, J. L.; DAVIS, M. J. Yield losses caused by ratoon stunting disease of sugarcane in Florida. **Journal of the American Society of Sugarcane Technologists**, Washington, v.10, p.66-72, 1989.

EVTUSHENKO, L.I.; DOROFEEVA, L.V.; SUBBOTIN, S.A.; COLE, J.R.; TIEDJE, J.M. *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 Evolution Microbiology**, Reading, v.50, p.371-380, 2000.

FEGAN, M.; CROFT, B.J.; TEAKLE, D.S.; HAYWARD, A.C.; SMITH, G.R. Sensitive and specific detection of *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*, causal agent of ratoon stunting disease of sugarcane, with a polymerase chain reaction-based assay. **Plant Pathology**, London, v.4, n.47, p.495-504, 1998.

FERRO, M.I.T.; DE BARROS, N.M.; DABBAS, K.M.; LAIA, M.L.; KUPPER, K.C.; MORAES, V.A.; OLIVEIRA, J.C.F.; FERRO, J.A.; ZINGARETTI, S.M. Análise do perfil de expressão dos genes da cana-de-açúcar envolvidos na interação com *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.33, n.2, p.157-166, 2007.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. Cana-de-açúcar in: **Agriannual 2006**: anuário da agricultura brasileira. São Paulo, 2006. p.241-242.

GAGLIARDI, P.R. **Análise estrutural e comparativa do genoma de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli***. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). 2003. 68p. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba: 2003.

GANEM JR, E.J.; GAGLIARDI, P.R.; URASHIMA, A.S. Incidência e severidade de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, agente causal do raquitismo-da-soqueira da cana-de-açúcar em viveiros comerciais do Estado de São Paulo. CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, 31., 2008. Campinas. **Anais...Summa Phytopathologica.**, Botucatu, v.34, n. 77, . supl., p.S31, 2008.

GERALD, L.T.S. Biofábrica de cana-de-açúcar. **Álcool & Açúcar**, São Paulo, v. 63, p. 26-32, 1992.

GHELLER, A.C.A. **Avaliação da eficiência de dois sistemas de tratamento térmico para inativação da bactéria causadora do raquitismo-da-soqueira em cana-de-açúcar**. 1986. 99p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agronomia "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1986.

GIGLIOTI, E.A. **Método conciliado para avaliar os efeitos da colonização de colmos de cana-de-açúcar por *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* na funcionalidade do xilema**. 1997. 134p. Tese de (Doutorado na área de Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

GIGLIOTI, E.A. RSD impact on sugar industries – Brazil. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 1998. Edimburg. **Anais...** Edimburg:s.ed.,. 1998. p.9-16.

GILLASPIE, A.G. Ratoon stunting disease of sugarcane: serology. **Phytopathology**, Lancaster, v.68, p.529-532, 1978.

GILLASPIE JR., A.G.; TEAKLE, D.S. Ratoon stunting disease. In: RICAUD, C.; EGAN, B.T.; GILLASPIE JUNIOR, A.G.. **Diseases of sugarcane: major diseases**. Amsterdam: Elsevier Science, 1989. p.59-80.

GILLASPIE JR., A.G.; DAVIS, M.J. Ratoon stunting disease of sugarcane. In:A. N. MUKHOPADHYAY, J. ; KAMAR, H.S. CHAUBE, U.S. SING, (Ed).. **Plant disease of international importance, disease of sugar, forest, and plantation crops**, Englewood Cliffs: New Jersey, Prentice Hal, 1992. v.4. p. 41-61,

GUZMÁN, M.L.; VICTORIA, J.I. Empleo del metodo de inmunofluorescencia ditecta en la detección del raquitismo de la soca (*Clavibacter xyli* subsp. *xyli*). **Fitopatologia Colombiana**, Cali, n.1, v.17, p. 21-30, 1993.

HARRISON, N.A. ; DAVIS, M.J. Infectivity titrations of *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* and sugarcane cultivar differing in susceptibility to ratoon stunting disease. **Plant Disease**, St Paul, v.70,n.6, p. 556-558, 1986.

HONEYCUTT, R.J.; McCLELLAND, M.; SOBRAL, B.W. Physical map of the genome of *Rhizobium meliloti* 1021. **Journal of Bacteriology**, Baltimore, n.175, p. 6945-6952, 1993.

HOY, J.W.; BISCHOFF, K. P., MILLIGAN S. B. ; GRAVOIS, K.A. Effect of tissue culture explant source on sugarcane yield components. **Euphytica**, Wageningen, n.129, p.237-240, 2003.

IAMAUTI, M.T. **Comparação de métodos para diagnose do raquitismo-da-soqueira da cana-de-açúcar (*Clavibacter xyli* subsp. *xyli*) e aplicação na seleção de variedades resistentes**. 1990. 113p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1990.

IBGE. Sistema IBGE de Recuperação Automática. Levantamento sistemático da produção agrícola, 2007. Disponível em: < <http://www.sidra.ibge.gov.br/>> Acesso em: 15 maio 2007.

- JAMES, G. A review of ratoon stunting disease. **International Sugar Journal**, London, v.98, n. 1174, p.532-541, 1996.
- KAO, J.; DAMANN JR., K. E. *In situ* localisation and morphology of the bacterium associated with ratoon stunting disease of sugarcane. **Euphytica**, Wageningen, v.129, p.237-240, 1980.
- KITAJIMA, E.W. ; LEITE, B. **Curso introdutório de microscopia eletrônica de varredura**. 2 ed. Piracicaba:Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária/ESALQ. 1999. 46p.
- LANDELL, M.G.A.; SILVA, M.A. As estratégias de seleção da cana em desenvolvimento no Brasil. **Visão Agrícola**, Piracicaba, v.1, p.18-23, 2004.
- LOUWS, F.J.; BELL, J.; MEDINA-MORA, C.M. Rep-PCR mediated genomic fingerprinting: a rapid and effective method to identify *Clavibacter michiganensis*. **Phytopathology**, Lancaster, v.88, p.862-868, 1998.
- LOUWS, F.J.; FULBRIGHT, D. W.; STEPHENS, C.T. Specific genomic fingerprints of phytopathogenic *Xanthomonas* and *Pseudomonas* pathovars and strains generated with repetitive sequences and PCR. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v.60, p.2286-2295, 1994.
- LOUWS, F.J.; FULBRIGHT, D.W.; STEPHENS, C.T. Differentiation of genomic structure by rep-PCR fingerprinting to rapidly classify *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. **Phytopathology**, Lancaster, v.85, p.528-536, 1995.
- MATSUOKA, S. **Raquitismo-da-soqueira da cana-de-açúcar: diagnose da moléstia e estudos sobre o agente causal**. 1972. 77p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura Superior "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1972.
- MATSUOKA, S. Microplots for screening sugarcane varieties for tolerance to ratoon stunting disease . **Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists**, Amsterdam, v. 17, p. 1628-1638, 1980.
- MILLER, J.D; DAVIS, M.J.; DEAN, J. L.;SHINE JR., J.M. Heritability of resistance of ratoon stunting disease in sugarcane. **Sugar Cane**, Manchester, v. 1, p. 3-8, 1995.

MONTEIRO-VITORELLO, C.B.; CAMARGO, L.E.A.; VAN SLUYS, M.A.; KITAJIMA, J. P.; TRUFFI, D.; DO AMARAL, A.M.; HARAKAVA, R.; DE OLIVEIRA, J.C.F.; WOOD, D.; DE OLIVEIRA, M.C.; MIYAKI, C.; TAKITA, M.A.; DA SILVA, A.C.R.; FURLAN, L.R.; CARRARO, D.M.; CAMAROTTE, G.; ALMEIDA, N.F.J.; CARRER, H.; COUTINHO, L.L.; EL-DORRY, H.A.; FERRO, M.I.T.; GAGLIARDI, P.R.; GIGLIOTI, E.A.; GOLDMAN, M. H.S.; GOLDMAN, G.H.; KIMURA, E.T.; FERRO, E.S.; KURAMAE, E.E.; LEMOS, E.G. M.; LEMOS, M.V.F.; MAURO, S.M.Z.; MACHADO, M.A.; MARINO, C.L.; MENCK, C.F.; NUNES, L.R.; OLIVEIRA, R.C.; PEREIRA, G.G.; SIQUEIRA, W.; DE SOUZA, A.A.; TSAI, S. M.; ZANCA, A.S.; SIMPSON, A.J.G.; BRUMBLEY, S.M. ; SETÚBAL, J.C. The genome sequence of the Gram-positive sugarcane pathogen *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St Paul, v.17, p.827-836, 2004.

MOZAMBANI, A.E.; PINTO, A.S.; SEGATO, S.V.; MATTIUZ, C.F.M. In: SEGATO, S.V.; SENE PINTO, A.; JENDIROBA, E.; NOBREGA, J.C.N. (Org.) **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: CP 2, 2006. p.11-18.

PAN, Y.B.; GRISHAM, M.P.; BURNER D.M. A polymerase chain reaction protocol for the detection of *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*, the causal bacterium of ratoon stunting disease. **Plant Disease**, St Paul, v.3, n.82, p.285-290, 1998.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 13.ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 467p.

POSPIECH, A.; NEUMANN, B. **A versatile quick-prep of genomic DNA from gram-positive bacteria**. <http://biomednet.com/cgi-bin//tto/pr> . Acesso em: 14 out. 1996

ROS, P.B. **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***. 2004. 58p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

ROSA, D.D. **Uma abordagem genômica para o entendimento do crescimento fastidioso de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli***. 2006. 79p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

SANGUINO, A. Situação atual da pesquisa em doenças da cana-de-açúcar. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.24, n.1, p.90-91, 1998.

SCHNEIDER, M.; deBRUIJN F. J. Rep-PCR mediated genomic fingerprinting of rhizobia and computer-assited phylogenetic pattern analysis. **World Journal of Microbiology**, Oxford, v.2, n.12, p. 163-174, 1996.

SEGATO, S.V.; SENE PINTO, A.; JENDIROBA, E.; NOBREGA, J.C.N. (Org.) **Atualização em produção de cana-de-açúcar**. Piracicaba: 2006. CP 2 415 p.

SMITH, G. VAN DE VELDE, R. Detection of sugarcane mosaic virus and fiji disease virus in diseased sugarcane using the polymerase chain reaction. **Plant Disease**, St Paul, v.78, p. 557-561, 1994.

STEINDL, D.R.L. Ratoon stunting disease. In: MARTIN, J. P.; ABBOTT, E.V.; HUGUES, C.G. (Ed.). **Sugar cane disease of the world**. Amsterdam: Elsevier, 1961. v.1 p. 433-459.

STEINDL, D.R.L. The use of phase contrast microscopy in the identification of ratoon stunting disease. **Proceeding Queensland Society of Sugar Cane Technology**, Queensland, v.43, p.71-72, 1976.

TEAKLE, D.S. The sugarcane ratoon stunting disease bacterium. In: FAHY, P. C.; PERSLEY, G.J. (Ed.). **Plant bacterial diseases: a diagnostic guide**. North Ryde: Academic Press, 1983. cap. 11 p. 247-257.

TEAKLE, D.S.; APPLETON, J.M., STEINDL, D.R.L. Anatomical basis for resistance of sugarcane to ratoon stunting disease. **Physiological Plant Pathology**, New York, v.12, p.83-91, 1978.

TEAKLE, D.S.; KONTZE, D.; APPLETON, J.M. A note on the diagnosis of ratoon stunting disease of sugarcane by negative-stain electron microscopy of associated bacterium. **Journal of Applied Bacteriology**, Princeton, v. 46, p.279-284, 1979.

TOKESHI, H. Doenças da cana-de-açúcar. In: KIMATI, H.; AMORIM, AL.; BERGAMIN FILHO, A. CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p.207-225.

TOKESHI, H. Doenças da cana-de-açúcar. In: GALLI, F. (Coord.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v.2, cap. 12 p.141-206.

VALARINI, P.J. **Avaliação da resistência ao raquitismo da soqueira pelo método da vazão de água em colmos de cana-de-açúcar**. 1978. 78p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1978.

ANEXOS

ANEXO A CROQUI DO EXPERIMENTO

PMGCA/UFSCar

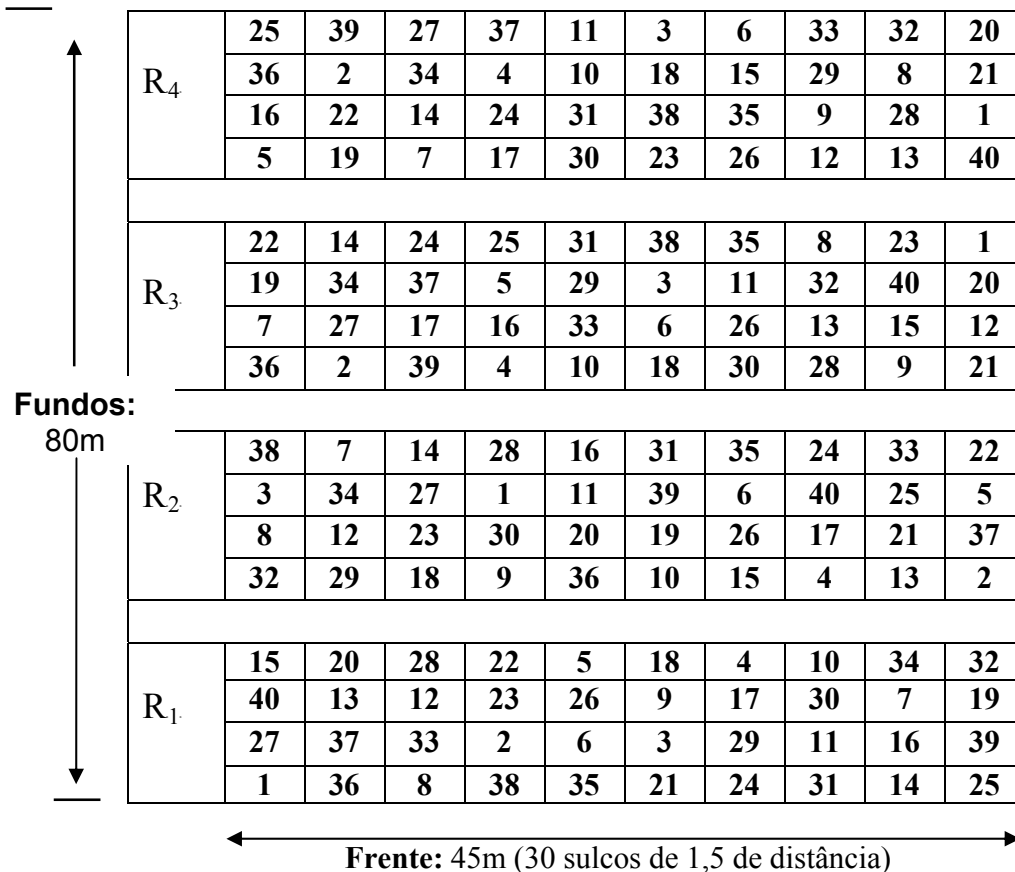
Exp.de RSD

Local: Barra Bonita - SP

Tipo de solo: Argiloso

Data de plantio: 23/11/04

Espaçamento: 1,50 x 0,50 m

*Legenda*

Siglas	Variedades	Tratamentos			
		Controle	$1,0 \times 10^2$ UFC/mL	$1,0 \times 10^4$ UFC/mL	$1,0 \times 10^8$ UFC/mL
RB 01	RB 72 454	01	11	21	31
RB 02	RB 83 5486	02	12	22	32
RB 03	RB 85 5156	03	13	23	33
RB 04	RB 85 5453	04	14	24	34
RB 05	RB 85 5536	05	15	25	35
RB 06	RB 86 7515	06	16	26	36
RB 07	RB 92 8064	07	17	27	37
RB 08	RB 92 5211	08	18	28	38
RB 09	RB 92 5345	09	19	29	39
RB 10	RB 92 5268	10	20	30	40

ANEXO B DIAGNÓSTICOS

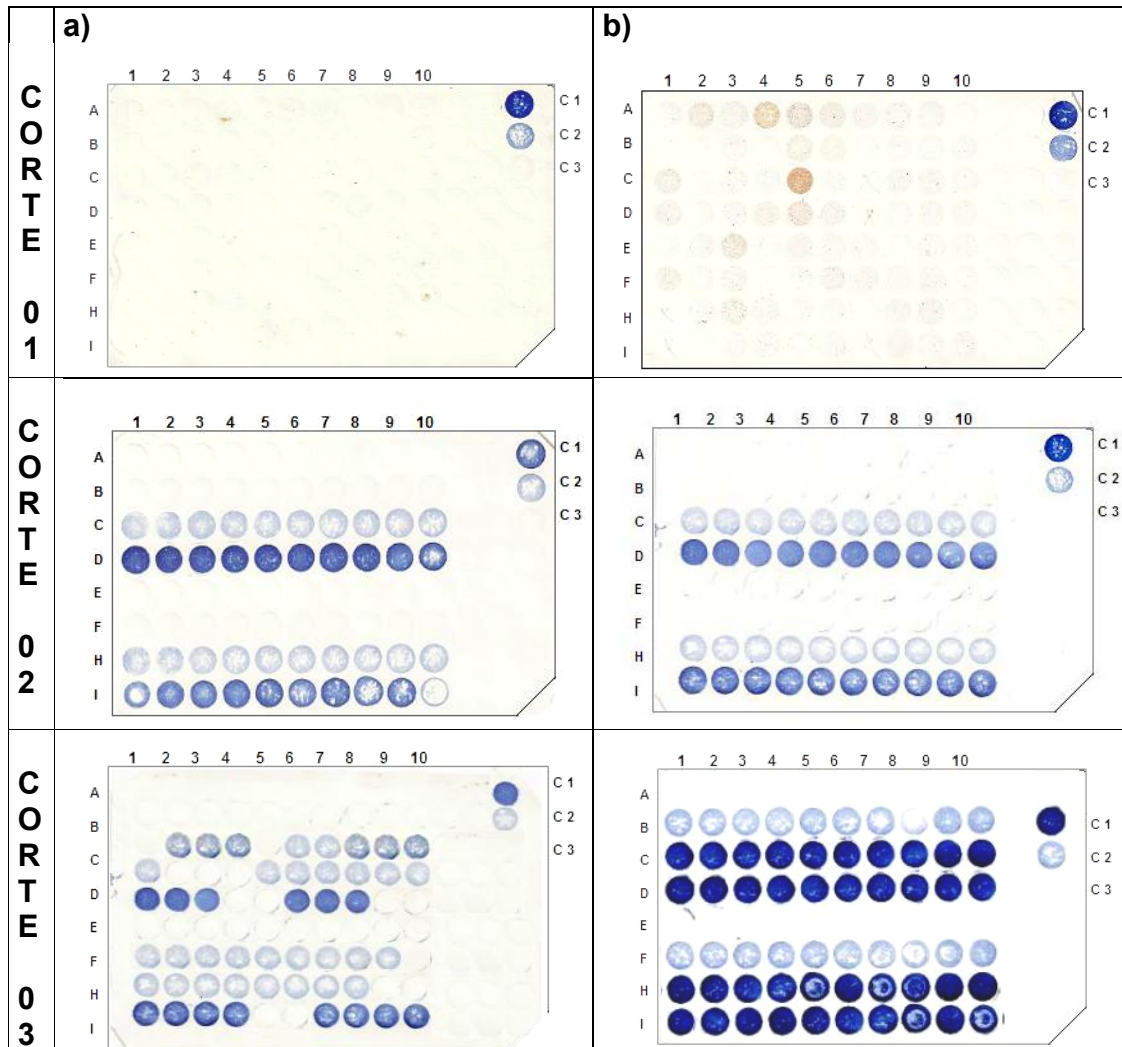


Figura B.1 - Diagnóstico de RSD utilizando a técnica de Dot Blot. Membranas de Nitrocelulose com amostras da variedade RB 01 referente aos anos de 2005, corte 01; 2006, corte 02 e; 2007, corte 03. a) Repetições 1 e 2 e b) Repetições 3 e 4. De 1 a 10, amostras das parcelas. Tratamentos A e E (sem inoculação), B e F (inoculação de 10^2 UFC/mL) C e H (inoculação de 10^4 UFC/mL) e, D e I (inoculação com 10^8 UFC/mL). C1, C2 e C3 controles (10^8 UFC/mL, 10^4 UFC/mL e negativo, respectivamente)

<i>Variedade</i>	<i>Corte</i>	<i>Tratamento</i>	<i>Níveis de Infecção (%)</i>			
			Controle	Baixo	Médio	Alto
RB 01	01	1	100	0	0	0
		2	100	0	0	0
		3	100	0	0	0
		4	100	0	0	0
	02	1	100	0	0	0
		2	100	0	0	0
		3	0	100	0	0
		4	0	0	0	100
	03	1	100	0	0	0
		2	10	90	0	0
		3	12,5	37,5	50	0
		4	15	0	0	85

Quadro B.1 - Resumo do diagnóstico da variedade RB 01 de amostras coletadas nos anos de 2005, 2006 e 2007

