



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUÇÃO VEGETAL E BIOPROCESSOS ASSOCIADOS**

**EFEITO DA ESCALDADURA-DAS-FOLHAS EM UM CAMPO COMERCIAL DE
CANA- DE -AÇÚCAR NO BRASIL E REAÇÃO DE VARIEDADES**

CLAUDIA ELIZBETH BOGADO GONZALEZ

**Araras
2023**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUÇÃO VEGETAL E BIOPROCESSOS ASSOCIADOS**

**EFEITO DA ESCALDADURA-DAS-FOLHAS EM UM CAMPO COMERCIAL DE
CANA- DE -AÇÚCAR NO BRASIL E REAÇÃO DE VARIEDADES**

CLAUDIA ELIZABETH BOGADO GONZALEZ

ORIENTADOR: PROF. DR. ALFREDO SEITI URASHIMA

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós-Graduação em Produção
Vegetal e Bioprocessos Associados
como requisito parcial à obtenção do
título de MESTRE EM PRODUÇÃO
VEGETAL E BIOPROCESSOS
ASSOCIADOS

Araras

2023

Bogado, Claudia

Efeito da escaldadura-das-folhas em um campo comercial de cana- de -açúcar no brasil e reação de variedades / Claudia Bogado -- 2023.
59f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, campus Araras, Araras

Orientador (a): Alfredo Seiiti Urashima

Banca Examinadora: Roberto Giacomini Chapola,,
Catiana Brumatti

Bibliografia

1. Escaldadura-das-folhas . 2. Cana-de-açúcar . 3.
Resistência de variedades. I. Bogado, Claudia. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Maria Helena Sachi do Amaral - CRB/8
7083



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Agrárias

Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Claudia Elizabeth Bogado González, realizada em 30/08/2023.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Alfredo Seiti Urashima (UFSCar)

Prof. Dr. Roberto Giacomini Chapola (FAI)

Profa. Dra. Catiana Regina Brumatti (Raízen)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus por ser meu guia ao longo da minha vida.

À minha família, por todo o apoio incondicional que me deram ao longo desse árduo processo. Vocês têm sido minha fonte de inspiração e motivação. Sua confiança em mim me impulsionou a superar obstáculos e perseguir meus sonhos com determinação.

A meu avô Emiliano (in memoriam) que sempre me incentivou a seguir meus objetivos, sinto muito por não poder me despedir de você, mas esteja onde estiver, esta conquista é para você.

Ao meu namorado Claudio Chaves pelo apoio e ajuda durante este processo de mestrado. Suas palavras de incentivo me motivaram a alcançar essa conquista.

À Universidade Federal de São Carlos - UFSCar e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados - PPGPVBA, por toda a ajuda prestada, em especial a cada professor que faz parte desse programa.

Ao Centro de Ciências Agrárias – CCA Universidade Federal de São Carlos – UFSCar pela bolsa de extensão "Divulgar e popularizar as atividades de ensino, pesquisa e extensão de CCA" que me foi concedido. E a Fundação de Apoio Institucional ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico da Universidade Federal de São Carlos (FAI).

Ao meu orientador Prof. Dr. Alfredo Seiiti Urashima, por suas orientações, que permitiram o sucesso deste projeto. Sua paixão pela pesquisa e seu desejo de transmitir conhecimento têm sido motivação e inspiração para continuar crescendo tanto profissional quanto pessoalmente.

Ao Laboratório de Genética Molecular (LAGEM), especialmente às técnicas Nathalia e Monique, por sua paciência e disposição em me ensinar. Também agradeço aos estagiários Ana, Barbara e Laura por toda a ajuda, conversas e risadas que tornaram minha experiência no laboratório ainda mais enriquecedora e significativa.

Ao Eng. Antonio Ribeiro da RIDESA pela ajuda prestada durante o desenvolvimento do meu trabalho de investigação, sem a sua colaboração o sucesso do trabalho não teria sido possível.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Gazaffi pelo tempo disponibilizado e pela orientação na análise estatística.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento deste trabalho (Projeto: 2017/25258-1)

Aos meus colegas Evelyn Grimaldi e Lourdes Cuba, que foram uma parte fundamental nesses dois anos, sua amizade tem sido um presente inestimável nessa jornada de aprendizado e

crescimento. Elas estiveram lá para ouvir minhas preocupações, me encorajar nos momentos difíceis e comemorar as conquistas alcançadas. Espero que nossos caminhos continuem se cruzando no futuro e que possamos continuar compartilhando sucessos, desafios e alegrias.

Aos funcionários de campo do Programa de Melhoramento Genético de Cana-de-açúcar (PMGCA) pela ajuda e dedicação. Sem a ajuda desse ótimo grupo, o desenvolvimento do projeto não teria sido possível.

Aos meus amigos Israel, Otavio e Maira pela ajuda prestada durante o desenvolvimento do projeto e pelos ensinamentos fornecidos.

À minha colega de mestrado Carla Midori pela disposição em ajudar, pelas conversas e pelos momentos compartilhados que tornaram essa experiência única.

A todos aqueles que de alguma forma me ajudaram a concluir esse objetivo.

SUMÁRIO

ÍNDICE DE TABELAS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
INTRODUÇÃO.....	1
OBJETIVOS	3
REVISÃO DA LITERATURA	4
LITERATURA CITADA.....	8
CAPÍTULO 1. EFEITO DA ESCALDADURA-DAS-FOLHAS EM UM CAMPO COMERCIAL DE CANA-DE-AÇÚCAR NO BRASIL	11
1. Resumo.....	11
2. Introdução.....	12
3. Materiais e Métodos	14
3.1. Incidência da escaledadura-das-folhas	14
3.1.1. Material vegetativo	14
3.1.2. Incidência visual de escaledadura-das-folhas	14
3.1.3. Diagnóstico molecular de <i>X. albilineans</i>	15
3.2. Número de colmos de cana-de-açúcar mortas por escaledadura-das- folhas.....	16
3.2.1. Amostragem.....	16
3.2.2. Diagnóstico molecular de <i>X. albilineans</i>	17
3.3. Efeito da escaledadura das folhas no peso de touceiras de cana-de- açúcar.....	17
3.3.1. Peso das touceiras de cana-de-açúcar	17
3.3.2. Diagnóstico molecular de <i>X. albilineans</i>	18
3.4 Análise estatística	18
4. Resultados e Discussão	18
5. Conclusões	29
6. Literatura citada.....	29
CAPÍTULO 2. AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À ESCALDADURA-DAS-FOLHAS EM VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR.....	33

1. Resumo	33
2. Introdução.....	34
3. Materiais e Métodos	35
3.1. Material vegetal.....	35
3.2. Diagnóstico pré-plantio	35
3.3. Obtenção de mudas.....	36
3.4. Isolamento de <i>X. albilineans</i> e preparo do inóculo.	37
3.5. Inoculação.....	39
3.6. Avaliação da doença	40
3.6.1. Classificação visual das variedades de acordo com sua reação a escaldadura-das-folhas.....	40
3.6.2. Severidade da doença	41
3.7. Delineamento estatístico e análise dos dados	42
4. Resultados e Discussão	42
5. Conclusões.....	55
6. Literatura citada	55
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	58

ÍNDICE DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1. Incidência de escaledadura-das-folhas na variedade RB9669288 cana planta, em um campo comercial de 10 meses de idade.....	19
Tabela 2. Número de colmo por touceira de cana-de-açúcar em função de seu estado fitossanitário de escaledadura-das-folhas.....	22
Tabela 3. Peso de touceira de cana-de-açúcar em função de seu estado fitossanitário de escaledadura-das-folhas.....	24
Tabela 4. Peso por colmo de cana-de-açúcar em função de seu estado fitossanitário de escaledadura-das-folhas.....	25

Capítulo 2

Tabela 1. Escala de avaliação para determinar a gravidade da doença escaledadura-das-folhas.....	43
Tabela 2. Avaliação da resistência à escaledadura-das-folhas em 10 cultivares de cana-de-açúcar utilizando a classificação visual do desenvolvimento de sintomas sistêmicos.....	44
Tabela 3. Severidade de escaledadura-das-folhas em dez variedades de cana-de-açúcar aos 35 dias após a inoculação.....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1. Sintomas de escaldadura-das-folhas observados no campo comercial de cana-de-açúcar, utilizados para avaliar a incidência visual. A: Estrias paralelas à nervura da folha de cor branca B: Brotações laterais com sintomas visíveis. C: Folhas necróticas.....	15
Figura 2. Material vegetativo do campo A com alta severidade de escaldadura-das-folhas; campo B de referência.....	17
Figura 3. Avaliação do número de colmo por touceiras dos diferentes campos de cana-de-açúcar da variedade RB9669288.....	17
Figura 4. Processo de pesagem das touceiras do campo comercial da variedade RB9669288 cana planta.....	18
Figura 5. Relação entre o número de colmos por touceira de cana-de-açúcar e seu estado fitossanitário de escaldadura-das-folhas	23
Figura 6. Relação entre o peso por touceira de cana-de-açúcar e seu estado fitossanitário de escaldadura-das-folhas.....	25
Figura 7. Relação entre o peso por cana e seu estado fitossanitário de escaldadura-das-folhas.....	26

Capítulo 2

Figura 1. Preparação de mudas de cana-de-açúcar das dez variedades RBs...	38
Figura 2. Procedimento para o isolamento de <i>Xanthomos albilineans</i> . A: Amostra utilizada para o isolamento; B: Procedimento de desinfecção; C: Crescimento da bactéria a partir do tecido vegetal; D: Replicação da bactéria suspeita de ser <i>X albilineans</i> para outra placa.....	39
Figura 3. Controles: 1- N1 (10^9 CFU/mL); 2 - N2 (10^8 CFU/mL); 3 - N3 (10^7 CFU/mL); 4 – N4 (10^6 CFU/mL); 5 - Controle negativo. Outros poços: dos poços 6 até a posição 13 da linha 3: amostras provenientes de Araras; dos poços 1 da linha 4 até os poços 1 da linha 8: amostras provenientes de Valparaíso.....	39
Figura 4. Concentração do inóculo inicial (UFC/ml) por contagem de colônias através de diluição seriada em meio XAS.....	40

Figura 5. Processo de inoculação de <i>X. albilineans</i> nas variedades RBs. A: Água destilada usada como controle; B: Inoculação com água destilada nas plantas de controle; C: Desinfecção das tesouras com álcool; D: Inoculação com a bactéria <i>X. albilineans</i> ; E: Decapitação das plantas com tesouras previamente imersas na bactéria; F: Aplicação de 100 µL da suspensão bacteriana na área cortada; G: Câmara úmida.....	41
Figura 6. Escala de classificação para avaliar os sintomas de escaldadura-das-folhas.....	42
Figura 7. Reação da variedade RB9669288 à escaldadura-das-folhas. A: Duplicata um; B: Duplicata dois.....	45
Figura 8. Reação da variedade RB92579 à escaldadura-das-folhas. A: Duplicata um; B: Duplicata dois.....	45
Figura 9. Reação de variedades classificadas como resistentes. Duplicata um; A: Variedade RB985476; B: RB975033; C:RB975952.....	46
Figura 10. Reação de variedades classificadas como resistentes. Duplicata dois; A: Variedade RB985476; B: RB975033; C:RB975952.....	46
Figura 11. Reação da variedade RB975242 à escaldadura-das-folhas. A: Duplicata um; B: Duplicata dois.....	47
Figura 12. Reação da variedade RB005014 à escaldadura-das-folhas. A: Duplicata um; B: Duplicata dois.....	48
Figura 13. Reação de variedades classificadas como moderadamente suscetíveis. Duplicata um; A: Variedade RB855156; B: RB975201; C:RB867515.....	49
Figura 14. Reação de variedades classificadas como moderadamente suscetíveis. Duplicata dois; A: Variedade RB855156; B: RB975201; C:RB867515.....	49
Figura 15. Classificação visual das reações das variedades à escaldadura-das-folhas.....	50
Figura 16. Variedades de cana-de-açúcar controle inoculadas com água: 1:RB92579; 2:RB9669288; 3:RB855156; 4:RB975201; 5:RB867515; 6: RB975242; 7: RB005014; 8: RB985476; 9: RB975033; 10: RB975952.....	51