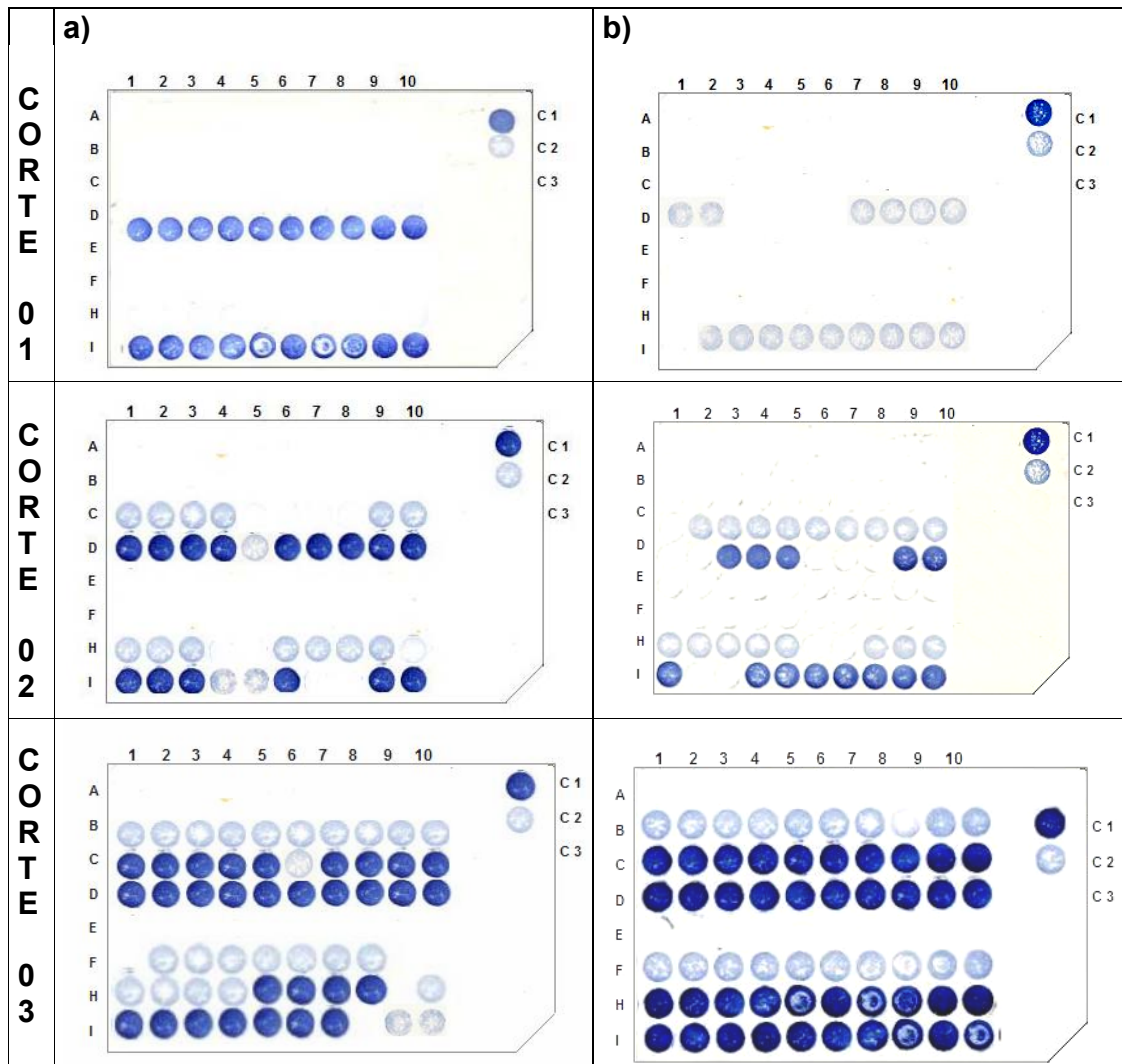


Figura B.2 - Diagnóstico de RSD utilizando a técnica de Dot Blot. Membranas de Nitrocelulose com amostras da variedade RB 02 referente aos anos de 2005, corte 01; 2006, corte 02 e; 2007, corte 03. a) Repetições 1 e 2 e b) Repetições 3 e 4. De 1 a 10, amostras das parcelas. Tratamentos A e E (sem inoculação), B e F (inoculação de 10^2 UFC/mL) C e H (inoculação de 10^4 UFC/mL) e, D e I (inoculação com 10^8 UFC/mL). C1, C2 e C3 controles (10^8 UFC/mL, 10^4 UFC/mL e negativo, respectivamente)

<i>Variedade</i>	<i>Corte</i>	<i>Tratamento</i>	<i>Níveis de Infecção (%)</i>				
			0	Baixo	Médio	Alto	
RB 02			0	Baixo	Médio	Alto	
	01	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	100	0	0	0	
		4	12,5	37,5	0	50	
	02	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	25	60	32,5	17,5	
		4	22,5	0	20	57,5	
	03	1	100	0	0	0	
		2	10	90	0	0	
		3	5	12,5	0	82,5	
		4	2,5	5	0	92,5	

Quadro B.2 - Resumo do diagnóstico da variedade RB 02 de amostras coletadas nos anos de 2005, 2006 e 2007

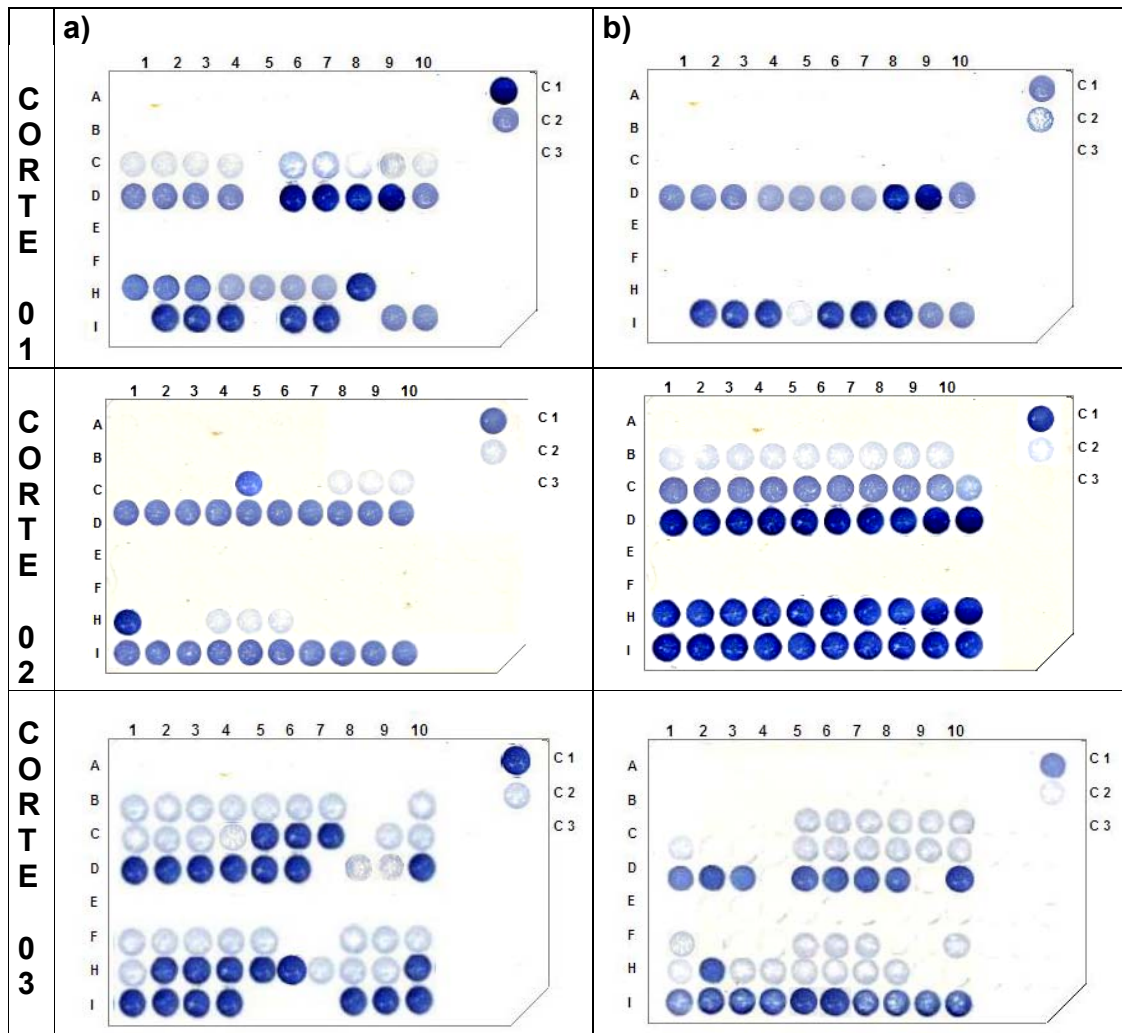


Figura B.3 - Diagnóstico de RSD utilizando a técnica de Dot Blot. Membranas de Nitrocelulose com amostras da variedade RB 03 referente aos anos de 2005, corte 01; 2006, corte 02 e; 2007, corte 03. a) Repetições 1 e 2 e b) Repetições 3 e 4. De 1 a 10, amostras das parcelas. Tratamentos A e E (sem inoculação), B e F (inoculação de 10^2 UFC/mL) C e H (inoculação de 10^4 UFC/mL) e, D e I (inoculação com 10^8 UFC/mL). C1, C2 e C3 controles (10^8 UFC/mL, 10^4 UFC/mL e negativo, respectivamente)

<i>Variedade</i>	<i>Corte</i>	<i>Tratamento</i>	<i>Níveis de Infecção (%)</i>				
			0	Baixo	Médio	Alto	
RB 03	01	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	57,5	32,5	7,5	2,5	
		4	17,5	0	42,5	40	
	02	1	100	0	0	0	
		2	77,5	22,5	0	0	
		3	30	15	0	55	
		4	0	0	0	100	
	03	1	100	0	0	0	
		2	32,5	67,5	0	0	
		3	15	60	0	25	
		4	15	5	0	80	

Quadro B.3 - Resumo do diagnóstico da variedade RB 03 de amostras coletadas nos anos de 2005, 2006 e 2007

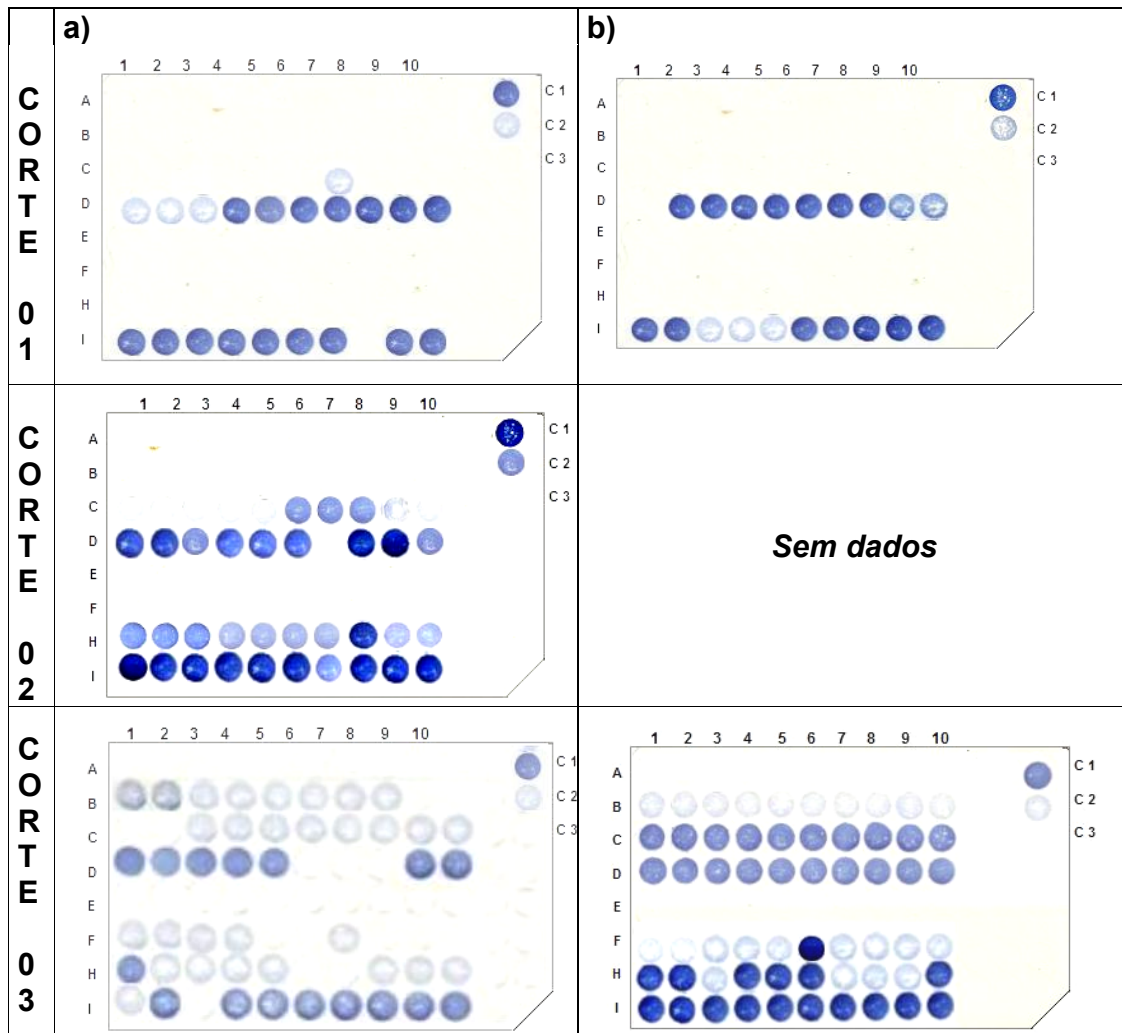


Figura B.4 - Diagnóstico de RSD utilizando a técnica de Dot Blot. Membranas de Nitrocelulose com amostras da variedade RB 04 referente aos anos de 2005 (corte 01), 2006 (corte 02) e, 2007 (corte 03). a) Repetições 1 e 2 e, b) Repetições 3 e 4. De 1 a 10, amostras das parcelas. Tratamentos A e E (testemunha, sem inoculação), B e F (inoculação de 10^2 UFC/mL) C e H (inoculação de 10^4 UFC/mL) e, D e I (inoculação com 10^8 UFC/mL). C1, C2 e C3 controles (10^8 UFC/mL, 10^4 UFC/mL e negativo, respectivamente)

<i>Variedade</i>	<i>Corte</i>	<i>Tratamento</i>	<i>Níveis de Infecção (%)</i>				
			0	Baixo	Médio	Alto	
RB 04	01	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	97,5	2,5	0	0	
		4	5	20	0	75	
	02	1	100	0	0	0	
		2	50	0	0	0	
		3	17,5	0	30	2,5	
		4	2,5	0	15	32,5	
	03	1	100	0	0	0	
		2	22,5	60	15	2,5	
		3	10	47,5	2,5	40	
		4	10	2,5	0	87,5	

Quadro B.4 - Resumo do diagnóstico da variedade RB 04 de amostras coletadas nos anos de 2005, 2006 e 2007

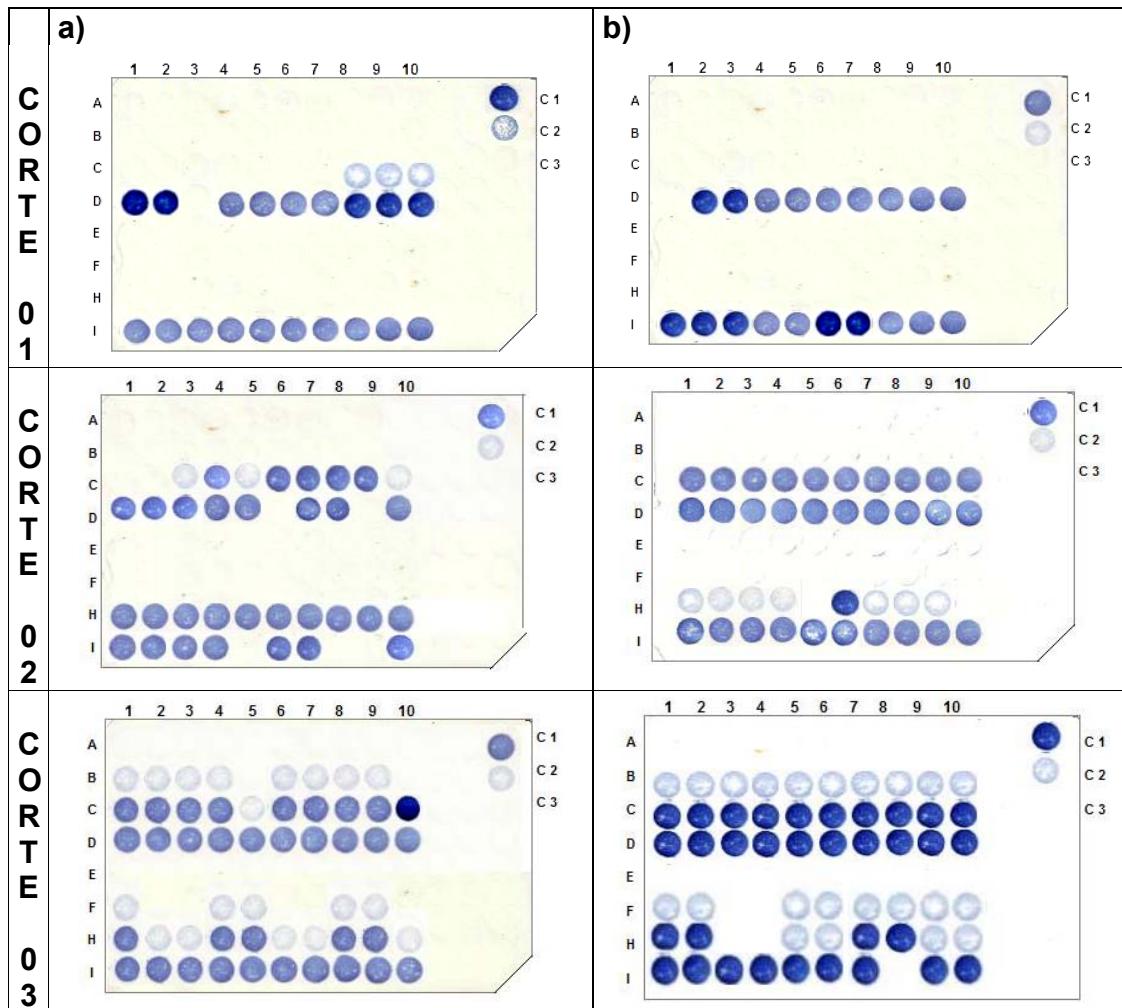


Figura B.5 - Diagnóstico de RSD utilizando a técnica de Dot Blot. Membranas de Nitrocelulose com amostras da variedade RB 05 referente aos anos de 2005, corte 01; 2006, corte 02 e; 2007, corte 03. a) Repetições 1 e 2 e b) Repetições 3 e 4. De 1 a 10, amostras das parcelas. Tratamentos A e E (sem inoculação), B e F (inoculação de 10^2 UFC/mL) C e H (inoculação de 10^4 UFC/mL) e, D e I (inoculação com 10^8 UFC/mL). C1, C2 e C3 controles (10^8 UFC/mL, 10^4 UFC/mL e negativo, respectivamente)

<i>Variedade</i>	<i>Corte</i>	<i>Tratamento</i>	<i>Níveis de Infecção (%)</i>				
			0	Baixo	Médio	Alto	
RB 05	01	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	92,5	7,5	0	0	
		4	5	10	55	30	
	02	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	0	0	100	0	
		4	0	0	0	100	
	03	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	7,5	7,5	82,5	2,5	
		4	12,5	0	0	87,5	

Quadro B.5 - Resumo do diagnóstico da variedade RB 05 de amostras coletadas nos anos de 2005, 2006 e 2007