Figura 17. Severidade de escaldadura-das-folhas nas variedades de cana-de-açúcar de acordo com a classificação visual dos sintomas.....	55
--	----

EFEITO DA ESCALDADURA-DAS-FOLHAS EM UM CAMPO COMERCIAL DE CANA- DE -AÇÚCAR NO BRASIL E REAÇÃO DE VARIEDADES

Autor: CLAUDIA ELIZABETH BOGADO GONZALEZ

Orientador: Prof. Dr. ALFREDO SEITI URASHIMA

RESUMO

A escaldadura-das-folhas (LSD) na indústria da cana-de-açúcar no Brasil é uma doença que, apesar de sua prevalência em todas as regiões produtoras do país, tem recebido atenção insuficiente. Essa doença, causada pela bactéria *Xanthomonas albilineans*, representa um risco significativo para o cultivo devido à sua capacidade de se espalhar rapidamente, principalmente devido ao seu estado de latência, o que a torna uma ameaça, especialmente em materiais de plantio. No Brasil, não há informações sobre os danos causados pela LSD nas plantações comerciais do país, o que levou a subestimar seus impactos na qualidade e produção da cultura. No entanto, é importante destacar que em outros países foram realizados estudos que ressaltaram o impacto negativo da LSD na diminuição da produtividade. Portanto, torna-se fundamental compreender em detalhes o efeito da LSD nas plantações comerciais brasileiras. Em nível global, a utilização de variedades resistentes é recomendada como a principal estratégia para controlar a doença. No entanto, devido à falta de informações suficientes sobre a resistência ou susceptibilidade das variedades de cana-de-açúcar cultivadas no Brasil, os produtores têm dificuldade em optar por esse método de controle. Por esse motivo, os objetivos do trabalho foram determinar o efeito da escaldadura-das-folhas em uma plantação comercial de cana-de-açúcar no Brasil e a reação das variedades. A comparação entre dois campos próximos da mesma variedade permitiu estimar a incidência de LSD de 61% no campo afetado, morte de toletes de 48,5% e quebra de peso de touceiras de 57%. Além disso, por meio da inoculação por decapitação, as variedades RB92579 e RB966928 foram classificadas como as mais suscetíveis, enquanto as variedades RB975033, RB975952 e RB985476 foram identificadas como as mais resistentes.

Palavras-chave: inoculação, resistência, *Saccharum spp*, *Xanthomonas albilineans*.

EFFECT OF LEAF SCALD IN A COMMERCIAL SUGAR CANE FIELD IN BRAZIL AND REACTION OF VARIETIES

Author: CLAUDIA ELIZABETH BOGADO GONZALEZ

Adviser: Prof. Dr. ALFREDO SEITI URASHIMA

ABSTRACT

Leaf scald (LSD) in the sugarcane industry in Brazil is a disease that, despite its prevalence in all producing regions of the country, has received insufficient attention. This disease, caused by the bacterium *Xanthomonas albilineans*, represents a significant risk to crops due to its ability to spread quickly, mainly due to its latency state, which makes it a threat, especially in planting materials. In Brazil, there is no information about the damage caused by LSD in the country's commercial plantations, which has led to an underestimation of its impacts on the quality and production of the crop. However, it is important to highlight that studies have been carried out in other countries that highlighted the negative impact of LSD on reducing productivity. Therefore, it is essential to understand in detail the effect of LSD on Brazilian commercial plantations. At a global level, the use of resistant varieties is recommended as the main strategy to control the disease. However, due to the lack of sufficient information about the resistance or susceptibility of sugarcane varieties grown in Brazil, producers have difficulty opting for this control method. For this reason, the objectives of the work were to determine the effect of leaf scald on a commercial sugarcane plantation in Brazil and the reaction of the varieties. The comparison between two nearby fields of the same variety allowed us to estimate an incidence of LSD of 61% in the affected field, death of setts of 48.5% and weight loss of clumps of 57%. Furthermore, through decapitation inoculation, varieties RB92579 and RB966928 were classified as the most susceptible, while varieties RB975033, RB975952 and RB985476 were identified as the most resistant.

Key-words: inoculation, resistance, *Saccharum spp*, *Xanthomonas albilineans*

INTRODUÇÃO

O cultivo de cana-de-açúcar desempenha um papel de suma importância para o Brasil, posicionando-o como líder mundial nesta indústria, com uma área de produção de 8,3 milhões de hectares, representando um aumento de 4% em comparação com a safra anterior. Sua contribuição para a economia brasileira é destacada, incluindo setores-chave como açúcar, etanol e bioenergia. O país se destaca como o maior produtor mundial de açúcar, com um volume de produção de 38.77 milhões de toneladas de açúcar previsto para a safra 2023/24, o que representaria um aumento de 4.7% em relação à colheita anterior (CONAB, 2023). Além disso, o uso de etanol produzido a partir de cana-de-açúcar tem permitido reduzir a emissão de gases de efeito estufa. Em comparação com a gasolina, o biocombustível emite até 90% menos de CO₂ (UNICA, 2023). O uso de bagaço e palha da cana-de-açúcar tornaram-se uma valiosa fonte de matéria-prima para a geração de bioeletricidade nas usinas brasileiras, trazendo benefícios significativos tanto para as próprias instalações como para a rede elétrica nacional (UNICA, 2023).