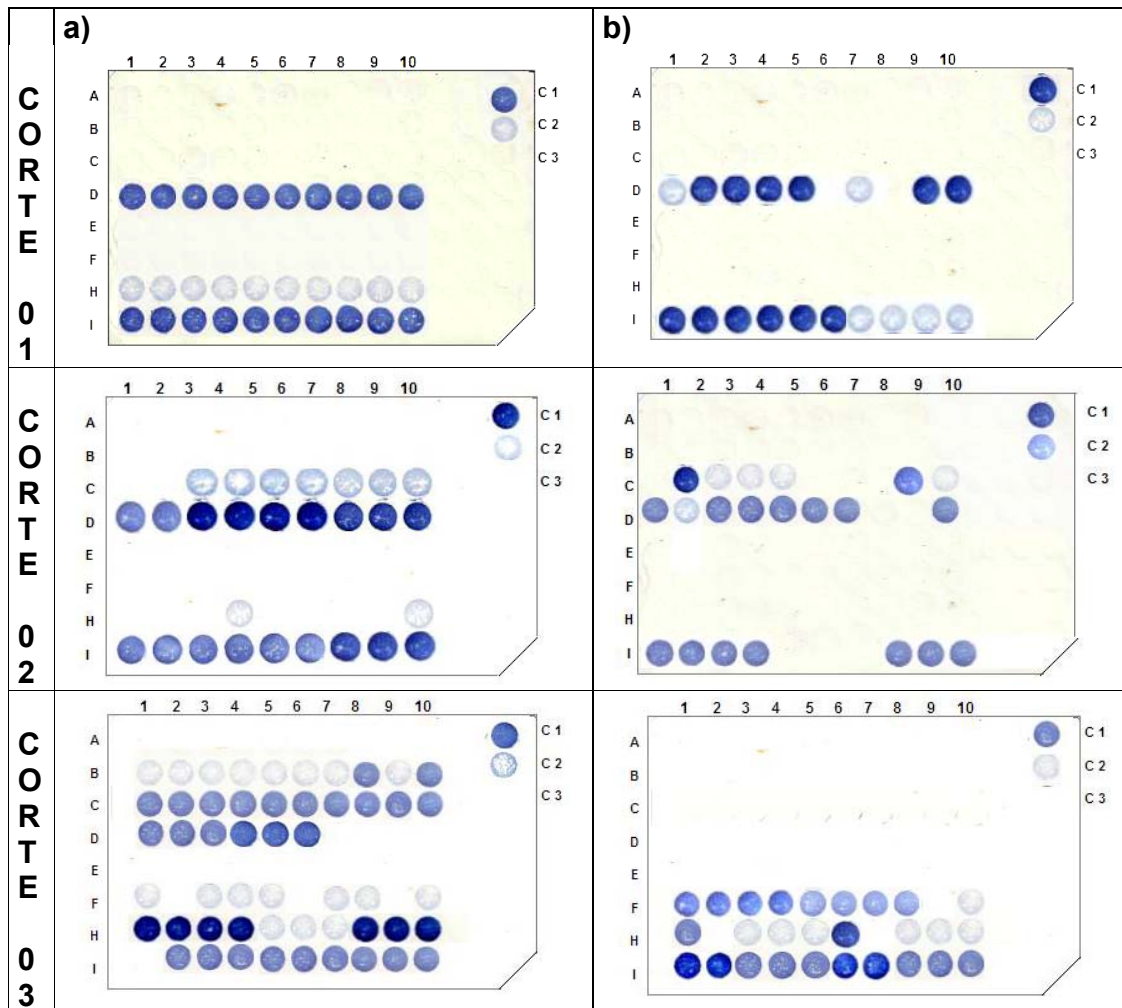


Figura B.6 - Diagnóstico de RSD utilizando a técnica de Dot Blot. Membranas de Nitrocelulose com amostras da variedade RB 06 referente aos anos de 2005, corte 01; 2006, corte 02 e; 2007, corte 03. a) Repetições 1 e 2 e b) Repetições 3 e 4. De 1 a 10, amostras das parcelas. Tratamentos A e E (sem inoculação), B e F (inoculação de 10^2 UFC/mL) C e H (inoculação de 10^4 UFC/mL) e, D e I (inoculação com 10^8 UFC/mL). C1, C2 e C3 controles (10^8 UFC/mL, 10^4 UFC/mL e negativo, respectivamente)

<i>Variedade</i>	<i>Corte</i>	<i>Tratamento</i>	<i>Níveis de Infecção (%)</i>				
			0	Baixo	Médio	Alto	
RB 06			0	Baixo	Médio	Alto	
	01	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	75	25	0	0	
		4	5	15	0	80	
	02	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	62,5	32,5	2,5	2,5	
		4	15	2,5	57,5	25	
	03	1	100	0	0	0	
		2	35	40	25	0	
		3	30	22,5	0	47,5	
		4	40	0	0	60	

Quadro B.6 - Resumo do diagnóstico da variedade RB 06 de amostras coletadas nos anos de 2005, 2006 e 2007

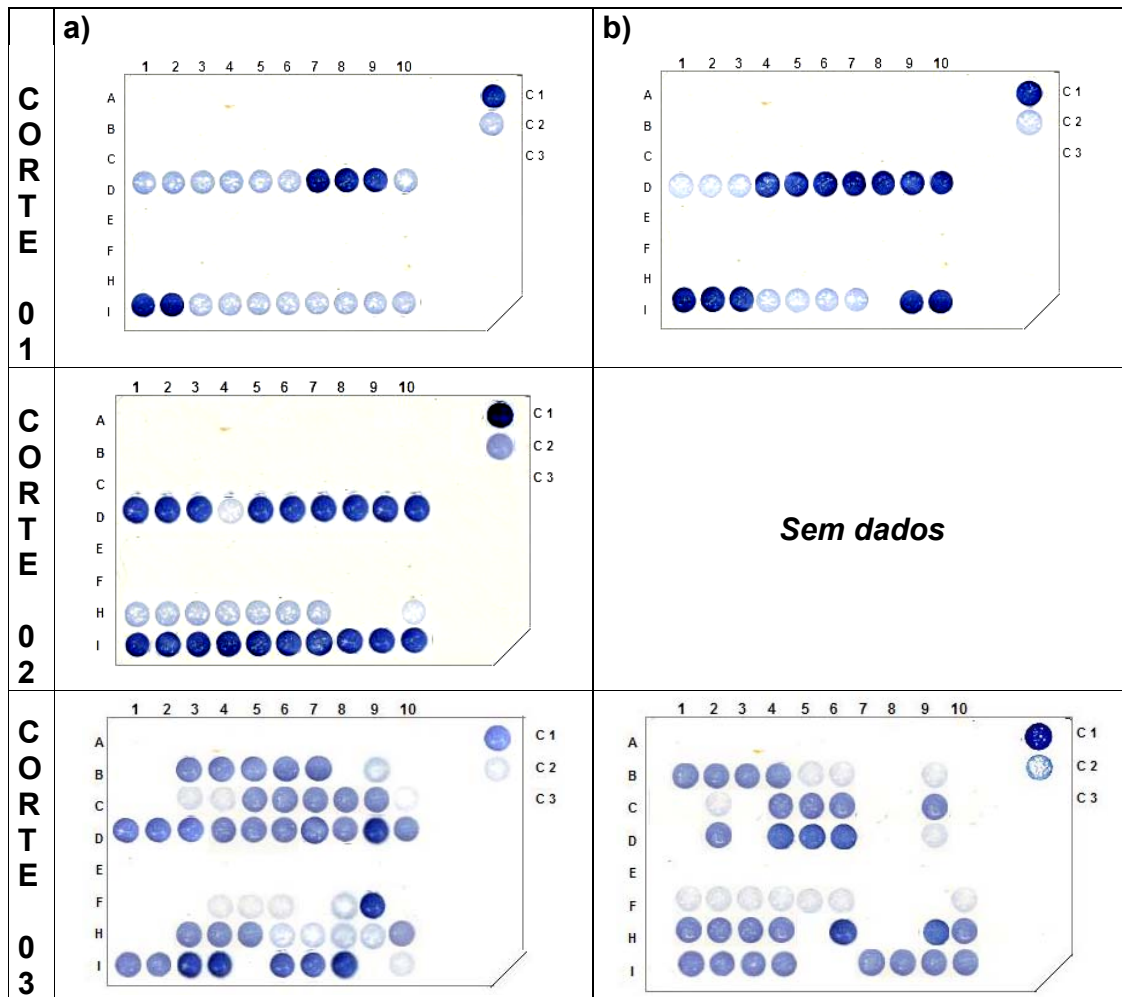


Figura B.7 - Diagnóstico de RSD utilizando a técnica de Dot Blot. Membranas de Nitrocelulose com amostras da variedade RB 07 referente aos anos de 2005, corte 01; 2006, corte 02 e; 2007, corte 03. a) Repetições 1 e 2 e b) Repetições 3 e 4. De 1 a 10, amostras das parcelas. Tratamentos A e E (sem inoculação), B e F (inoculação de 10^2 UFC/mL) C e H (inoculação de 10^4 UFC/mL) e, D e I (inoculação com 10^8 UFC/mL). C1, C2 e C3 controles (10^8 UFC/mL, 10^4 UFC/mL e negativo, respectivamente)

<i>Variedade</i>	<i>Corte</i>	<i>Tratamento</i>	<i>Níveis de Infecção (%)</i>				
			0	Baixo	Médio	Alto	
RB 07			0	Baixo	Médio	Alto	
	01	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	100	0	0	0	
		4	2,5	55	0	42,5	
	02	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	60	40	0	0	
		4	0	0	5	95	
	03	1	100	0	0	0	
		2	37,5	37,5	0	25	
		3	32,5	17,5	32,5	17,5	
		4	25	2,5	57,5	15	

Quadro B.7 - Resumo do diagnóstico da variedade RB 07 de amostras coletadas nos anos de 2005, 2006 e 2007

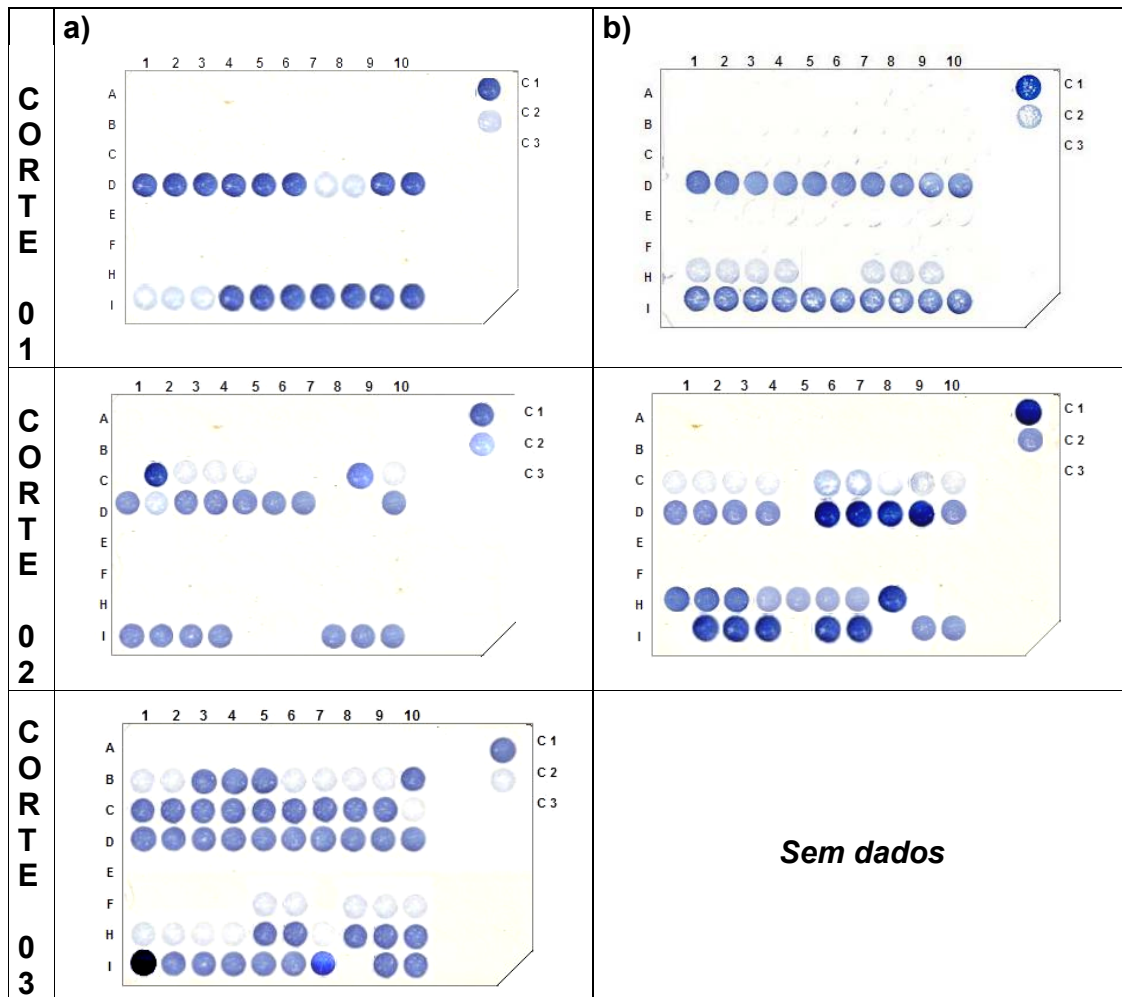


Figura B.8 - Diagnóstico de RSD utilizando a técnica de Dot Blot. Membranas de Nitrocelulose com amostras da variedade RB 08 referente aos anos de 2005, corte 01; 2006, corte 02 e; 2007, corte 03. a) Repetições 1 e 2 e b) Repetições 3 e 4. De 1 a 10, amostras das parcelas. Tratamentos A e E (sem inoculação), B e F (inoculação de 10^2 UFC/mL) C e H (inoculação de 10^4 UFC/mL) e, D e I (inoculação com 10^8 UFC/mL). C1, C2 e C3 controles (10^8 UFC/mL, 10^4 UFC/mL e negativo, respectivamente)

<i>Variedade</i>	<i>Corte</i>	<i>Tratamento</i>	<i>Níveis de Infecção (%)</i>				
RB 08			0	Baixo	Médio	Alto	
	01	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	82,5	17,5	0	0	
		4	0	12,5	25	62,5	
	02	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	45	17,5	25	12,5	
		4	25	0	52,5	22,5	
	03	1	100	0	0	0	
		2	2	50	0	20	
		3	30	0	0	70	
		4	5	0	90	5	

Quadro B.8 - Resumo do diagnóstico da variedade RB 08 de amostras coletadas nos anos de 2005, 2006 e 2007

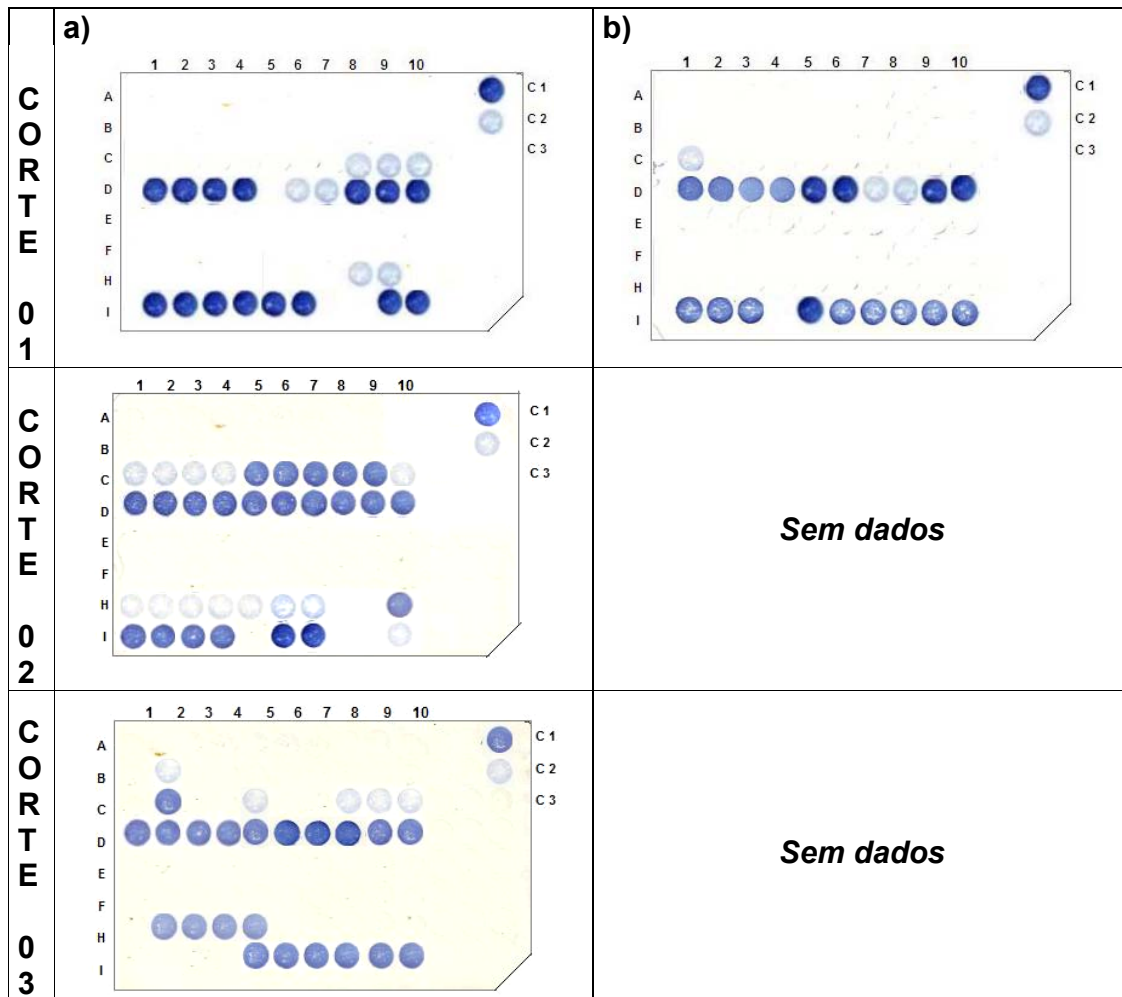


Figura B.9 - Diagnóstico de RSD utilizando a técnica de Dot Blot. Membranas de Nitrocelulose com amostras da variedade RB 09 referente aos anos de 2005, corte 01; 2006, corte 02 e; 2007, corte 03. a) Repetições 1 e 2 e b) Repetições 3 e 4. De 1 a 10, amostras das parcelas. Tratamentos A e E (sem inoculação), B e F (inoculação de 10^2 UFC/mL) C e H (inoculação de 10^4 UFC/mL) e, D e I (inoculação com 10^8 UFC/mL). C1, C2 e C3 controles (10^8 UFC/mL, 10^4 UFC/mL e negativo, respectivamente)

<i>Variedade</i>	<i>Corte</i>	<i>Tratamento</i>	<i>Níveis de Infecção (%)</i>				
			0	Baixo	Médio	Alto	
RB 09			0	Baixo	Médio	Alto	
	01	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	85	15	0	0	
		4	7,5	5	10	50	
	02	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	10	60	30	0	
		4	0	0	0	100	
	03	1	100	0	0	0	
		2	45	55	0	0	
		3	55	0	40	5	
		4	20	0	0	80	

Quadro B.9 - Resumo do diagnóstico da variedade RB 09 de amostras coletadas nos anos de 2005, 2006 e 2007

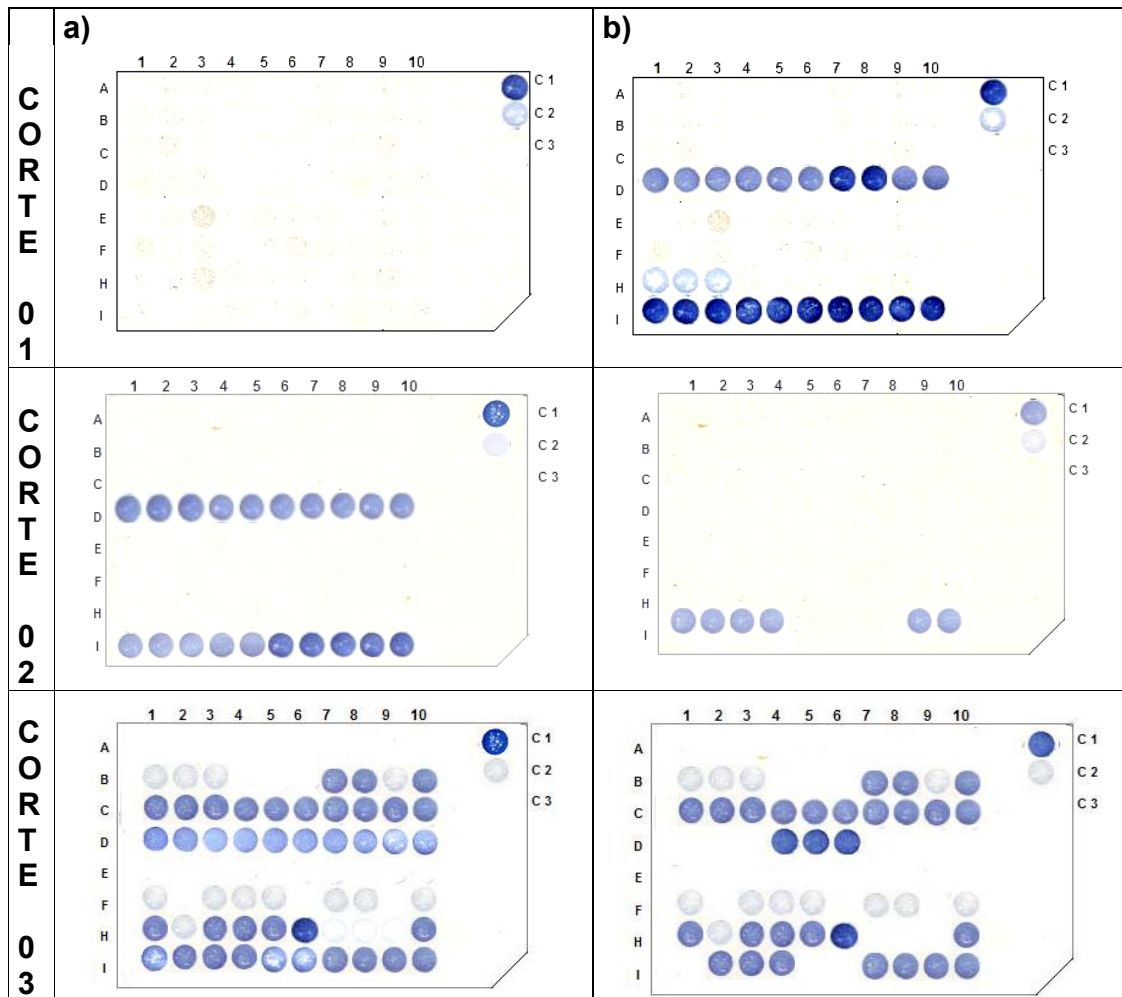


Figura B.10 - Diagnóstico de RSD utilizando a técnica de Dot Blot. Membranas de Nitrocelulose com amostras da variedade RB 10 referente aos anos de 2005, corte 01; 2006, corte 02 e; 2007, corte 03. a) Repetições 1 e 2 e b) Repetições 3 e 4. De 1 a 10, amostras das parcelas. Tratamentos A e E (sem inoculação), B e F (inoculação de 10^2 UFC/mL) C e H (inoculação de 10^4 UFC/mL) e, D e I (inoculação com 10^8 UFC/mL). C1, C2 e C3 controles (10^8 UFC/mL, 10^4 UFC/mL e negativo, respectivamente)

<i>Variedade</i>	<i>Corte</i>	<i>Tratamento</i>	<i>Níveis de Infecção (%)</i>				
			0	Baixo	Médio	Alto	
RB 10			0	Baixo	Médio	Alto	
	01	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	92,5	7,5	0	0	
		4	50	0	20	30	
	02	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	100	0	0	0	
		4	35	0	65	0	
	03	1	100	0	0	0	
		2	30	55	15	0	
		3	15	2,5	55	27,5	
		4	25	0	0	75	

Quadro B.10 - Resumo do diagnóstico da variedade RB 10 de amostras coletadas nos anos de 2005, 2006 e 2007

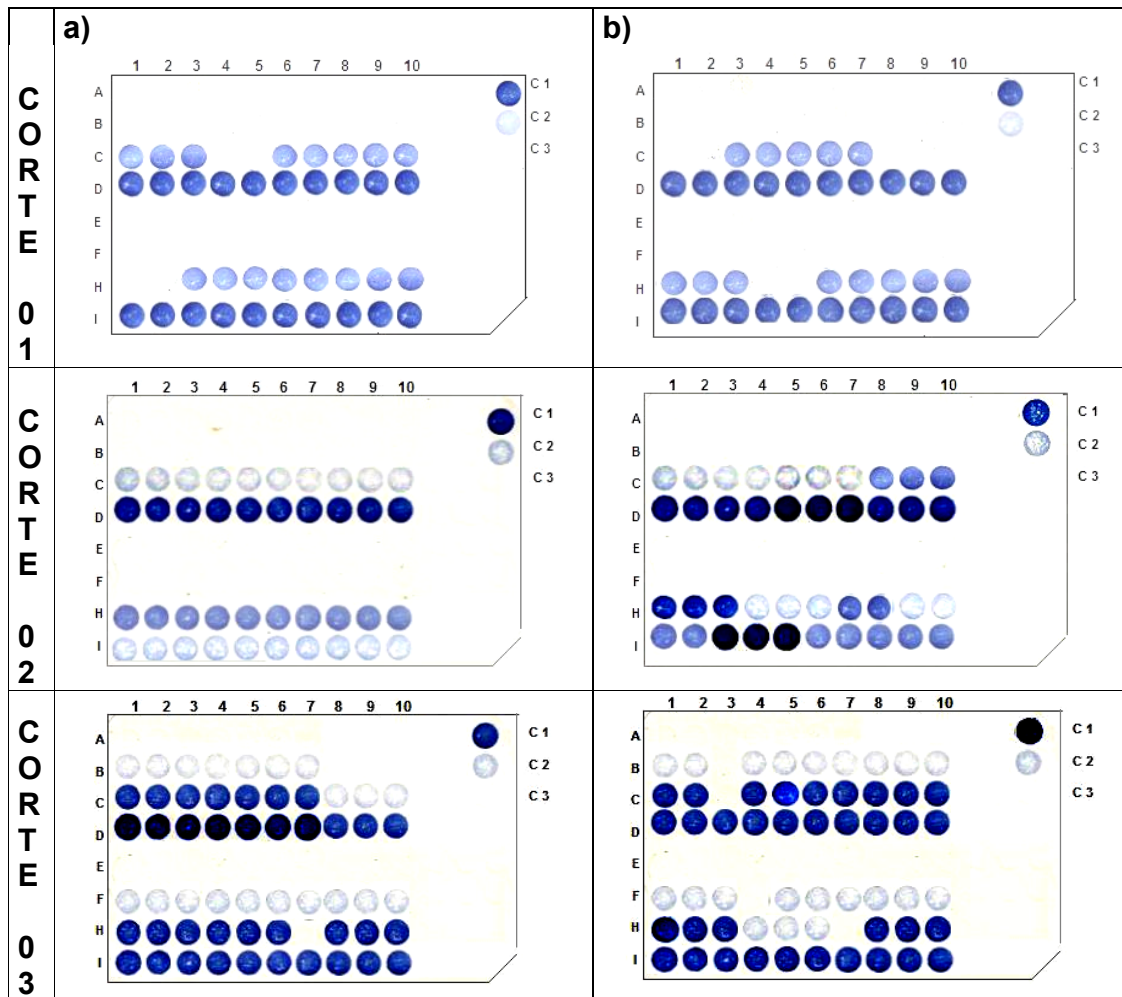


Figura B.11 - Diagnóstico de RSD utilizando a técnica de Dot Blot. Membranas de Nitrocelulose com amostras da variedade CB 49-260 (controle) referente aos anos de 2005, corte 01; 2006, corte 02 e; 2007, corte 03. a) Repetições 1 e 2 e b) Repetições 3 e 4. De 1 a 10, amostras das parcelas. Tratamentos A e E (sem inoculação), B e F (inoculação de 10^2 UFC/mL) C e H (inoculação de 10^4 UFC/mL) e, D e I (inoculação com 10^8 UFC/mL). C1, C2 e C3 controles (10^8 UFC/mL, 10^4 UFC/mL e negativo, respectivamente)

<i>Variedade</i>	<i>Corte</i>	<i>Tratamento</i>	<i>Níveis de Infecção (%)</i>				
			0	Baixo	Médio	Alto	
CB 01	01	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	27,5	0	72,5	0	
		4	0	0	0	100	
	02	1	100	0	0	0	
		2	100	0	0	0	
		3	0	25	55	20	
		4	0	25	17,5	57,5	
	03	1	100	0	0	0	
		2	10	90	0	0	
		3	15	7,5	77,5	0	
		4	0	0	0	100	

Quadro B.11 - Resumo do diagnóstico da variedade CB 01 de amostras coletadas nos anos de 2005, 2006 e 2007

ANEXO C ANÁLISE TECNOLÓGICA

Tabela C.1 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Peso, Brix, Pol%Cana e Fibra e resumo da análise de variância do experimento da Variedade RB 01.⁽¹⁾

Tratamentos	<i>Corte 01</i>				<i>Corte 02</i>				<i>Corte 03</i>			
	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)
	<i>médias</i>											
Controle	225,00a	22,15a	19,70a	12,31b	225,00a	17,81ab	14,99ab	14,89a	301,25a	17,33a	14,16a	11,31a
Baixo	288,75a	22,99a	20,93a	13,55a	288,75a	16,92b	13,99b	14,63a	278,75a	17,13a	13,89a	11,48a
Médio	230,50a	23,02a	20,73b	11,99b	230,50a	19,47a	16,65a	14,70a	186,25a	17,98a	14,96a	11,09a
Alto	224,75a	22,53a	20,15ab	12,66b	224,75a	19,44a	16,58a	15,23a	210,50a	15,88a	13,15a	10,72a
F.....	1,72 ^{ns}	2,91 ^{ns}	5,78**	5,44**	1,72 ^{ns}	9,77**	8,55*	0,57 ^{ns}	2,89 ^{ns}	1,50 ^{ns}	1,35 ^{ns}	0,84 ^{ns}
Tukey 5%).	99,6	1,02	0,98	1,21	99,60	1,70	1,85	1,48	134,90	3,02	2,71	1,50
CV (%).	19,58	2,14	2,28	4,56	19,58	4,39	5,68	4,75	26,31	8,41	9,18	6,40

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Tabela C.2 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Peso, Brix, Pol%Cana e Fibra e resumo da análise de variância do experimento da Variedade RB 02⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>				<i>Corte 02</i>				<i>Corte 03</i>			
	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)
	<i>médias</i>											
Controle	207,50a	21,87b	19,23b	12,90a	207,50a	18,07ab	15,07ab	15,05a	246,25a	17,48a	14,28a	11,34a
Baixo	211,25a	21,77b	19,26b	12,40a	211,25a	17,66ab	14,64ab	13,71a	238,75a	16,90a	13,71a	11,55a
Médio	171,25a	21,58b	19,03b	12,98a	156,25a	16,81b	13,59b	14,48a	262,50a	18,28a	15,16a	11,19a
Alto	180,00a	23,10a	20,98a	12,44a	180,00a	19,29a	16,63a	14,76a	261,25a	17,43a	14,25a	11,56a
F.....	1,86 ^{ns}	7,96**	10,08**	1,49 ^{ns}	2,99 ^{ns}	4,18**	5,25**	2,97 ^{ns}	0,72 ^{ns}	0,55 ^{ns}	0,48 ^{ns}	0,63 ^{ns}
Tukey 5%).	61,26	1,03	1,20	1,05	62,60	2,12	2,32	1,40	57,45	3,23	3,63	0,94
CV (%)......	15,15	2,22	2,91	3,95	15,79	5,63	7,36	4,61	10,85	8,77	12,04	3,93

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Tabela C.3 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Peso, Brix, Pol%Cana e Fibra e resumo da análise de variância do experimento da Variedade RB 03⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>				<i>Corte 02</i>				<i>Corte 03</i>			
	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)
	<i>médias</i>											
Controle	238,75a	23,70a	21,42a	13,69a	238,75a	17,85a	15,18a	16,36a	248,75a	18,23a	15,26a	11,11a
Baixo	275,00a	20,05c	17,22c	11,78c	275,00a	16,30a	12,99a	14,26b	288,75a	17,80a	14,47a	11,53a
Médio	248,75a	22,02b	19,48b	12,28bc	248,75a	17,35a	14,16a	14,49b	250,00a	18,28a	15,21a	11,17a
Alto	258,75a	22,64ab	20,52ab	13,17ab	258,75a	17,09a	14,07a	15,08ab	242,50a	17,90a	14,87a	11,18a
F.....	0,72 ^{ns}	32,01**	28,00**	10,11**	0,72 ^{ns}	1,22 ^{ns}	1,71	5,54**	1,08 ^{ns}	0,25 ^{ns}	0,52 ^{ns}	2,09
Tukey 5%).	76,46	1,14	1,43	1,14	76,46	2,45	2,88	1,68	85,33	1,98	2,16	0,56
CV (%).	14,26	2,45	3,47	4,25	14,26	6,81	9,71	5,33	15,78	5,24	6,87	2,36

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Tabela C.4 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Peso, Brix, Pol%Cana e Fibra e resumo da análise de variância do experimento da Variedade RB 04.⁽¹⁾

Tratamentos	<i>Corte 01</i>				<i>Corte 02</i>				<i>Corte 03</i>			
	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)
	<i>médias</i>											
Controle	261,25a	22,89a	20,10ab	12,80a	261,25a	18,97a	16,01a	14,41ab	256,25a	17,95a	14,89a	11,50a
Baixo	250,00a	22,49ab	20,35a	13,02a	250,00a	18,86ab	15,81a	15,68a	245,00a	18,38a	15,66a	11,39a
Médio	251,25a	21,99b	19,30b	12,20a	251,25a	17,19bc	14,26ab	14,40ab	267,50a	18,38a	15,21a	11,44a
Alto	247,50a	22,17ab	19,56ab	12,92a	247,50a	17,01c	13,96b	13,38b	261,25a	17,63a	14,16a	11,30a
F.....	0,34 ^{ns}	4,68**	5,13**	0,76 ^{ns}	0,34 ^{ns}	6,34**	6,12**	6,23**	0,97 ^{ns}	0,46 ^{ns}	1,17 ^{ns}	0,12 ^{ns}
Tukey 5%).	43,77	0,77	0,89	1,76	43,77	1,75	1,78	1,59	40,50	2,27	2,44	1,03
CV (%)......	8,25	1,64	2,14	6,60	8,25	4,63	5,66	5,22	7,49	5,97	7,75	4,29

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Tabela C.5 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Peso, Brix, Pol%Cana e Fibra e resumo da análise de variância do experimento da Variedade RB 05⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>				<i>Corte 02</i>				<i>Corte 03</i>			
	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)
	<i>médias</i>											
Controle	286,25a	21,11b	18,68b	12,66b	286,25a	17,02ab	13,8b	14,02a	298,75a	18,30a	15,19a	11,43ab
Baixo	301,25a	22,13ab	19,97ab	11,89b	301,25a	18,41a	15,77a	14,84a	318,75a	18,25a	15,20a	11,00b
Médio	245,00a	23,49a	21,27a	13,82a	245,00a	18,17a	15,21ab	15,70a	333,75a	17,90a	14,88a	11,84a
Alto	287,50a	21,09b	18,40b	12,51b	265,00a	16,17b	12,90c	13,99a	285,00a	17,23a	14,17a	11,63ab
F.....	0,76 ^{ns}	5,09**	6,27**	11,07**	0,65 ^{ns}	8,37**	11,69**	3,32 ^{ns}	1,79 ^{ns}	1,08 ^{ns}	0,77 ^{ns}	4,98**
Tukey 5%).	117,10	2,11	2,21	1,02	128,22	1,52	1,61	1,86	67,52	2,00	2,31	0,68
CV (%)......	19,91	4,58	5,38	3,80	22,25	4,14	5,30	6,05	10,40	5,32	7,40	2,81

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Tabela C.6 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Peso, Brix, Pol%Cana e Fibra e resumo da análise de variância do experimento da Variedade RB 06⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>				<i>Corte 02</i>				<i>Corte 03</i>			
	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)
	<i>médias</i>											
Controle	280,00a	21,52c	18,98c	13,03ab	300,00a	17,44bc	14,23bc	13,81b	265,00a	17,90a	15,12a	10,86a
Baixo	250,00a	23,42a	21,34a	13,77a	250,00a	16,62c	13,40c	15,25a	253,75a	18,10a	15,04a	11,46a
Médio	275,00a	23,17a	20,95a	12,07b	268,75a	19,56a	16,94a	15,20a	273,75a	18,33a	15,19a	11,35a
Alto	243,75a	22,32b	19,97b	13,21ab	243,75a	18,87ab	16,04ab	15,46a	237,50a	17,65a	14,55a	11,24a
F.....	0,97 ^{ns}	27,30**	29,07**	4,81 ^{ns}	2,91 ^{ns}	8,92**	8,03**	6,40**	0,95 ^{ns}	0,29 ^{ns}	0,24 ^{ns}	1,15 ^{ns}
Tukey 5%).	76,49	0,70	0,82	1,36	62,23	1,88	2,41	1,25	67,54	2,23	2,48	1,02
CV (%).....	13,89	1,46	1,93	4,96	11,16	4,93	7,56	4,00	12,49	5,91	7,90	4,32

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Tabela C.7 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Peso, Brix, Pol%Cana e Fibra e resumo da análise de variância do experimento da Variedade RB 07⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>				<i>Corte 02</i>				<i>Corte 03</i>			
	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)
	<i>médias</i>											
Controle	288,75ab	22,19a	19,62ab	12,58a	289,00ab	16,79ab	13,71ab	13,82b	251,25a	16,88a	13,86a	11,16a
Baixo	310,00a	21,75a	19,37ab	12,27a	310,00a	16,64ab	13,47ab	14,44ab	230,00a	17,63a	14,60a	11,40a
Médio	215,00c	19,46a	17,43b	11,16a	217,50c	16,02b	12,73b	13,91b	281,50a	17,50a	14,42a	11,01a
Alto	235,00bc	22,86a	20,94a	11,36a	229,00bc	18,67a	16,13a	15,01a	246,50a	18,60a	15,49a	11,22a
F.....	8,50**	2,62 ^{ns}	3,68**	1,90 ^{ns}	8,18**	4,69**	5,39**	4,54**	1,97 ^{ns}	2,78 ^{ns}	2,38 ^{ns}	0,89 ^{ns}
Tukey 5%).	64,21	3,83	3,17	2,10	64,14	2,22	2,67	1,08	64,26	1,80	1,84	0,72
CV (%).....	11,66	8,46	7,80	8,44	11,62	6,20	9,07	3,61	12,13	4,84	6,01	3,06

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Tabela C.8 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Peso, Brix, Pol%Cana e Fibra e resumo da análise de variância do experimento da Variedade RB 08⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>				<i>Corte 02</i>				<i>Corte 03</i>			
	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)
	<i>médias</i>											
Controle	292,50a	23,13a	20,82a	13,62a	292,50a	18,19a	15,70a	16,08a	236,25a	18,03a	14,96a	11,31a
Baixo	263,75a	20,64c	18,01c	12,42bc	263,75a	16,01a	12,73b	14,65ab	230,00a	17,90a	14,81a	11,40a
Médio	295,00a	21,80b	19,52b	12,06c	316,25a	17,55a	14,49ab	15,27ab	278,75a	18,80a	15,69a	11,22a
Alto	270,00a	22,79ab	20,57a	13,23ab	270,00a	16,41a	13,30ab	13,92b	261,25a	18,05a	15,05a	11,68a
F.....	0,53 ^{ns}	20,81**	27,79**	8,18**	1,26 ^{ns}	2,45 ^{ns}	4,31**	6,01**	1,74 ^{ns}	0,50 ^{ns}	0,39 ^{ns}	1,33 ^{ns}
Tukey 5%).	90,51	1,03	1,02	1,06	89,43	2,70	2,67	1,57	71,87	2,43	2,61	0,72
CV (%).....	15,38	2,22	2,46	3,92	14,91	7,55	9,04	5,00	13,60	6,37	8,21	3,03

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Tabela C.9 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Peso, Brix, Pol%Cana e Fibra e resumo da análise de variância do experimento da Variedade RB 09⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>				<i>Corte 02</i>				<i>Corte 03</i>			
	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)
	<i>médias</i>											
Controle	295,00a	22,80a	20,60a	11,93a	295,00a	18,18a	15,14a	14,39a	272,50a	18,65a	15,58a	11,61a
Baixo	258,75a	22,50ab	20,12ab	12,41a	258,75a	18,88a	15,92a	14,69a	267,50a	17,38a	14,22a	11,41a
Médio	295,00a	22,03ab	19,40b	12,50a	295,00a	17,22a	14,16a	14,80a	311,25a	18,00a	15,01a	11,51a
Alto	257,50a	21,48b	18,96b	13,02a	257,50a	16,62a	13,52a	13,98a	322,50a	18,58a	15,43a	12,17a
F.....	1,27 ^{ns}	5,44**	6,70**	2,73 ^{ns}	1,27 ^{ns}	2,02 ^{ns}	2,03 ^{ns}	0,70 ^{ns}	3,64 ^{ns}	1,20 ^{ns}	0,84 ^{ns}	0,93 ^{ns}
Tukey 5%).	79,49	1,04	1,19	1,13	79,49	2,96	3,11	1,85	60,60	2,28	2,79	1,48
CV (%).....	13,69	2,23	2,87	4,33	13,69	7,95	10,09	6,09	9,83	5,97	8,83	6,05

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Tabela C.10 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Peso, Brix, Pol%Cana e Fibra e resumo da análise de variância do experimento da Variedade RB 10⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>				<i>Corte 02</i>				<i>Corte 03</i>			
	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)
	<i>médias</i>											
Controle	306,25a	18,96b	16,96b	11,24b	320,00a	16,63b	13,48b	13,27b	303,75a	17,70a	14,56a	11,44a
Baixo	247,50a	22,91a	20,83a	12,20ab	247,50a	18,96a	16,41a	14,81b	297,50a	17,20a	14,03a	11,18a
Médio	321,25a	23,22a	20,87a	13,61a	321,25a	18,24a	15,17a	16,64a	306,25a	17,65a	14,49a	11,32a
Alto	281,25a	21,35ab	18,71a	12,46ab	281,25a	15,93b	12,71b	14,79b	286,25a	16,73a	13,54a	11,29a
F.....	1,94 ^{ns}	4,91**	6,21**	3,68**	2,26 ^{ns}	16,11*	18,84**	12,75**	0,17 ^{ns}	0,49 ^{ns}	0,46 ^{ns}	0,26 ^{ns}
Tukey 5%).	97,15	3,69	3,17	2,14	98,52	1,47	1,61	1,62	91,40	2,73	2,94	0,90
CV (%).....	16,00	8,13	7,80	8,22	16,04	4,00	5,32	5,19	14,58	7,50	9,91	3,77