As doenças são um dos principais fatores que contribuem para a baixa produtividade do cultivo de cana-de-açúcar. Entre elas, destaca-se a escaldadura-das-folhas, causada pela bactéria *Xanthomonas albilinean* Ashby) Dowson (DAVIS *et al.*, 1997) que no Brasil tem sido pouco estudada em comparação com outras regiões, onde tem-se observado que essa doença tem um impacto significativo na produção de cana-de-açúcar. Em Guadalupe, Rott *et al.*, (1995), observaram uma diminuição na produtividade de 12% a 21% nas variedades B69566 e B69379, respectivamente. Em Louisiana, durante uma pesquisa em 80 plantações de cana-de-açúcar, verificou-se que as culturas afetadas pela escaldadura-das-folhas apresentavam menor quantidade de colmos aproveitáveis, menor rendimento e menor teor de sacarose por hectare (HOY e GRISHAM, 1994). Em Veracruz, México, observou-se uma alta incidência dessa doença, causando uma queda de produtividade de 12,01 a 14,56 toneladas por hectare. Na China, atualmente, essa doença é considerada a mais importante em quarentena, após sua detecção na principal zona de produção de cana-de-açúcar desse país (GOVINDARAJU *et al.*, 2019). Em relação ao Brasil, as informações sobre os danos causados pela escaldadura-das-folhas nos campos comerciais são limitadas, o que tem levado a não se dar a devida importância a essa doença. Portanto, é fundamental realizar pesquisas detalhadas sobre os efeitos da

escaldadura-das-folhas nas plantações de cana-de-açúcar brasileiras. Ao conhecer os impactos dessa doença nas plantações, será possível conscientizar os agricultores sobre sua relevância e incentivá-los a adotar medidas adequadas de controle, como o uso de variedades resistentes e mudas livres da doença. Dessa forma, o setor produtivo estará preparado para enfrentar os desafios impostos pela escaldadura-das-folhas, assegurando a qualidade e a produção de cana-de-açúcar no Brasil.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Determinar o efeito da escaldadura-das-folhas em uma plantação comercial de cana-de-açúcar no Brasil e a reação das variedades

Objetivos específicos

- Avaliar a incidência da escaldadura-das-folhas em um campo comercial de cana-de-açúcar.
- Determinar a redução no número de colmo em touceira de cana-de-açúcar afetada por escaldadura-das-folhas.
- Determinar a redução no peso de touceira de cana-de-açúcar afetada por escaldadura-das-folhas.
- Avaliar a resistência de 10 variedades de cana-de-açúcar RBs à escaldadura-das-folhas pela avaliação dos sintomas visíveis associados à doença.

REVISÃO DA LITERATURA

A cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) é um cultivo pertencente à família das gramíneas. Este cultivo se destaca por sua alta eficiência fotossintética, o que se traduz em uma grande produção de biomassa energética, obtendo quantidades significativas de açúcar e fibra em ciclos de tempo mais curtos em comparação com outras espécies, tornando-se a principal matéria-prima para a produção de açúcar e etanol em todo o mundo (RICAUD e RYAN, 1989; ITURRA *et al.*, 2011). O cultivo da cana-de-açúcar no Brasil passou por um processo dinâmico e transformador desde a sua descoberta. Inicialmente, foi estabelecido em pontos específicos do território onde os solos e o clima eram propícios. No entanto, com os avanços na agricultura e técnicas de cultivo, agora é possível cultivar cana-de-açúcar em áreas geográficas muito mais amplas. (ITURRA *et al.*, 2011; CONAB, 2023).

No contexto atual, o Brasil se consolidou como um líder destacado no cultivo de cana-de-açúcar, com especial ênfase no estado de São Paulo, que é o maior produtor de cana-de-açúcar no país. Segundo a análise realizada pela Conab no mês de maio/junho de 2023 no Brasil, houve um impressionante crescimento de 3.4% na produção durante a safra 22/23, em comparação com o período anterior, resultando em uma área de produção de 8,3 milhões de hectares. Esse notável aumento ocorreu principalmente na região sudeste, que obteve um incremento de 4% em relação à safra 21/22, graças a um aumento significativo na produtividade (CONAB, 2023). A cana-de-açúcar tornou-se uma cultura de grande valor econômico para o Brasil, contribuindo em vários setores, sendo os principais o açúcar, o etanol e a bioenergia (SILVIA *et al.*, 2014).

Se estima que existem aproximadamente 424 usinas de açúcar e etanol no Brasil, todas desempenhando um papel crucial na produção desses produtos. Do total de usinas, 100% são dedicadas à produção de etanol, enquanto 150 são destinadas especificamente à produção de açúcar (NOVACANA, 2023). O açúcar se tornou um dos commodities mais importantes dentro da agroindústria do país, com uma participação de cerca de 23% na produção mundial, destacando-se como o principal produtor de açúcar a nível global. Além disso, estima-se que cerca de 70% do açúcar produzido no Brasil é destinado à exportação, o que representa 42% das exportações mundiais (UNICA, 2023). Durante a safra 2022/23, as exportações de açúcar atingiram um total de 22.1 milhões de toneladas. Recentemente, as exportações de

açúcar tiveram um aumento notável, alcançando um crescimento de quase 150% de abril a maio, o que equivale a mais do que o dobro do volume exportado no mesmo período do ano anterior (CONAB, 2023).