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

Tabela C.11 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Peso, Brix, Pol%Cana e Fibra e resumo da análise de variância do experimento da Variedade CB 49-260⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>				<i>Corte 02</i>				<i>Corte 03</i>			
	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)	<i>Peso</i> (kg)	<i>Brix</i> (%)	<i>Pol %</i> <i>Cana</i>	<i>Fibra</i> (%)
	<i>médias</i>											
Controle	347,80a	21,65a	20,23a	14,62a	393,92a	22,65a	20,92a	15,50a	304,25a	16,95a	13,21a	14,54a
Baixo	340,85a	21,68a	20,21a	13,98a	316,66ab	20,55b	18,42b	12,62b	287,50a	15,50b	11,08b	9,00b
Médio	257,65ab	21,95a	20,37a	14,81a	285,13ab	21,50ab	19,46ab	13,70ab	229,75ab	14,55b	10,30b	8,30b
Alto	181,75b	21,33a	19,93a	14,22a	181,87b	20,28b	18,20b	12,61ab	202,00b	12,63c	9,60b	7,43c
F.....	9,32**	0,50 ^{ns}	0,28 ^{ns}	0,73 ^{ns}	6,08**	4,71**	3,77**	4,39**	6,65**	43,02**	18,91**	48,78**
Tukey 5%).	107,87	0,72	1,46	1,85	149,66	2,08	2,68	2,73	78,25	1,16	1,51	0,79
CV (%).....	18,21	3,29	3,44	6,12	24,21	4,66	6,63	9,55	14,56	3,71	6,51	4,24

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

ANEXO D ANÁLISE BIOMÉTRICA

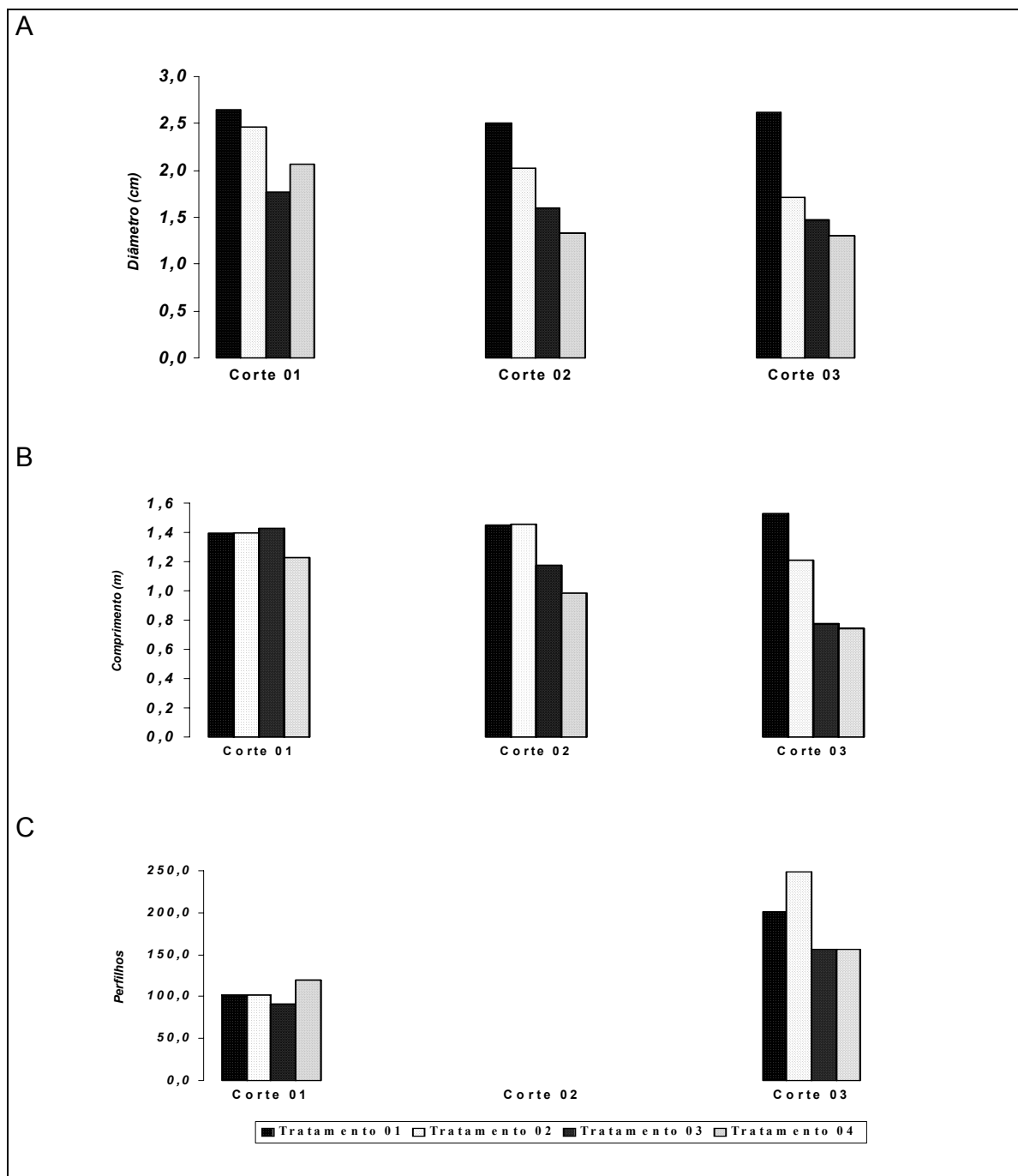


Figura D.1 - Diâmetro médio (A), altura média (B) e número médio de perfilhos (C) da Variedade RB 01. Corte 01 realizado em 2005, Corte 02 em 2006 e Corte 03 em 2007. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 UFC/mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 UFC/mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 UFC/mL

Tabela D.1 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Diâmetro do colmo, Altura média da planta e Número de Perfilhos da parcela da Variedade RB 01⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>			<i>Corte 02</i>			<i>Corte 03</i>		
	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>
	<i>médias</i>								
Controle	2,65a	1,39a	101,75a	2,50a	1,45a	S.D	2,62a	1,53a	201,75a
Baixo	2,46ab	1,40a	102,50a	2,03ab	1,46a	S.D	1,71b	1,21a	249,25a
Médio	1,78c	1,43a	90,75a	1,60b	1,18ab	S.D	1,48b	0,78b	156,50a
Alto	2,06b	1,23a	119,00a	1,33b	0,98b	S.D	1,30b	0,74b	156,50a
F.....	10,01**	0,87 ^{ns}	0,34 ^{ns}	6,97**	4,73**	-	22,07**	20,55**	2,81 ^{ns}
Tukey (5%).	0,52	0,41	84,47	0,82	0,44	-	0,52	0,35	110,94
CV (%).....	11,09	14,30	38,86	20,88	16,62	-	14,08	15,57	27,66

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

S.D – Sem Dados

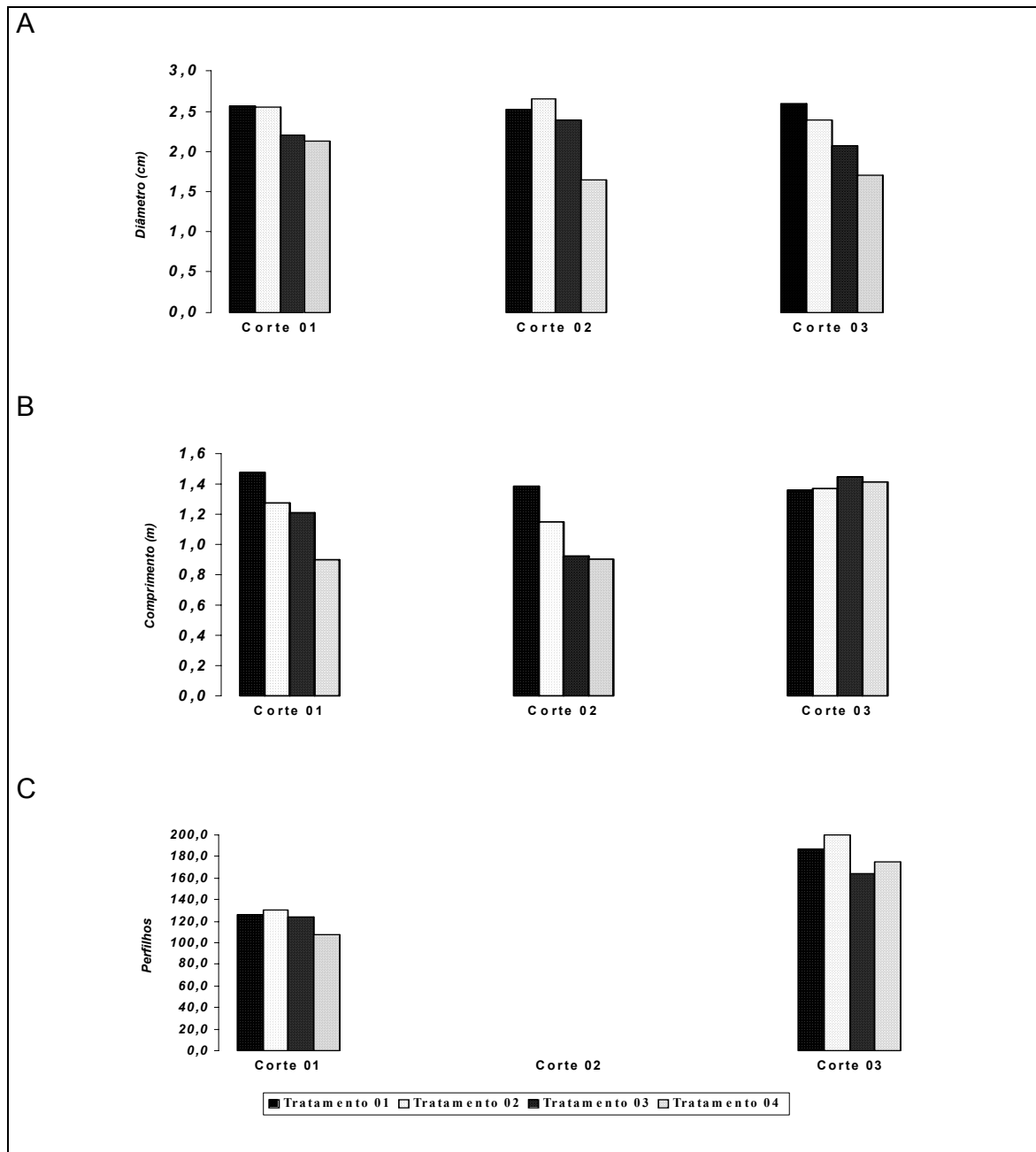


Figura D.2 - Diâmetro médio (A), altura média (B) e número médio de perfis (C) da Variedade RB 02. Corte 01 realizado em 2005, Corte 02 em 2006 e Corte 03 em 2007. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 UFC/mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 UFC/mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 UFC/mL

Tabela D.2 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Diâmetro do colmo, Altura média da planta e Número de Perfilhos da parcela da Variedade RB 02⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>			<i>Corte 02</i>			<i>Corte 03</i>		
	<i>Diâmetro</i> (<i>cm</i>)	<i>Altura</i> (<i>m</i>)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (<i>cm</i>)	<i>Altura</i> (<i>m</i>)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (<i>cm</i>)	<i>Altura</i> (<i>m</i>)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>
	<i>médias</i>								
Controle	2,57a	1,48a	126,00a	2,53a	1,38a	S.D.	2,60a	1,36a	186,50a
Baixo	2,55a	1,28ab	130,00a	2,65a	1,15ab	S.D.	2,40ab	1,37a	200,00a
Médio	2,20b	1,21b	124,00a	2,40a	0,92b	S.D.	2,08bc	1,45a	163,75a
Alto	2,13b	0,90c	108,00a	1,65b	0,90b	S.D.	1,70c	1,41a	174,75a
F.....	19,04**	16,70**	0,28 ^{ns}	6,51**	8,55**	-	11,50**	0,16 ^{ns}	0,69 ^{ns}
Tukey (5%).	0,22	0,25	76,50	0,74	0,32	-	0,49	0,42	78,87
CV (%)......	4,44	9,62	29,86	15,27	14,15	-	10,56	14,36	20,72

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

S.D – Sem Dados

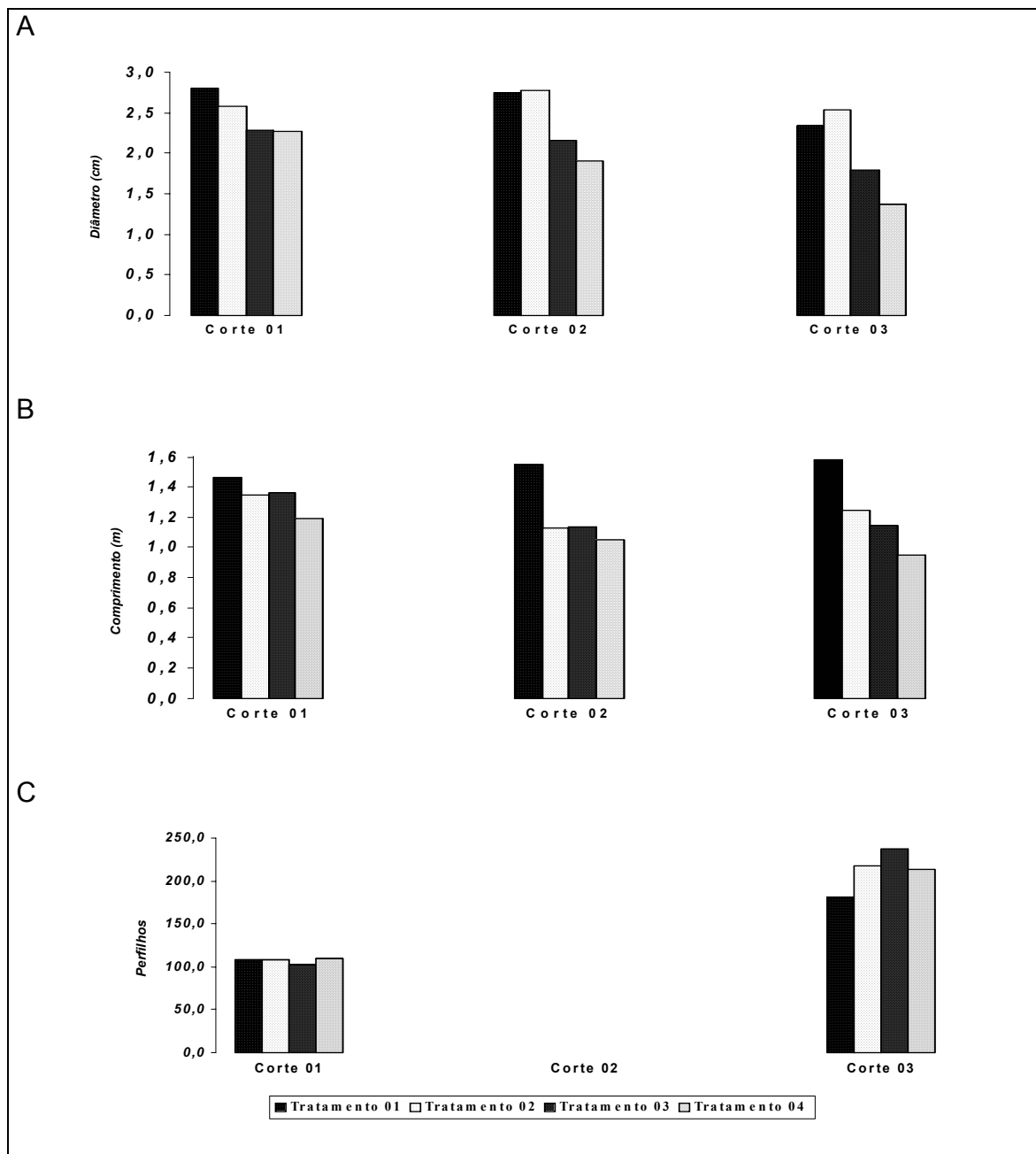


Figura D.3 - Diâmetro médio (A), altura média (B) e número médio de perfilhos (C) da Variedade RB 03. Corte 01 realizado em 2005, Corte 02 em 2006 e Corte 03 em 2007. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 UFC/mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 UFC/mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 UFC/mL

Tabela D.3 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Diâmetro do colmo, Altura média da planta e Número de Perfilhos da parcela da Variedade RB 03⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>			<i>Corte 02</i>			<i>Corte 03</i>		
	<i>Diâmetro</i> (<i>cm</i>)	<i>Altura</i> (<i>m</i>)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (<i>cm</i>)	<i>Altura</i> (<i>m</i>)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (<i>cm</i>)	<i>Altura</i> (<i>m</i>)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>
	<i>médias</i>								
Controle	2,80a	1,46a	108,50a	2,75a	1,55a	S.D.	2,34a	1,58a	181,25a
Baixo	2,58a	1,35a	107,50a	2,78a	1,13b	S.D.	2,54a	1,24b	217,25a
Médio	2,28a	1,36a	102,75a	2,16b	1,13b	S.D.	1,80ab	1,15b	238,00a
Alto	2,27a	1,19a	109,00a	1,90b	1,05b	S.D.	1,38b	0,95b	213,50a
F.....	2,92 ^{ns}	2,41 ^{ns}	0,86	9,73**	9,88**	-	5,83**	14,15**	1,77 ^{ns}
Tukey (5%).	0,63	0,31	12,96	0,59	0,30	-	0,92	0,29	74,06
CV (%)......	12,08	10,95	5,77	11,65	11,87	-	21,76	11,33	16,60

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

S.D – Sem Dados

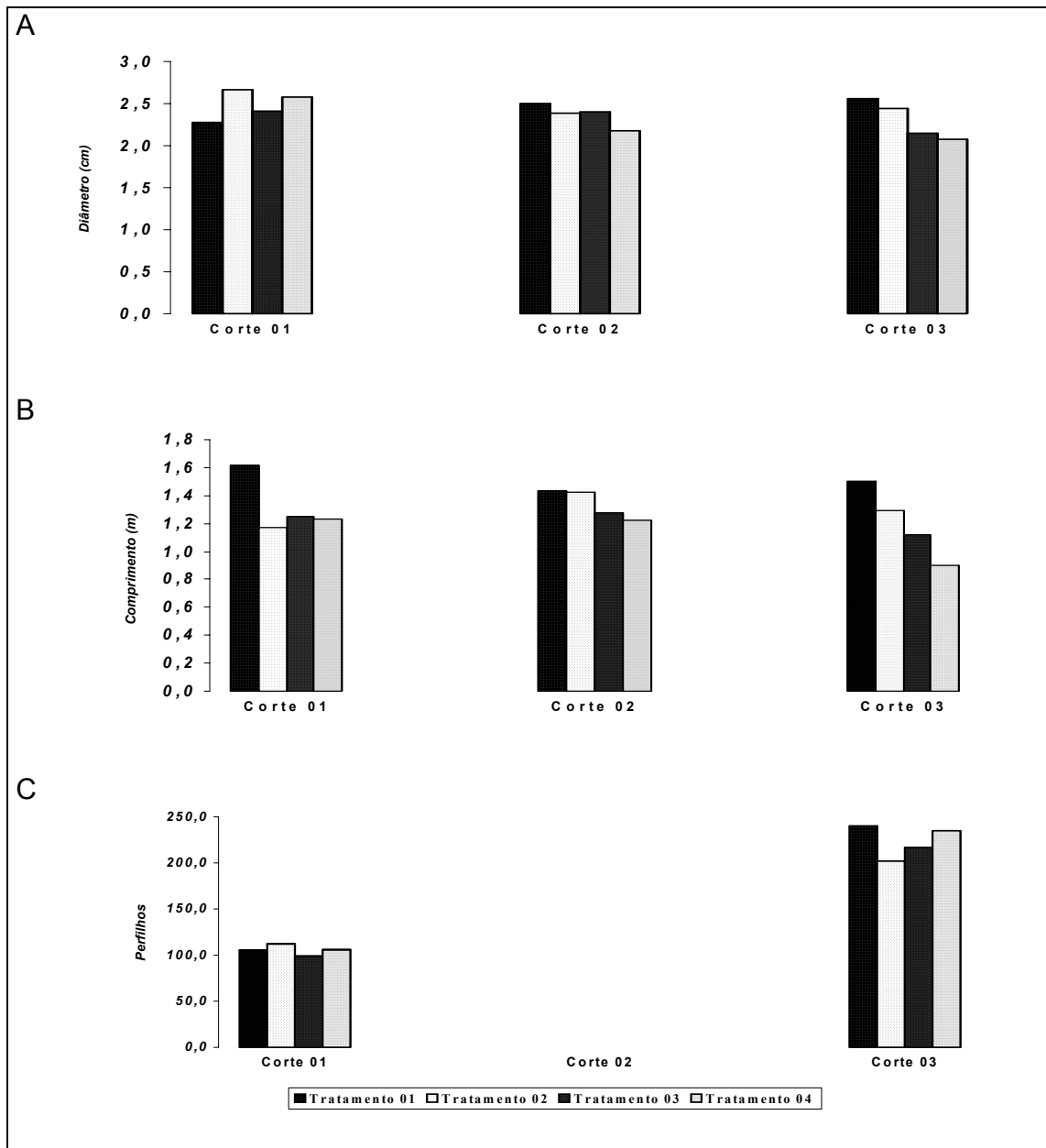


Figura D.4 - Diâmetro médio (A), altura média (B) e número médio de perfis (C) da Variedade RB 04. Corte 01 realizado em 2005, Corte 02 em 2006 e Corte 03 em 2007. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 UFC/mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 UFC/mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 UFC/mL