A cana-de-açúcar desempenha um papel fundamental no setor de produção de etanol no Brasil. Esse biocombustível limpo e de baixo teor de carbono é destinado principalmente ao mercado interno, sendo comercializado como etanol puro (etanol hidratado) ou misturado com gasolina (etanol anidro). Devido às suas características, o etanol de cana-de-açúcar ganhou destaque no setor de transporte ao permitir uma redução significativa nas emissões de gases de efeito estufa, chegando a até 90% em comparação com os combustíveis fósseis (UNICA, 2023). No primeiro levantamento da safra 2023/24, estima-se que a produção brasileira de etanol a partir de cana-de-açúcar atingirá 27.53 bilhões de litros, um aumento de 0,6% em relação à safra anterior, que alcançou 27.37 bilhões de litros (CONAB, 2023).

Na matriz energética brasileira, a bioeletricidade gerada a partir da cana-de-açúcar se posiciona como a quarta fonte mais importante de energia elétrica. Graças a esse processo, as usinas de cana-de-açúcar conseguem ser energeticamente autossuficientes, produzindo uma quantidade de eletricidade que supera suas próprias necessidades. No ano de 2020, essas usinas forneceram à rede elétrica mais de 22.600 GWh, representando aproximadamente 5% das necessidades elétricas do Brasil (UNICA, 2023). A produção de bioeletricidade a partir da biomassa de cana-de-açúcar tem benefícios significativos tanto em termos ambientais quanto energéticos. Ela contribui para diversificar a matriz energética do país, reduzindo a dependência de fontes não renováveis, e também permite aproveitar de forma eficiente os resíduos da cana-de-açúcar para a geração de energia limpa e sustentável. A bioeletricidade da cana-de-açúcar desempenha um papel importante na transição para um sistema energético mais limpo e na redução das emissões de gases de efeito estufa, posicionando o Brasil como referência no aproveitamento da biomassa para geração de eletricidade (DOMINGOS, 2019).

O crescimento contínuo em novas áreas de produção de cana-de-açúcar para a próxima safra 2023/2024 é animador devido ao aumento projetado de 4,4% na produção (CONAB, 2023). Essa expansão da área cultivada e o aumento da produtividade são medidas estratégicas para aumentar a produção e atender à crescente demanda. No entanto, esse constante aumento de novas áreas também levanta preocupações para os pesquisadores envolvidos nessa indústria. É

necessário prestar especial atenção à propagação de doenças importantes que podem surgir através das mudas utilizadas nessa expansão. Entre elas, destaca-se a escaldadura-das-folhas, causada pela bactéria *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson (RICAUD e RYAN, 1989; DAVIS *et al.*, 1997), pertencente ao gênero *Xanthomonas*, que agrupa exclusivamente bactérias gram-negativas com impacto significativo em culturas de importância econômica (PIERETTI *et al.*, 2015). Desde sua descoberta, a presença dessa doença foi registrada em mais de 60 países produtores de cana-de-açúcar (ROTT e DAVIS, 2000; RAO *et al.*, 2004), incluindo o Brasil. No nosso país, a doença foi relatada pela primeira vez no ano de 1994, quando estava amplamente disseminada no estado de São Paulo, suspeitando-se que sua introdução tenha ocorrido entre os anos de 1926 e 1930, proveniente da Austrália (ALMEIDA, 1994).

A bactéria *X. albilineans*, reconhecida como uma doença vascular bacteriana da cana-de-açúcar na década de 1920, tem a notável capacidade de colonizar os vasos das plantas e se propagar sistematicamente através de seus tecidos vegetais. Sua versatilidade e agressividade se manifestam ao poder infectar também as células do parênquima (ROTT e DAVIS, 2000; MENSI *et al.*, 2014; EMBRAPA, 2023). A planta uma vez infectada pode induzir diversos sintomas nas folhas e colmos durante a progressão da doença, caracterizando-se por apresentar três formas diferentes de sintomas. Na forma crônica, observam-se estrias cloróticas paralelas à nervura da folha, que variam em tamanho e coloração, desde linhas estreitas de cor branca a amarela, com necrose limitada e extensa. Também podem ser observados colmos raquíticos e brotações laterais, devido à infecção dos vasos condutores (TOKESHI, 1980; ROTT e DAVIS, 2000). Já na fase aguda, pode causar a morte repentina de toda a planta, principalmente em variedades suscetíveis. Geralmente, os colmos mortos apresentam alguns sintomas da fase crônica, especialmente as brotações laterais. No caso das plantas assintomáticas, elas morrem como se tivessem sido afetadas pela seca (RICAUD e RYAN, 1986).

Um dos desafios para combater a escaldadura-das-folhas é sua fase de latência, que é uma característica particular dessa doença. Durante essa fase, as plantas podem abrigar a bactéria sem mostrar sintomas visíveis evidentes por semanas ou meses. No entanto, uma vez que a bactéria sai dessa fase, os danos causados pela escaldadura-das-folhas podem ser observados repentinamente (HOY e GRISHAM, 1994; ROTT e DAVIS, 2000). O fim dessa fase de latência tem sido

atribuído a fatores de estresse, como condições climáticas e nutricionais, de acordo com alguns estudos nos quais foi observado que condições como secas favoreciam o desenvolvimento severo da doença (GOVINDARAJU *et al.*, 2019).

Esta fase dificulta o diagnóstico da doença e favorece sua disseminação, permitindo que o material de plantação infectado, que aparenta estar saudável, seja utilizado em novos locais. Como resultado, a escaldadura-das-folhas é disseminada para áreas onde estão em andamento projetos de reforma, pois o material infectado, embora assintomático, é erroneamente considerado sadio e adequado para uso (HOY e GRISHAM, 1994; URASHIMA e ZAVAGLIA, 2012). Uma vez que a doença se estabelece nos campos de produção, sua disseminação é favorecida pelas ferramentas de corte, seja por facão ou maquinaria de colheita (RICAUD e RYAN, 1989). Isso ocorre porque a bactéria responsável pode sobreviver por até seis dias nessas ferramentas, o que desempenha um papel crucial na transmissão da doença (TOKESHI, 1980). Essa situação se torna ainda mais preocupante no Brasil, onde mais de 91.8% das colheitas são realizadas por maquinaria mecanizada (CONAB, 2019).

Além disso, no Brasil, não existem informações sobre os danos causados pela escaldadura-das-folhas nos campos comerciais do país, o que tem levado à subestimação de seus impactos na qualidade e produção da cultura, como já foi observado em pesquisas realizadas em Guadalupe, México, ou Louisiana, onde se verificou que a presença da doença afeta os componentes de rendimento industrial, reduzindo os graus Brix e a concentração de sacarose no caldo de cana-de-açúcar, o que afeta sua qualidade (HUERTA *et al.*, 2003; PÉREZ *et al.*, 2017). A falta de conhecimento sobre a importância da doença da escaldadura-das-folhas no Brasil tem levado os produtores a negligenciarem as medidas de controle preventivas, como o uso de mudas livres da doença, que é uma estratégia eficaz para prevenir a propagação da doença dentro dos campos comerciais e evitar sua disseminação para novas áreas de produção (ROA *et al.*, 2004). Embora as variedades resistentes tenham sido identificadas como o método mais eficaz para controlar a escaldadura-das-folhas, é preocupante que no Brasil não haja estudos demonstrando a resistência ou susceptibilidade das principais variedades cultivadas nos campos comerciais. Pesquisas anteriores, como a realizada por Huerta *et al.* (2003) no México, revelaram que a presença de variedades suscetíveis a essa doença apresentou altas taxas de incidência, chegando a atingir até 50.60%, o que resultou em quedas consideráveis

na produtividade, variando entre 12,01 e 14,56 toneladas por hectare. No Brasil, não se conhece quais variedades poderiam enfrentar uma situação similar devido à falta de pesquisa para compreender o comportamento das variedades em relação a esta doença. Portanto, é difícil implementar essa medida de controle.

LITERATURA CITADA

- ALMEIDA, M. **Bacterial diseases of sugarcane in Brazil**. In: Rao G.; Gillaspie, J.; Upadhyaya, P.; Bergamin, A.; Agnihotri, V.; Chen, C. (Eds) Current trends in sugarcane pathology. International Books y Periodicals Supply Service, India. pp 73-77, 1994.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento (2019). **Acompanhamento da safra brasileira: cana- de-açúcar, safra 2019/2020**- Primeiro levantamento/ Maio 2019.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de cana- de-açúcar, safra 2023/24** - Primer levantamento, 2013.
- DAVIS, M.; ROTT, P.; WARMUTH, C.; CHATENET, M.; BAUDIN, P. Intraspecific genomic variation within *Xanthomonas albilineans*, the sugarcane leaf scald pathogen. **Phytopathology**, v. 87, n. 3, p. 316–324, 1997.
- DOMINGOS, Z. **O impulso que vem do canavial**, 2019. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/o-impulso-que-vem-do-canavial/>. Acesso em: 28 julho 2023.
- EMBRAPA. **Doenças bacterianas**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/producao/manejo/fitossanidade/doencas/doencas-bacterianas>. Acesso em: 25 julho. 2023.
- GOVINDARAJU, M.; Li, Y.; ZHANG, M. **Emerging bacterial disease (leaf scald) of sugarcane in China: pathogenesis, diagnosis, and management**. Intech Open 14 pp. 2019. DOI <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.88333>
- HOY, J; GRISHAM, M. Sugarcane leaf scald distribution, symptomatology, and effect on yield in Louisiana. **Plant Disease**, v.78, p. 1083-1087, 1994.
- HUERTA-LARA, M.; ARENAS, L.; SANCHEZ, C.; FUCIKOVSKY-ZAK. L.; GARCIA, M. Resposta de 10 variedades de cana-de-açúcar à escaldadura foliar de

- Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson na região costeira central de Veracruz. **Agrociência**, v. 37, n. 5, p. 511-519, 2003.
- ITURRA, A. R.; SILVA, F. C.; DÍAZ-AMBRONA, C. G. Análise da evolução da produção de cana-de-açúcar e etanol no Brasil.. **Bioenergia em revista:diálogos**, v. 1, n. 2, p. 31–50, 2011.
- MENSI, I.; VERNERAREY, M.; GARGANI, D; NICOLE, M.; ROTT, P. Breaking dogmas: The plant vascular pathogen *Xanthomonas albilineans* able to invade non-vascular tissues despite its reduced genome. **Open Biology**, v. 4, p. 1-12, 2014.
- NOVACANA. **As usinas de Açúcar e Etanol do Brasil**. 2023. Disponível em: <https://www.novacana.com>. Acesso em: 25 julho 2023.
- PIRETTI, I.; PESIC, A.; PETRAS, D.; ROYER, M.; SUSSMUTH, R.; COCIANCICH, S. What makes *Xanthomonas albilineans* unique amongst *Xanthomonads*? **Frontiers in Plant Science**, v.6, p.289, 2015.
- RAO, G.P. Sugarcane Pathology. In: Rao, G.; Saumtally, A.; Rott, P. Bacterial and Nematode Diseases. 1.ed. CRC Press. 2004. p. 65-73.
- RICAUD, C; RYAN, C. **Leaf scald**. En Ricaud C, Egan BT, Gillaspie AGJr, Hughes CG (Eds.) Diseases of sugarcane. Major diseases. Elsevier. Amsterdam, Holanda. pp. 39- 58, 1989.
- ROTT, P.; DAVIS, M.J. **Leaf scald**. In A Guide to Sugarcane Diseases; Rott, P., Bailey, R.A., Comstock, J.C., Croft, B.J.,Saumtally, S., Eds.; CIRAD/ISSCT: Montpellier, France, pp. 38–44, 2000.
- SILVA, M.; ARANTES, M.; RHEIN, A.; GAVA, G.; KOLLN, O. Potencial produtivo da cana-de-açúcar sob irrigação por gotejamento em função de variedades e ciclos. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, p. 241-249, 2014.
- TOKESHI, H. **Doenças da Cana-de-açúcar**. In:GALLI ,F.; CARVALHO, P.; TOKESHI, H.; BALMER,E.; KIMATI,H.;CARDOSO, C.; SALGADO, C.; KRUGNER, T.; CARDOSO, E.; FILHO, A. (Ed.). Manual de Fitopatologia. 2 ed. São Paulo, 1980. 146-149 p.
- UNICA, União da Indústria da Cana-de-açúcar (2023) **Bioeletricidade**. Disponível em <https://unica.com.br/setor-sucroenergetico/acucar/>Acesso em: 25 julho 2023.

URASHIMA, A; AVAGLIA, C. Comparação de dois métodos diagnósticos de escaldadura- das-folhas (*Xanthomonas albilineans*) da cana-de-açúcar. **Summa Phytopathologica**. v.38, n.2, p. 155-158, 2012.

CAPÍTULO 1. EFEITO DA ESCALDADURA-DAS-FOLHAS EM UM CAMPO COMERCIAL DE CANA-DE-AÇÚCAR NO BRASIL

Autor: CLAUDIA ELIZABETH BOGADO GONZALEZ

Orientador: Prof. Dr. ALFREDO SEITI URASHIMA

1. Resumo

A escaldadura-das-folhas é uma das principais doenças que afetam o cultivo da cana-de-açúcar em todo o mundo, causando danos significativos nas plantações e resultando em perdas importantes nos campos agrícolas. No entanto, ainda existe uma falta de conhecimento em relação ao seu efeito prejudicial nas plantações de cana-de-açúcar do Brasil, o que levou a subestimar a importância dessa doença no setor. Portanto, o objetivo deste trabalho foi demonstrar a importância da escaldadura-das-folhas em um campo comercial de cana-de-açúcar com ataque severo da doença. Este estudo foi realizado em um campo comercial de cana-de-açúcar da variedade RB9669288, que apresentava uma alta severidade de escaldadura-das-folhas. Foram amostrados cinco pontos aleatórios e em cada ponto foi medida uma linha reta de cinco metros do sulco de plantio para avaliar a incidência da doença. Também foram coletadas 20 touceiras assintomáticas e sintomáticas, que foram utilizadas para medir os parâmetros do número de colmos e a perda de produtividade associada à presença da doença. Além disso, foi utilizado um campo de cana sem escaldadura-das-folhas da mesma variedade, com idade semelhante e em talhão próximo, que foi usado como referência, o qual foi estabelecido com mudas de origem diferente daquelas do primeiro campo. Os resultados revelaram uma alta incidência visual da doença no campo comercial, atingindo uma porcentagem de 48,80%. Nas touceiras sintomáticas, observou-se redução de 43% e nas touceiras assintomáticas 49% no número de colmos em relação ao campo de referência. Os resultados mostraram uma redução no peso de touceiras de 54,2% (em touceiras sintomáticas) e 56,9% (em touceiras assintomáticas), respectivamente. Esses números destacam os danos que a doença pode causar após se instalar em um campo comercial de cana-de-açúcar. Esse dano causado pela escaldadura-das-folhas poderia ter sido evitado com o uso de mudas sadias.

Palavras-chave: incidência, latência, *Saccharum spp.*, *X. albilineans*.

2. Introdução

A escaldadura-da-folha é uma das principais limitações para o cultivo de cana-de-açúcar em todo o mundo (ROTT *et al.*, 1995). Essa doença é causada pela bactéria *Xanthomonas albilineans*, (Ashby) Dowson (DAVIS *et al.*, 1997), que pertence a um grupo de bactérias gram-negativas com um impacto considerável na agricultura (PIERETTI *et al.*, 2015). Foi registrada pela primeira vez na Austrália em 1911 por North, e desde então foram relatados vários novos casos de escaldadura-das-folhas em diferentes regiões do mundo, incluindo o Caribe, Índia, América do Norte e vários países africanos (RICAUD e RYAN, 1989). Atualmente, a doença está presente em mais de 66 países ao redor do mundo, incluindo Brasil, Índia e China, que são os principais produtores de cana-de-açúcar (ROTT e DAVIS, 2000; LING *et al.*, 2018). Essa ampla distribuição geográfica torna a escaldadura-das-folhas uma ameaça global para a produção de cana-de-açúcar.

A escaldadura-das-folhas, identificada como uma doença vascular na década de 1920, é caracterizada por sua capacidade de colonizar os vasos das plantas e se propagar sistematicamente pelos tecidos vegetais, resultando em danos significativos (ROTT e DAVIS, 2000; EMBRAPA, 2023). Como resultado da colonização da bactéria, as plantas infectadas de cultivares suscetíveis começam a manifestar sintomas característicos da doença (ROTT *et al.*, 1997; ROTT *et al.*, 2011).