Tabela D.4 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Diâmetro do colmo, Altura média da planta e Número de Perfilhos da parcela da Variedade RB 04⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>			<i>Corte 02</i>			<i>Corte 03</i>		
	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>
	<i>médias</i>								
Controle	2,28a	1,61a	105,25a	2,50a	1,43a	S.D.	2,56a	1,50a	240,00a
Baixo	2,66a	1,1b	112,00a	2,39a	1,43a	S.D.	2,44a	1,29ab	202,00a
Médio	2,41a	1,25b	99,00a	2,40a	1,28a	S.D.	2,15a	1,12bc	216,75a
Alto	2,58a	1,23b	106,00a	2,18a	1,22a	S.D.	2,08a	0,90c	234,75a
F.....	0,41 ^{ns}	8,19**	2,34 ^{ns}	0,41 ^{ns}	1,14 ^{ns}		2,30 ^{ns}	8,43**	1,43 ^{ns}
Tukey (5%)	1,13	0,29	14,61	0,89	0,43		0,64	0,37	61,13
CV (%).....	21,63	10,64	6,59	17,97	15,19		13,23	14,59	13,03

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

S.D – Sem Dados

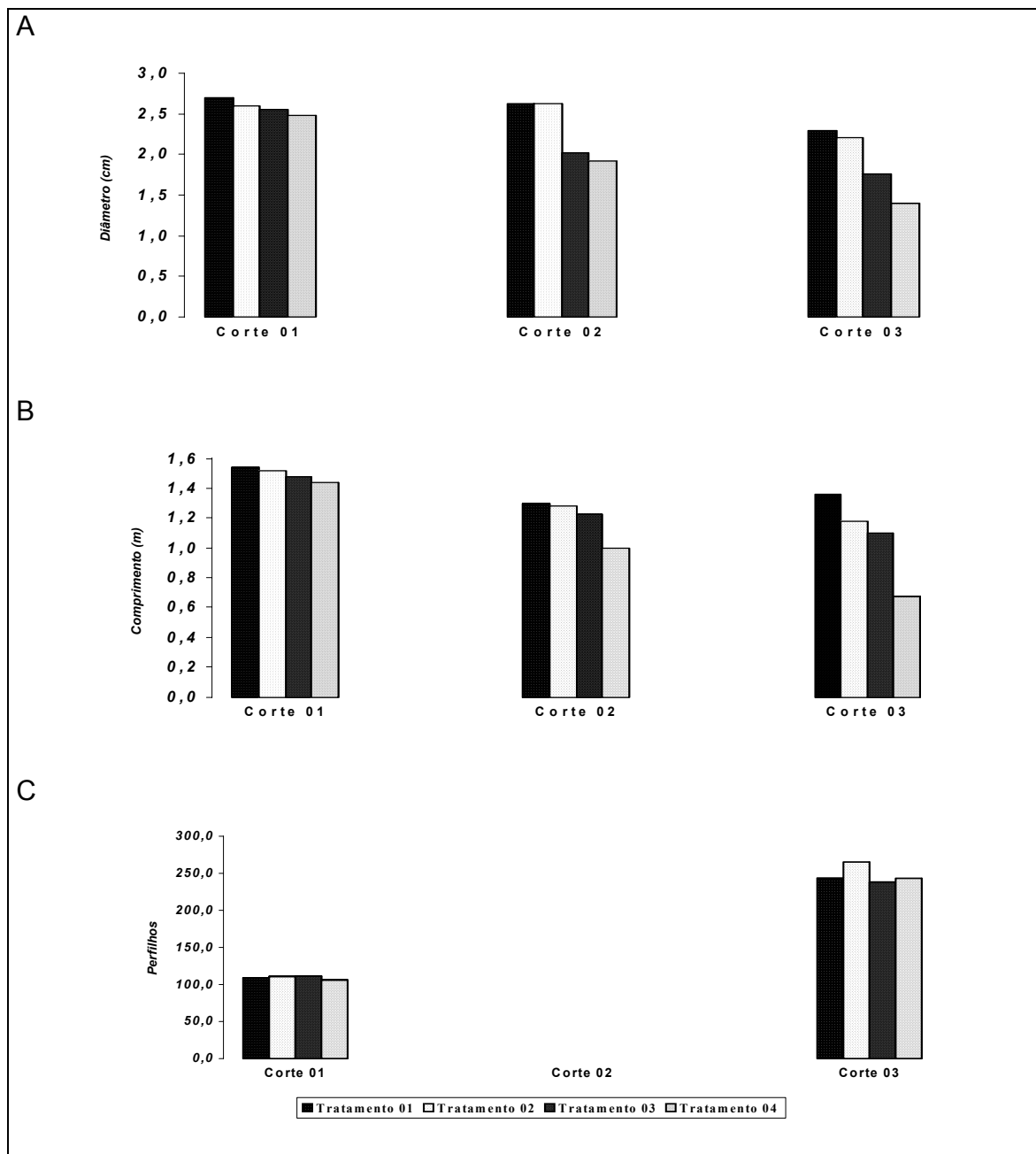


Figura D.5 - Diâmetro médio (A), altura média (B) e número médio de perfilhos (C) da Variedade RB 05. Corte 01 realizado em 2005, Corte 02 em 2006 e Corte 03 em 2007. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 UFC/mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 UFC/mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 UFC/mL

Tabela D.5 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Diâmetro do colmo, Altura média da planta e Número de Perfilhos da parcela da Variedade RB 05⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>			<i>Corte 02</i>			<i>Corte 03</i>		
	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>
	<i>médias</i>								
Controle	2,71a	1,54a	108,75a	2,63a	1,30a	S.D.	2,30a	1,36a	243,50a
Baixo	2,60a	1,52a	110,75a	2,63a	1,28a	S.D.	2,21a	1,18a	265,25a
Médio	2,56a	1,48a	111,00a	2,03a	1,23a	S.D.	1,76ab	1,10a	238,25a
Alto	2,49a	1,44a	106,00a	1,93a	0,95a	S.D.	1,40b	0,68b	243,25a
F.....	0,61 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,54 ^{ns}	3,91 ^{ns}	2,45 ^{ns}	-	9,68**	13,32**	0,47 ^{ns}
Tukey (5%).	0,49	0,58	13,25	0,80	0,43	-	0,56	0,33	73,99
CV (%).	8,95	18,37	5,78	16,60	17,41	-	14,01	14,73	14,23

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

S.D – Sem Dados

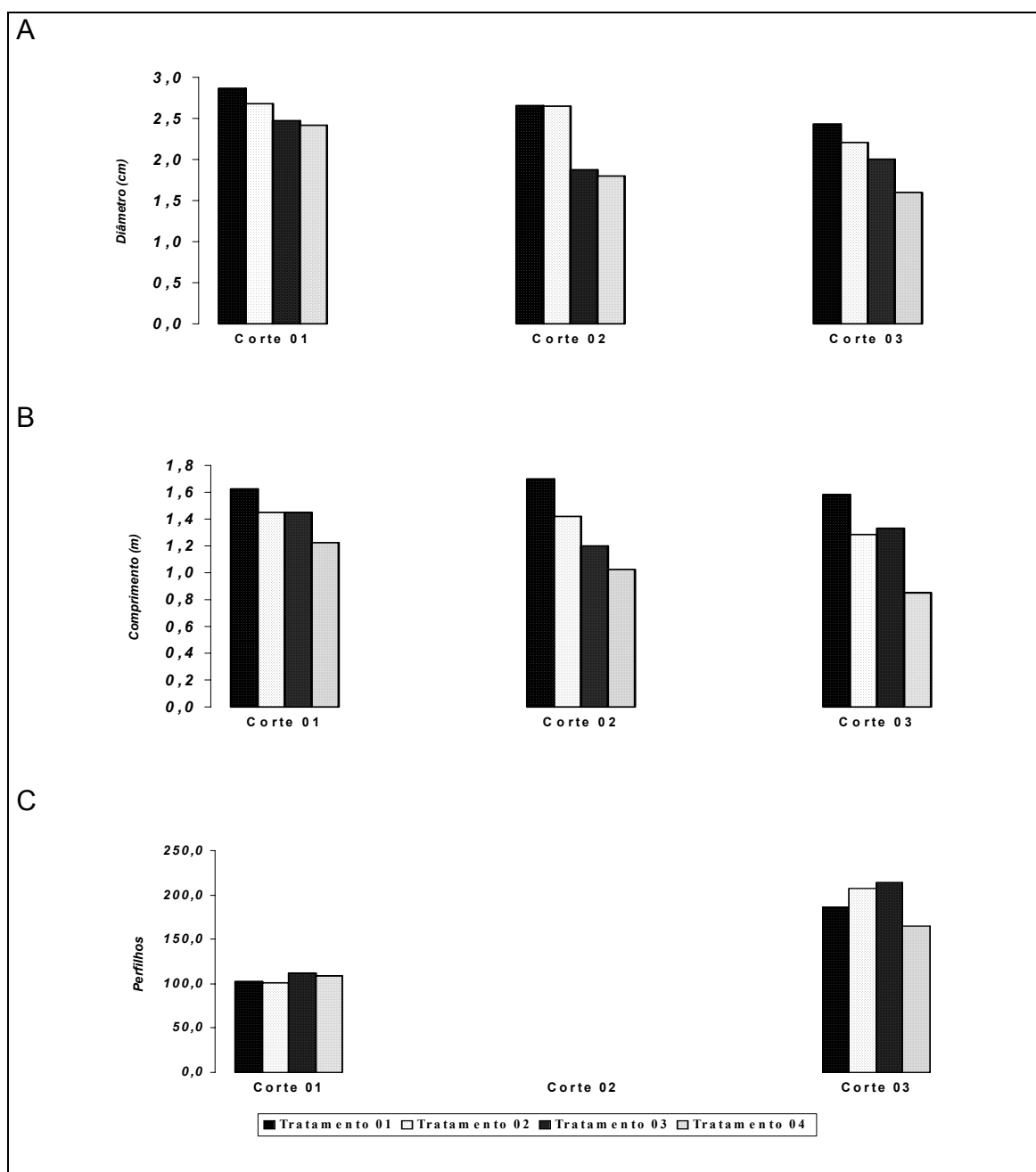


Figura D.6 - Diâmetro médio (A), altura média (B) e número médio de perfilhos (C) da Variedade RB 06. Corte 01 realizado em 2005, Corte 02 em 2006 e Corte 03 em 2007. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 UFC/mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 UFC/mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 UFC/mL

Tabela D.6 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Diâmetro do colmo, Altura média da planta e Número de Perfilhos da parcela da Variedade RB 06⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>			<i>Corte 02</i>			<i>Corte 03</i>		
	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>
	<i>médias</i>								
Controle	2,87a	1,63a	102,25ab	2,66a	1,70a	S.D.	2,43a	1,58a	186,75a
Baixo	2,68a	1,45ab	101,00b	2,65a	1,42ab	S.D.	2,21ab	1,28ab	207,50a
Médio	2,47a	1,45ab	112,00a	1,88b	1,20b	S.D.	2,01b	1,33ab	214,75a
Alto	2,42a	1,23b	109,00ab	1,80b	1,03c	S.D.	1,60c	0,85b	165,50a
F.....	1,99 ^{ns}	4,37**	4,41**	20,36**	11,52**	-	21,04**	6,64**	2,89 ^{ns}
Tukey (5%).	0,61	0,33	10,58	0,44	0,36	-	0,32	0,50	54,81
CV (%).....	11,15	10,91	4,75	9,32	12,85	-	7,49	18,75	13,48

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

S.D – Sem Dados

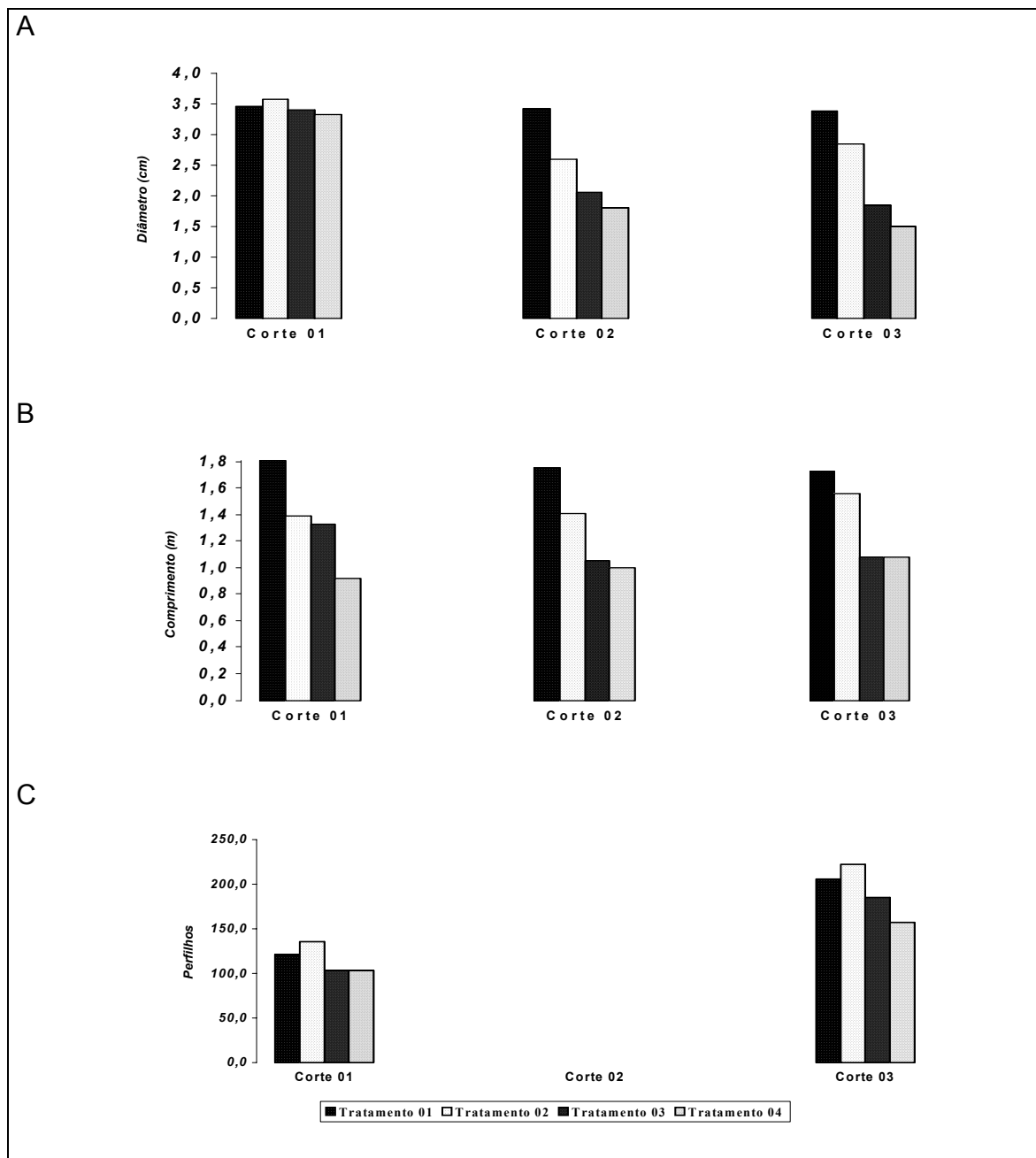


Figura D.7 - Diâmetro médio (A), altura média (B) e número médio de perfíhos (C) da Variedade RB 07. Corte 01 realizado em 2005, Corte 02 em 2006 e Corte 03 em 2007. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 UFC/mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 UFC/mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 UFC/mL

Tabela D.7 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Diâmetro do colmo, Altura média da planta e Número de Perfilhos da parcela da Variedade RB 07⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>			<i>Corte 02</i>			<i>Corte 03</i>		
	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>
	<i>médias</i>								
Controle	3,46a	1,80a	121,00a	3,43a	1,75a	S.D.	3,38a	1,73a	205,75ab
Baixo	3,58a	1,39ab	135,50a	2,60b	1,40ab	S.D.	2,85b	1,56a	222,25a
Médio	3,40a	1,33bc	103,00a	2,05c	1,05b	S.D.	1,85c	1,08b	185,00ab
Alto	3,33a	0,92c	103,00a	1,80c	1,00b	S.D.	1,50c	1,08b	157,25b
F.....	0,64 ^{ns}	12,12**	0,59 ^{ns}	51,80**	9,13**	-	67,62**	14,61**	5,65**
Tukey (5%).	0,55	0,43	85,67	0,42	0,49	-	0,44	0,37	49,57
CV (%).....	7,65	15,23	35,28	8,10	17,80	-	8,83	12,88	12,26

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

S.D – Sem Dados

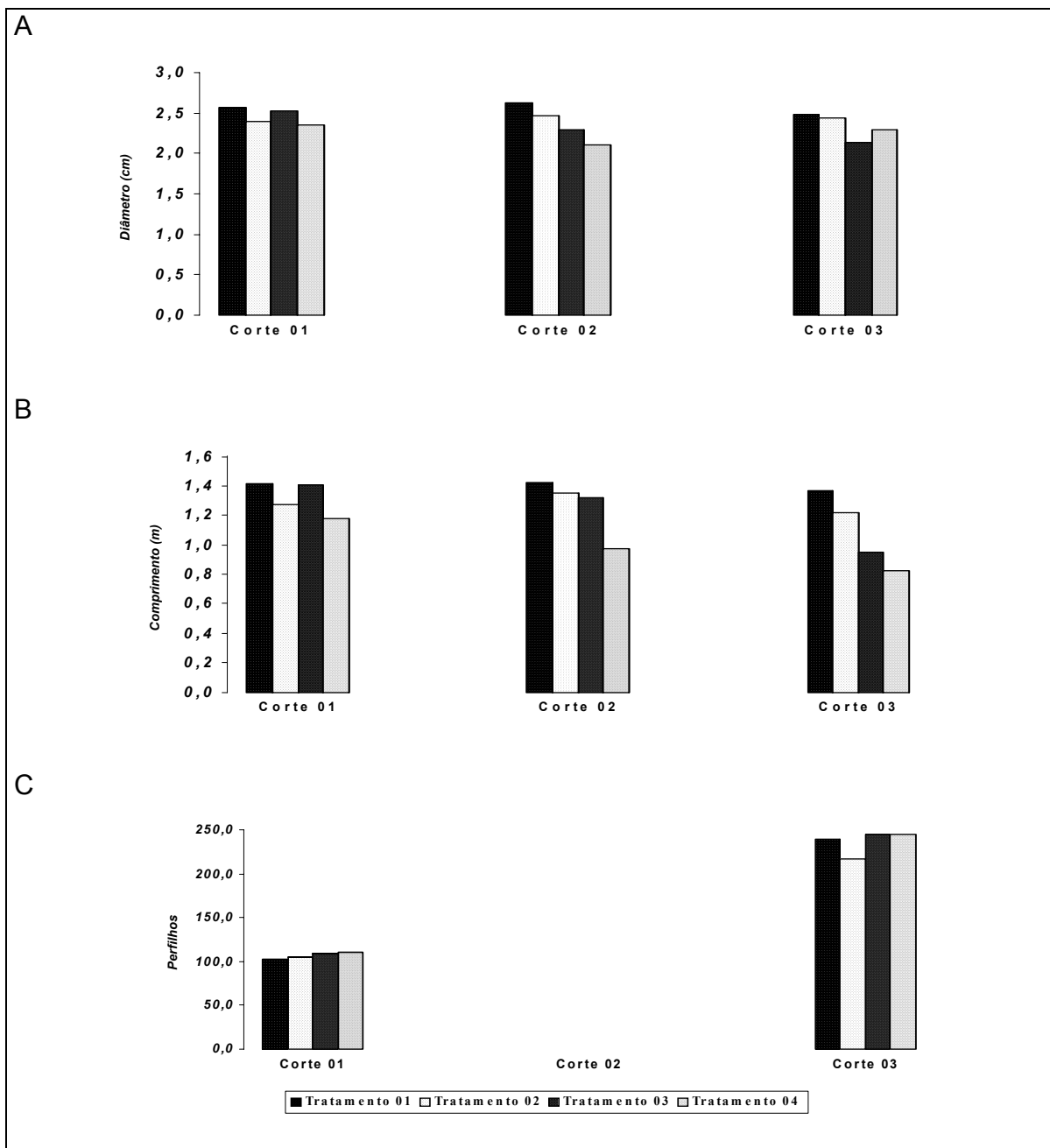


Figura D.8 - Diâmetro médio (A), altura média (B) e número médio de perfilhos (C) da Variedade RB 08. Corte 01 realizado em 2005, Corte 02 em 2006 e Corte 03 em 2007. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 UFC/mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 UFC/mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 UFC/mL

Tabela D.8 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Diâmetro do colmo, Altura média da planta e Número de Perfilhos da parcela da Variedade RB 08⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>			<i>Corte 02</i>			<i>Corte 03</i>		
	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>
				<i>médias</i>					
Controle	2,57a	1,42a	101,75a	2,63a	1,43a	S.D.	2,49a	1,37a	239,00a
Baixo	2,39a	1,28a	105,25a	2,47a	1,35ab	S.D.	2,44a	1,22ab	217,00a
Médio	2,52a	1,41a	108,50a	2,29a	1,32ab	S.D.	2,14a	0,95bc	244,75a
Alto	2,35a	1,18a	110,25a	2,10a	0,98b	S.D.	2,30a	0,83c	245,00a
F.....	0,74 ^{ns}	2,12 ^{ns}	1,48 ^{ns}	2,31	4,06**	-	1,21 ^{ns}	11,15**	0,76
Tukey (5%)..	0,51	0,33	12,93	0,63	0,42	-	0,59	0,31	63,95
CV (%).....	9,93	12,02	5,79	12,62	15,67	-	12,03	13,58	12,88

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

S.D – Sem Dados

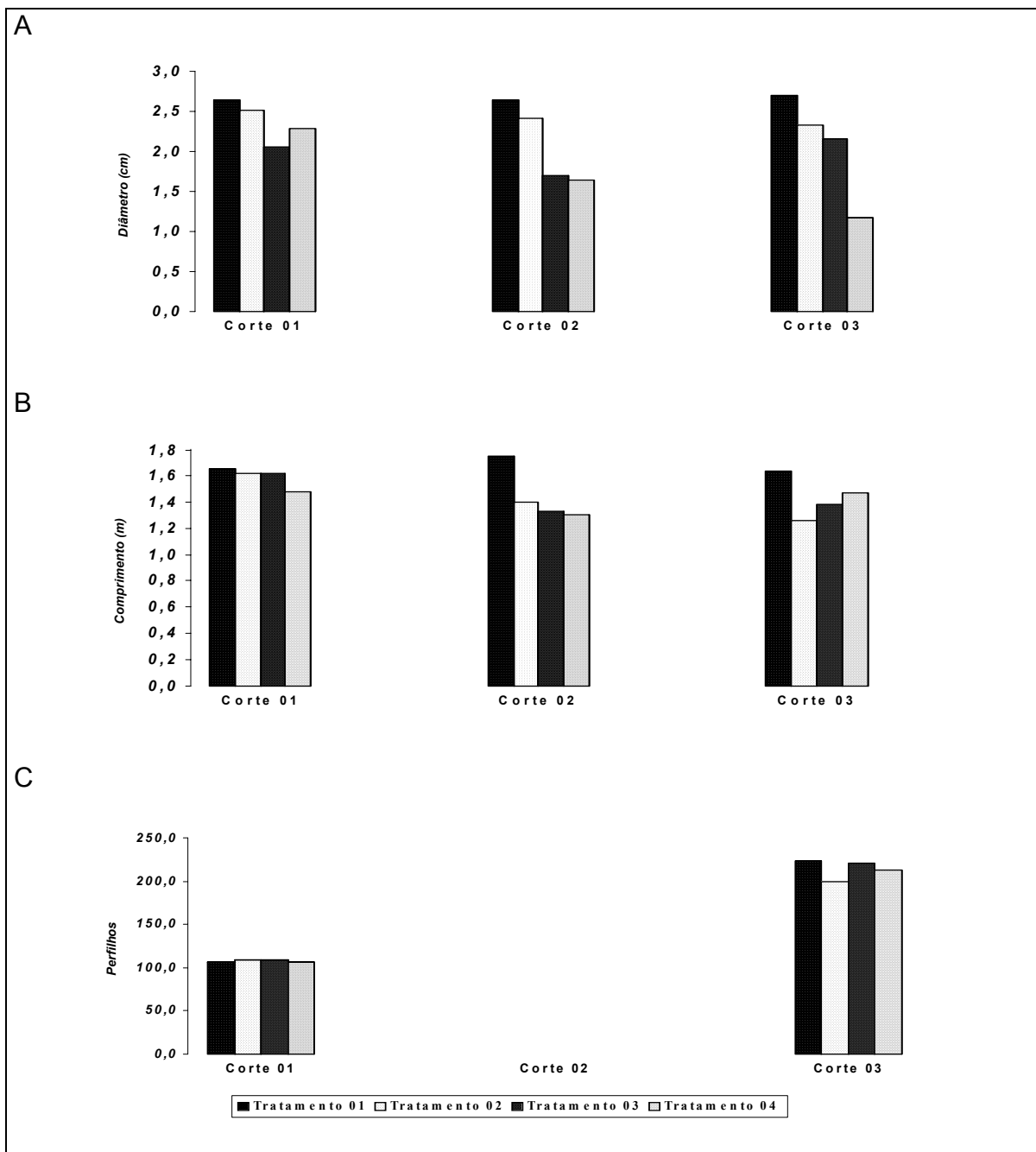


Figura D.9 - Diâmetro médio (A), altura média (B) e número médio de perfílos (C) da Variedade RB 09. Corte 01 realizado em 2005, Corte 02 em 2006 e Corte 03 em 2007. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 UFC/mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 UFC/mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 UFC/mL

Tabela D.9 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Diâmetro do colmo, Altura média da planta e Número de Perfilhos da parcela da Variedade RB 09⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>			<i>Corte 02</i>			<i>Corte 03</i>		
	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>
	<i>médias</i>								
Controle	2,65a	1,66a	106,00a	2,65a	1,75a	S.D.	2,71a	1,63a	222,75a
Baixo	2,52a	1,62a	109,25a	2,42a	1,40ab	S.D.	2,34ab	1,26 b	200,00a
Médio	2,07a	1,62a	108,75a	1,70b	1,33ab	S.D.	2,16b	1,38ab	220,25a
Alto	2,28a	1,48a	106,50a	1,65b	1,31b	S.D.	1,18c	1,48ab	212,25a
F.....	2,56 ^{ns}	0,67 ^{ns}	0,34 ^{ns}	18,02**	4,03**	-	25,88**	3,44**	1,19 ^{ns}
Tukey (5%).	0,68	0,41	11,67	0,50	0,43	-	0,54	0,36	39,35
CV (%).....	13,51	12,26	5,16	11,32	14,16	-	12,30	11,84	8,76

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

S.D – Sem Dados

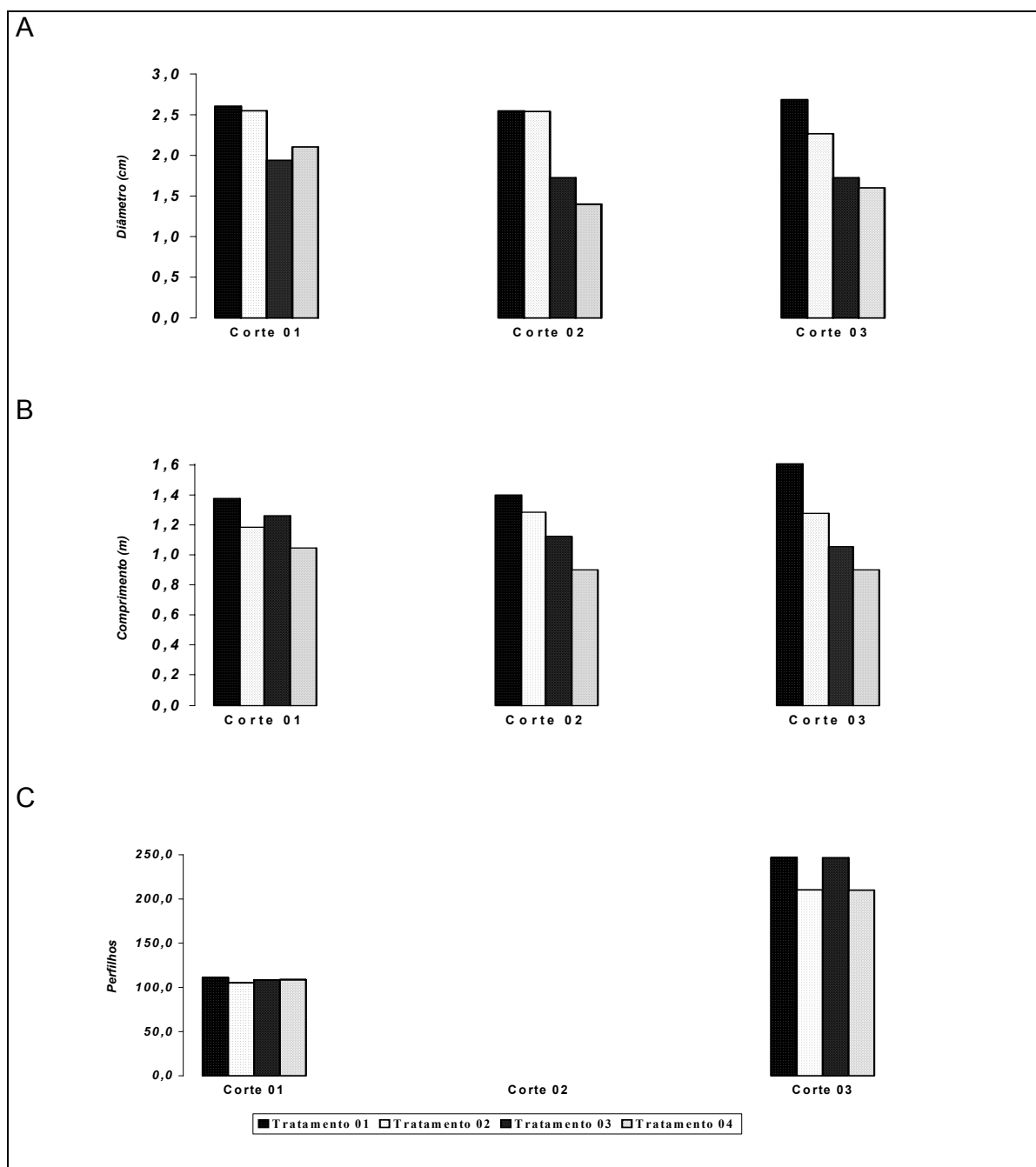


Figura D.10 - Diâmetro médio (A), altura média (B) e número médio de perfilhos (C) da Variedade RB 10. Corte 01 realizado em 2005, Corte 02 em 2006 e Corte 03 em 2007. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 UFC/mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 UFC/mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 UFC/mL

Tabela D.10 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Diâmetro do colmo, Altura média da planta e Número de Perfilhos da parcela da Variedade RB 10⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>			<i>Corte 02</i>			<i>Corte 03</i>		
	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>Nº.</i> <i>Perfilhos</i>
	<i>médias</i>								
Controle	2,61a	1,38a	111,00a	2,55a	1,40a	S.D.	2,69a	1,60a	247,25a
Baixo	2,55a	1,18a	105,25a	2,54a	1,28ab	S.D.	2,27ab	1,28b	210,50a
Médio	1,94a	1,26a	108,25a	1,73b	1,13ab	S.D.	1,73b	1,05bc	246,75a
Alto	2,11a	1,05a	108,75a	1,40b	0,90b	S.D.	1,60b	0,90c	210,00a
F.....	3,65 ^{ns}	2,62 ^{ns}	0,66 ^{ns}	36,51**	4,35**	-	7,12**	17,08**	1,40 ^{ns}
Tukey (5%).	0,72	0,36	12,25	0,40	0,44	-	0,79	0,31	75,45
CV (%)......	14,94	14,01	5,39	9,38	17,65	-	18,21	12,21	15,71

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

S.D – Sem Dados

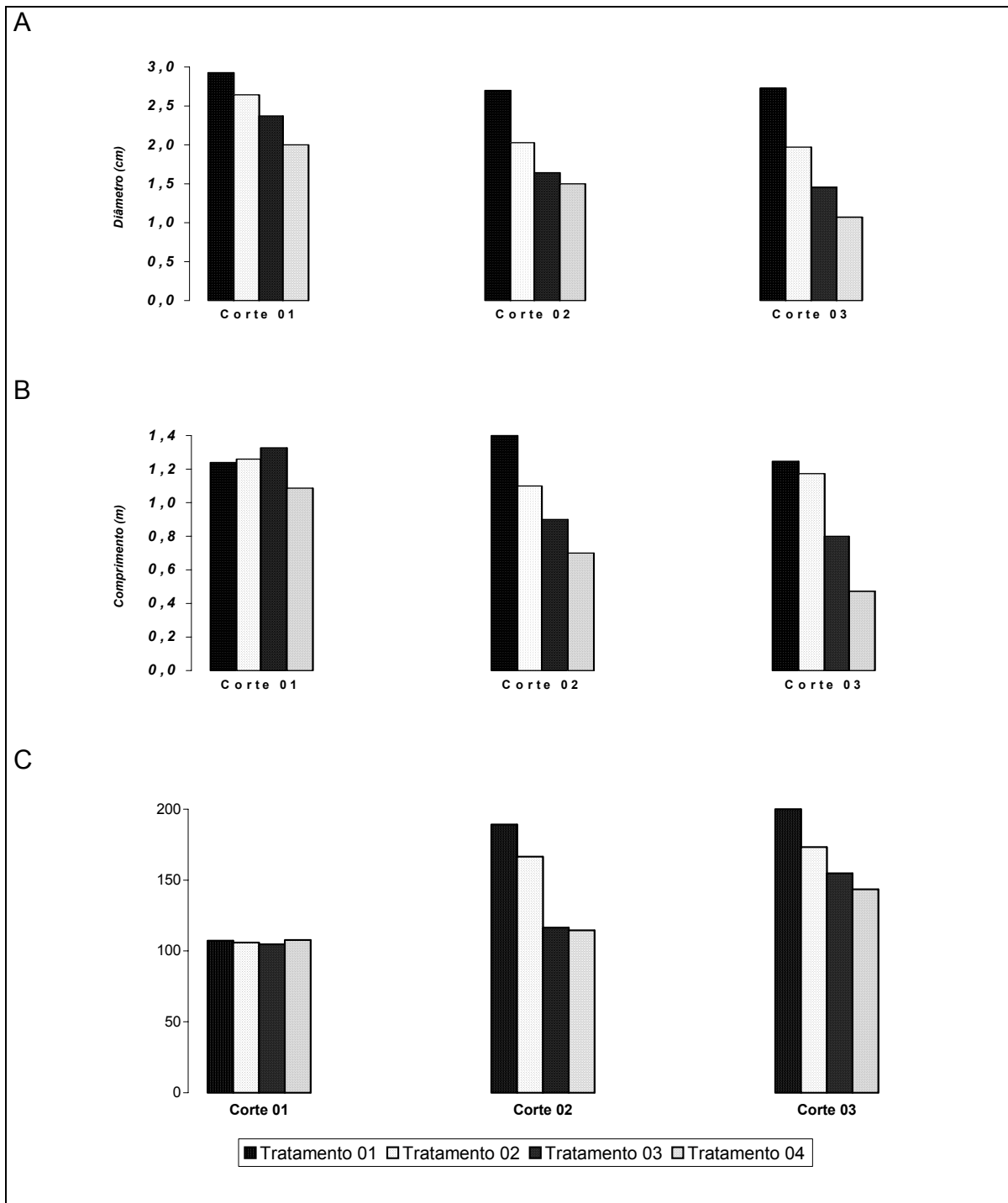


Figura D.11 - Diâmetro médio (A), altura média (B) e número médio de perfilhos (C) da Variedade CB 49-260. Corte 01 realizado em 2005, Corte 02 em 2006 e Corte 03 em 2007. Tratamento 01 = Controle (sem inóculo); Tratamento 02 = inoculado com 10^2 UFC/mL; Tratamento 03 = inoculado com 10^4 UFC/mL e; Tratamento 04 = inoculado com 10^8 UFC/mL

Tabela D.11 - Valores médios de três cortes (2005, 2006 e 2007) de Diâmetro do colmo, Altura média da planta e Número de Perfilhos da parcela da Variedade CB 49-260⁽¹⁾.

Tratamentos	<i>Corte 01</i>			<i>Corte 02</i>			<i>Corte 03</i>		
	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>N.º.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>N.º.</i> <i>Perfilhos</i>	<i>Diâmetro</i> (cm)	<i>Altura</i> (m)	<i>N.º.</i> <i>Perfilhos</i>
Controle	2,92a	1,24a	115,3a	2,70a	1,40a	189,3a	2,74a	1,25a	195,0a
Baixo	2,65a	1,26a	107,0a	2,03b	1,10ab	166,5a	1,98b	1,18a	116,3b
Médio	2,37ab	1,33a	116,8a	1,65b	0,90bc	116,5b	1,46bc	0,80ab	101,8c
Alto	2,00b	1,09a	113,0a	1,50b	0,70c	114,5b	1,08c	0,48b	101,3c
Teste F.....	7,05**	1,49 ^{ns}	0,17 ^{ns}	12,53**	10,19**	19,21**	32,65**	8,43**	221,17**
Tukey (5%).	0,62	0,35	13,56	0,64	0,39	35,65	0,53	0,52	12,66
CV (%).....	11,96	13,53	6,07	15,36	18,25	11,57	13,89	26,75	4,69

** : Significativo a 1% de probabilidade de erro; ns: não significativo.

⁽¹⁾: médias seguidas de letras idênticas na mesma coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

S.D – Sem Dados

ANEXO E ANÁLISE ULTRA-ESTRUTURAL

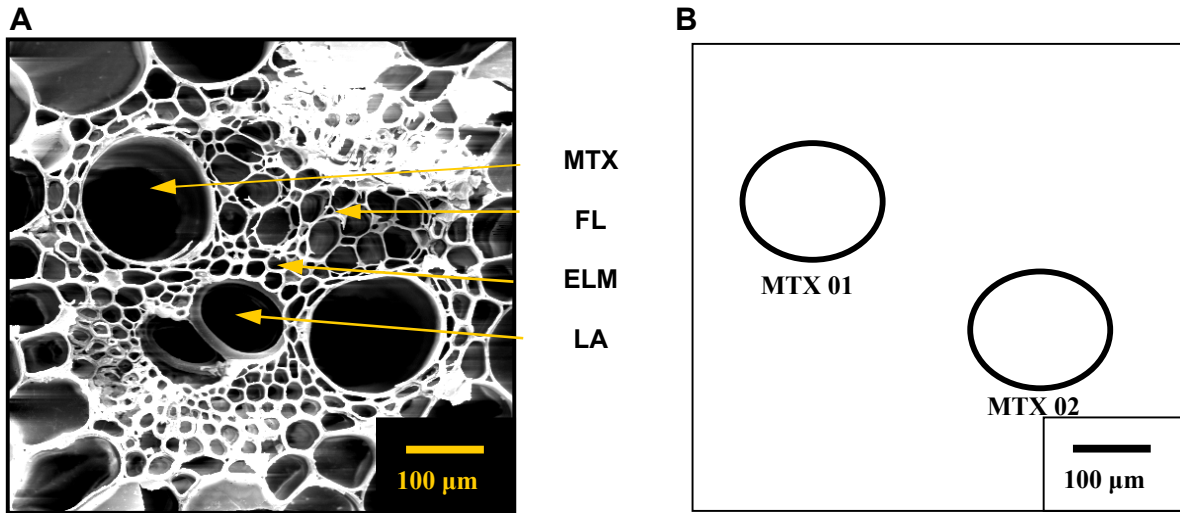


Figura E.1 - Caracterização morfológica dos vasos condutores de cana-de-açúcar. A) Micrografia eletrônica do corte transversal do caule mostrando o conjunto de vasos da variedade RB 01 com aumento de 200 X. MTX = metaxilema, FL = floema, ELM = elementos do metaxilema e LA = lacuna. B) Esquema dos metaxilemas enfatizando seus diâmetros

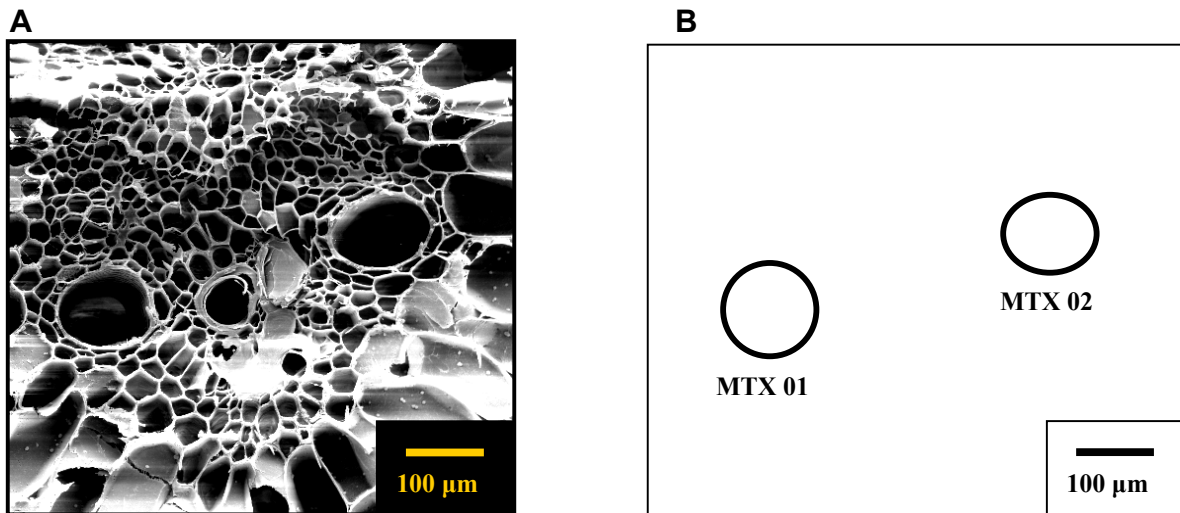


Figura E.2 - Caracterização morfológica dos vasos condutores de cana-de-açúcar. A) Micrografia eletrônica do corte transversal do caule mostrando o conjunto de vasos da variedade RB 02 com aumento de 200 X. B) Esquema dos metaxilemas enfatizando seus diâmetros

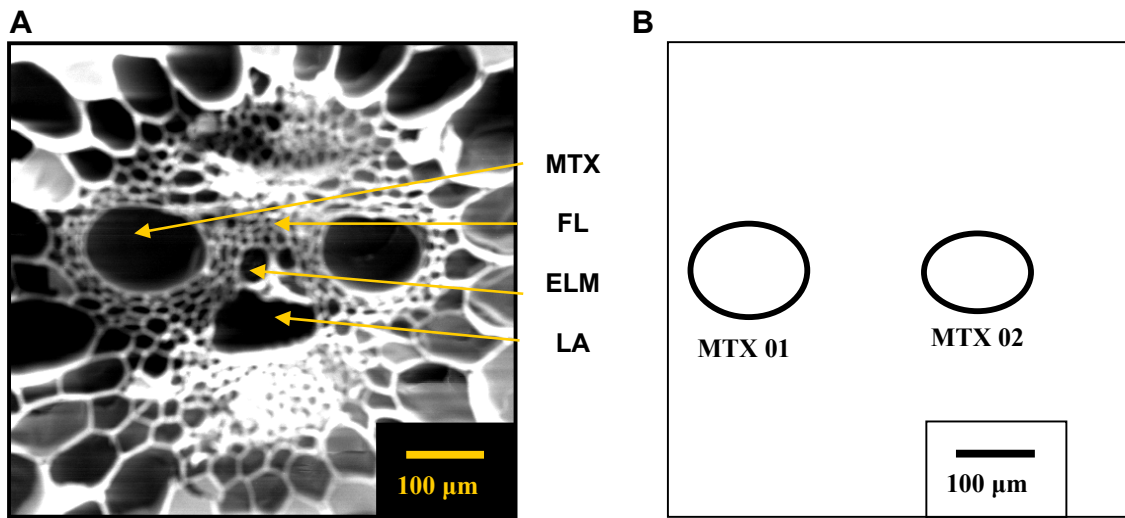


Figura E.3 - Caracterização morfológica dos vasos condutores de cana-de-açúcar. A) Micrografia eletrônica do corte transversal do caule mostrando o conjunto de vasos da variedade RB 03 com aumento de 200 X. MTX = metaxilema, FL = floema, ELM = elementos do metaxilema e LA = lacuna. B) Esquema dos metaxilemas enfatizando seus diâmetros

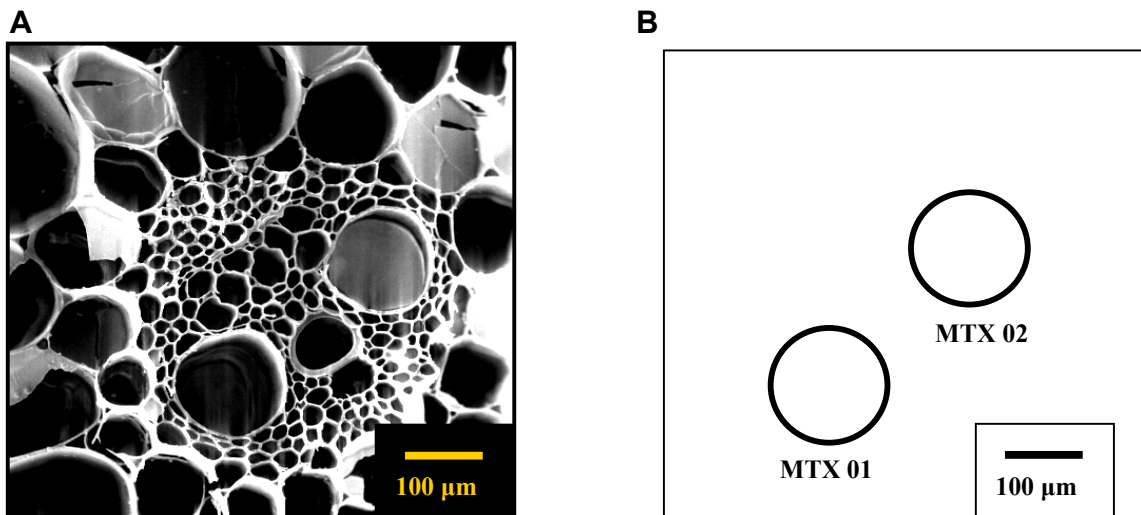


Figura E.4 - Caracterização morfológica dos vasos condutores de cana-de-açúcar. A) Micrografia eletrônica do corte transversal do caule mostrando o conjunto de vasos da variedade RB 04 com aumento de 200 X. B) Esquema dos metaxilemas enfatizando seus diâmetros

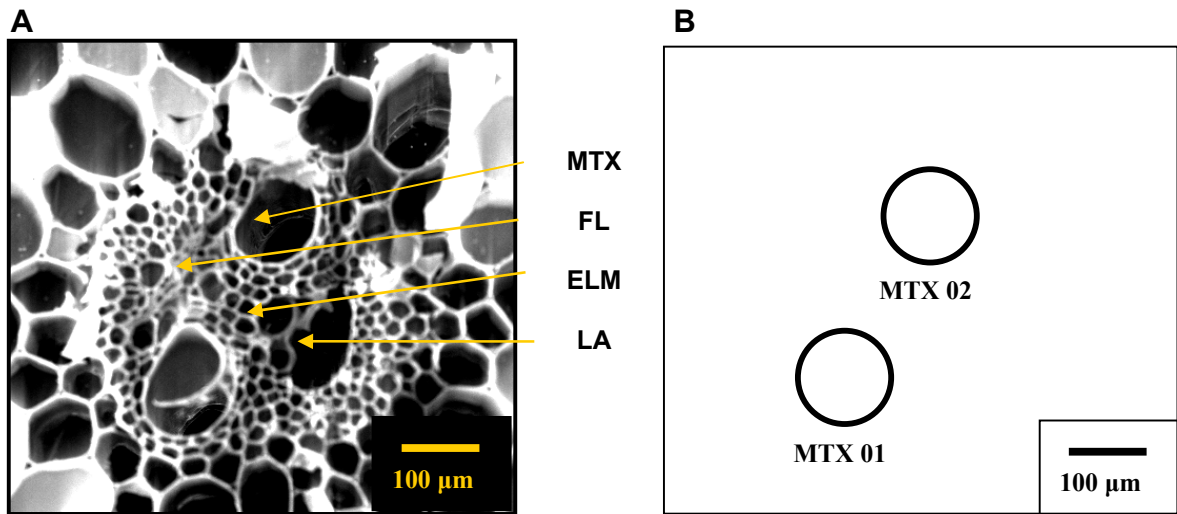


Figura E.5 - Caracterização morfológica dos vasos condutores de cana-de-açúcar. A) Micrografia eletrônica do corte transversal do caule mostrando o conjunto de vasos da variedade RB 05 com aumento de 200 X. MTX = metaxilema, FL = floema, ELM = elementos do metaxilema e LA = lacuna. B) Esquema dos metaxilemas enfatizando seus diâmetros

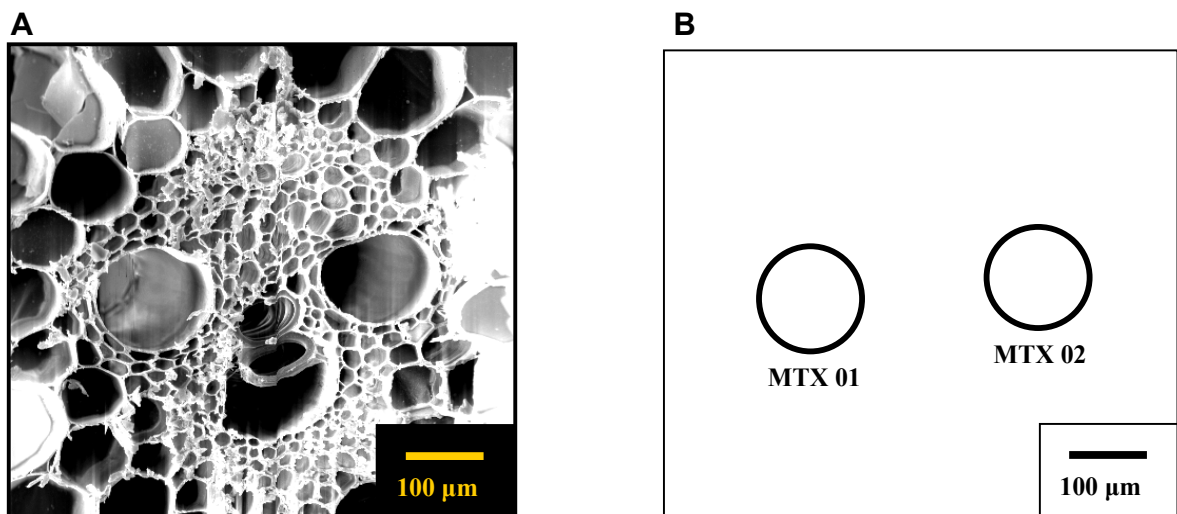


Figura E.6 - Caracterização morfológica dos vasos condutores de cana-de-açúcar. A) Micrografia eletrônica do corte transversal do caule mostrando o conjunto de vasos da variedade RB 06 com aumento de 200 X. B) Esquema dos metaxilemas enfatizando seus diâmetros

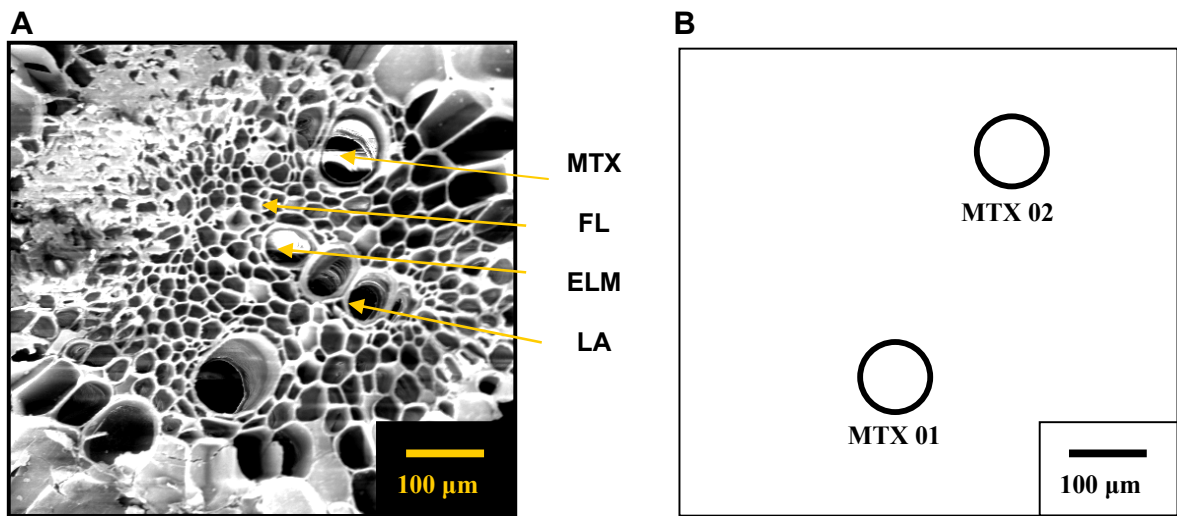


Figura E.7 - Caracterização morfológica dos vasos condutores de cana-de-açúcar. A) Micrografia eletrônica do corte transversal do caule mostrando o conjunto de vasos da variedade RB 07 com aumento de 200 X. MTX = metaxilema, FL = floema, ELM = elementos do metaxilema e LA = lacuna. B) Esquema dos metaxilemas enfatizando seus diâmetros

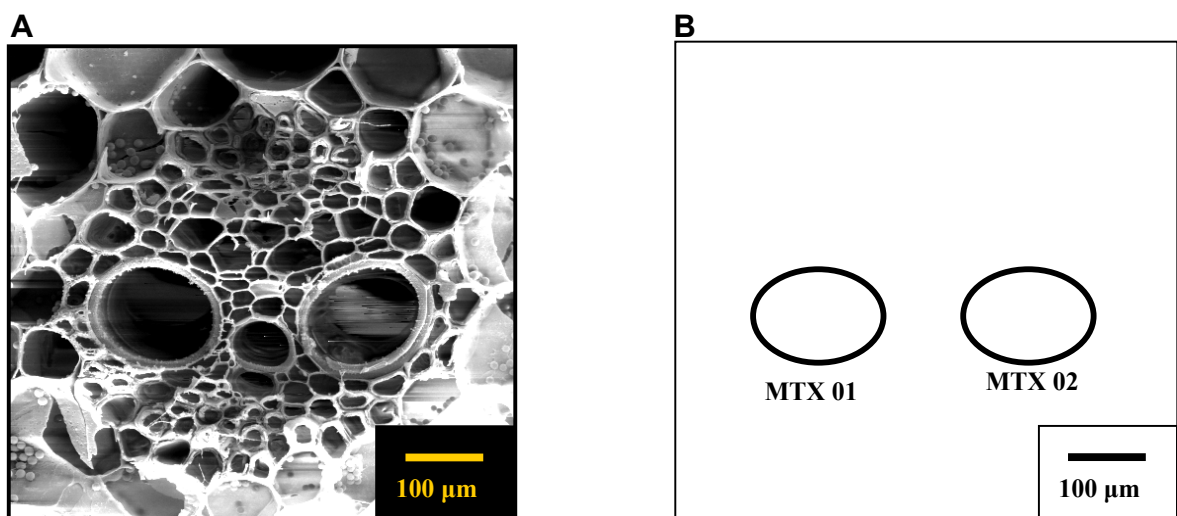


Figura E.8 - Caracterização morfológica dos vasos condutores de cana-de-açúcar. A) Micrografia eletrônica do corte transversal do caule mostrando o conjunto de vasos da variedade RB 08 com aumento de 200 X. B) Esquema dos metaxilemas enfatizando seus diâmetros

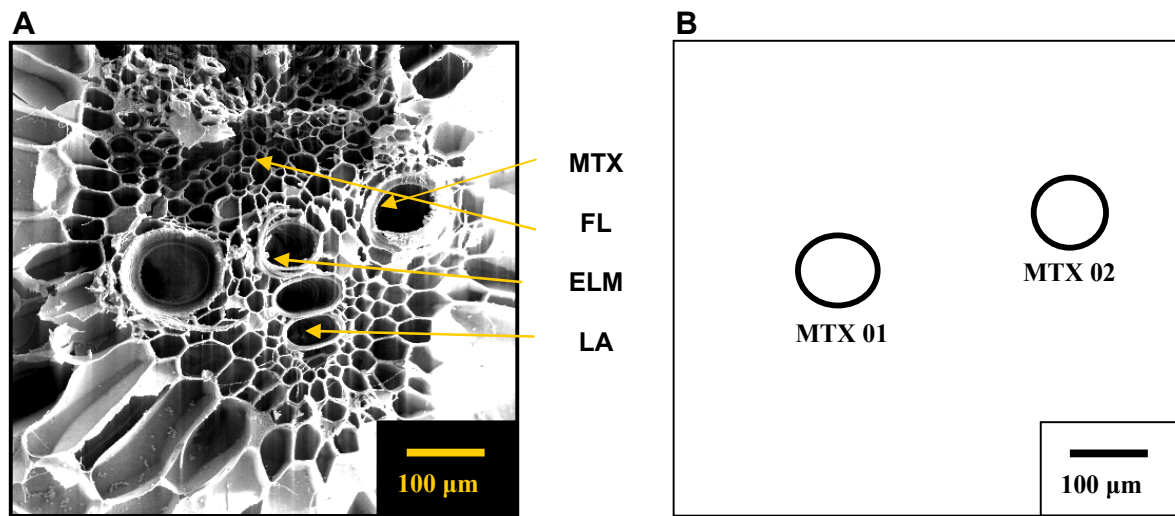


Figura E.9 - Caracterização morfológica dos vasos condutores de cana-de-açúcar. A) Micrografia eletrônica do corte transversal do caule mostrando o conjunto de vasos da variedade RB 09 com aumento de 200 X. MTX = metaxilema, FL = floema, ELM = elementos do metaxilema e LA = lacuna. B) Esquema dos metaxilemas enfatizando seus diâmetros

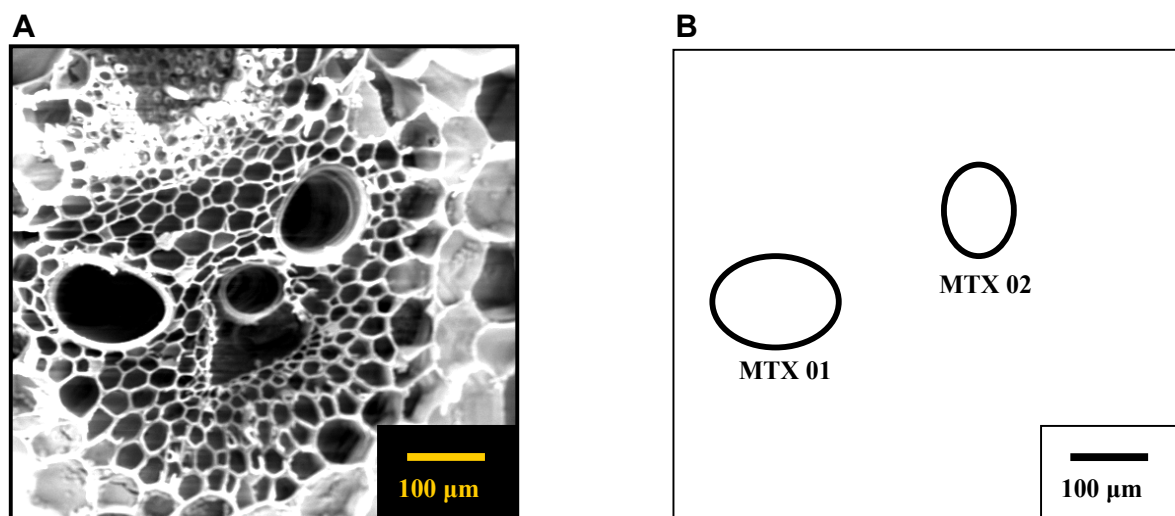


Figura E.10 - Caracterização morfológica dos vasos condutores de cana-de-açúcar. A) Micrografia eletrônica do corte transversal do caule mostrando o conjunto de vasos da variedade RB 10 com aumento de 200 X. B) Esquema dos metaxilemas enfatizando seus diâmetros

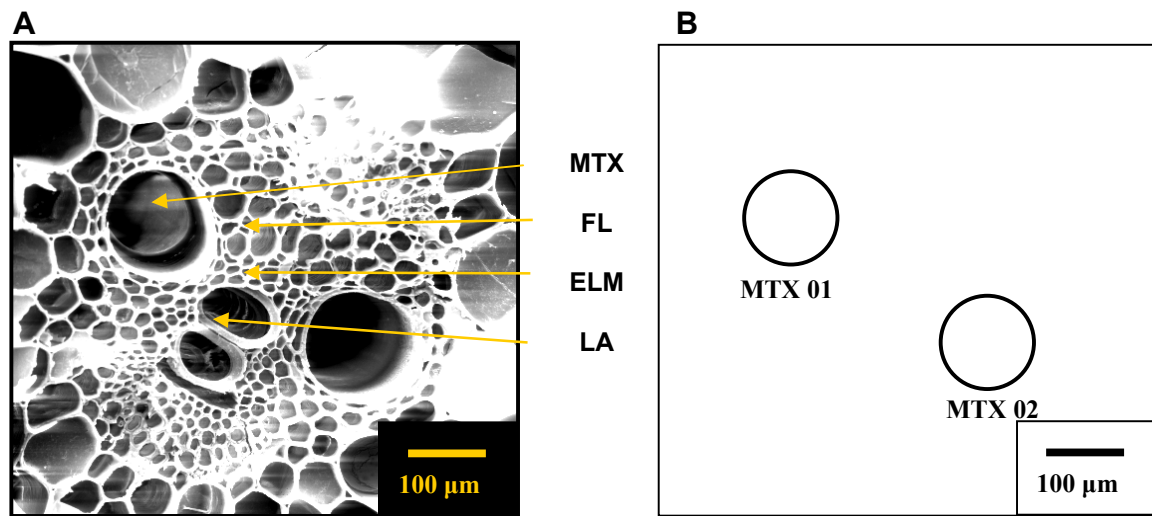


Figura E.11 - Caracterização morfológica dos vasos condutores de cana-de-açúcar. A) Micrografia eletrônica do corte transversal do caule mostrando o conjunto de vasos da variedade CB 01 com aumento de 200 X. MTX = metaxilema, FL = floema, ELM = elementos do metaxilema e LA = lacuna. B) Esquema dos metaxilemas enfatizando seus diâmetros

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)