Esses sintomas causados pela doença podem se manifestar de duas formas diferentes, causando vários sintomas tanto nas folhas como nos colmos. Na forma crônica da doença, observam-se faixas cloróticas paralelas às nervuras das folhas, que variam em tamanho e cor, desde linhas estreitas de cor branca a amarela, até necrose limitada e extensa. Além disso, os colmos podem se tornar raquíticos e desenvolver brotações laterais devido à infecção dos feixes vasculares (TOKESHI, 1980; ROTT; DAVIS, 2000). Em contraste, na fase aguda, ocorre um murchamento repentino e a morte de colmos maduros, muitas vezes sem expressão prévia de sintomas; plantas inteiras ou grandes áreas do campo podem ser afetadas dessa maneira (RICAUD e RYAN, 1986).

X. albilineans possui uma característica particular, que é a fase de latência, durante a qual a bactéria pode permanecer indetectável por vários meses em plantas infectadas, mas sem mostrar sintomas. Esse período de latência chega ao fim por razões desconhecidas, o que pode resultar em surtos graves da doença e perdas na

produção (HOY e GRISHAM, 1994; ROTT e DAVIS, 2000). No entanto, algumas pesquisas observaram que fatores de estresse, como condições climáticas e nutricionais, podem estar associados ao término dessa fase. Por exemplo, Govindaraju *et al.* (2019) observaram que a seca favorece o desenvolvimento severo da doença.

Uma das principais formas de disseminação do patógeno é através de mudas infectadas em que a bactéria está em fase de latência, o que facilita a propagação da escaldadura-das-folhas para áreas onde projetos de reforma estão sendo realizados, uma vez que o material infectado, embora assintomático, erroneamente considerado sadio e adequado para uso (HOY e GRISHAM, 1994; URASHIMA e ZAVAGLIA, 2012). Uma vez que a escaldadura-das-folhas é estabelecida em uma área de produção, sua propagação é facilitada pelo uso de ferramentas de corte, como facões ou colheitadeiras. Essas ferramentas, ao entrarem em contato com plantas infectadas, podem atuar como vetores, transportando a bactéria *X. albilineans* de uma planta afetada para outra saudável. É importante destacar que a sobrevivência dessa bactéria nos facões de corte desempenha um papel crucial na transmissão da doença. Estudos têm demonstrado que a bactéria pode permanecer viável nos facões por mais de 6 dias (TOKESHI, 1980). Essa preocupação é ainda mais relevante devido ao aumento da colheita mecanizada da cana-de-açúcar no Brasil, prevista em 92.4% (CONAB, 2023). Com esse aumento, as preocupações relacionadas a essa doença se intensificam, exigindo uma atenção especial para prevenir sua disseminação e possíveis impactos na produção de cana-de-açúcar.

Foram relatados casos em áreas produtoras de cana-de-açúcar onde a presença de *X. albilineans* causou danos significativos nas culturas, resultando em perdas significativas nos campos agrícolas (EMBRAPA, 2023). Estudos identificaram diversos fatores que contribuem para a diminuição do rendimento, como o crescimento lento dos colmos infectados, a redução no número de colmos adequados para a moagem e a diminuição do peso das plantas (HOY e GRISHAM, 1994). Além disso, foi observada uma diminuição nos níveis de Brix, sacarose e pureza do caldo nos colmos afetados por essa doença (PEREZ *et al.*, 2017). Adicionalmente, foram registradas perdas de 100% em variedades suscetíveis, destacando o impacto negativo dessa doença na produtividade das culturas (TOKESHI e RAGO, 2005).

Apesar de ter sido investigada a forma como a escaldadura-das-folhas entra na área de produção de cana-de-açúcar e serem conhecidos alguns danos causados por

essa doença em países produtores, ainda há uma lacuna de conhecimento em relação ao seu efeito prejudicial nos campos de cana-de-açúcar no Brasil. Atualmente, desconhece-se a magnitude das perdas causadas pela doença nos campos comerciais, bem como sua influência no rendimento e na qualidade da cana-de-açúcar. Essa falta de informação tem levado a uma subestimação da importância dessa doença no setor. Portanto, o objetivo deste trabalho é demonstrar o efeito da escaldadura-das-folhas em um campo comercial de cana-de-açúcar no Brasil.

3. Materiais e Métodos

3.1. Incidência da escaldadura-das-folhas

3.1.1. Material vegetativo

Foi coletado material vegetativo de um campo comercial de cana-de-açúcar da variedade RB9669288, com 10 meses de idade o 23 de fevereiro de 2023. Era um campo de cana planta localizado na região de São José do Rio Preto, nordeste do estado de São Paulo, que apresentava sintomas visíveis de escaldadura-das-folhas (Figura 1).

3.1.2. Incidência visual de escaldadura-das-folhas

A incidência visual da escaldadura-das-folhas foi avaliada por meio de uma amostragem aleatória utilizando um delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC). Foi selecionada uma área de dois hectares em um campo comercial de cana-de-açúcar, onde a severidade da escaldadura-das-folhas estava mais acentuada, sendo selecionados cinco pontos dessa área para ser avaliada. Em cada ponto foi medida uma linha reta de cinco metros do sulco de plantio e todos os colmos presentes nessa área foram avaliados. A incidência foi determinada pela identificação de colmos que apresentavam sintomas visíveis associados à presença de escaldadura-das-folhas. Esses sintomas eram caracterizados pela ocorrência de descoloração, clorose, linhas brancas estreitas e necrose nas folhas afetadas, além da presença de brotações laterais sintomáticas (Figura 1). A incidência foi medida através da equação:

$$li = (\sum ni * 100) / Ni \text{ (Huerta } et al., 2003; \text{ López } et al., 2017).$$

Onde:

li: porcentagem de incidência da doença

ni: número de plantas com sintomas visível da escaldadura-das-folhas

Ni: número total de plantas avaliadas

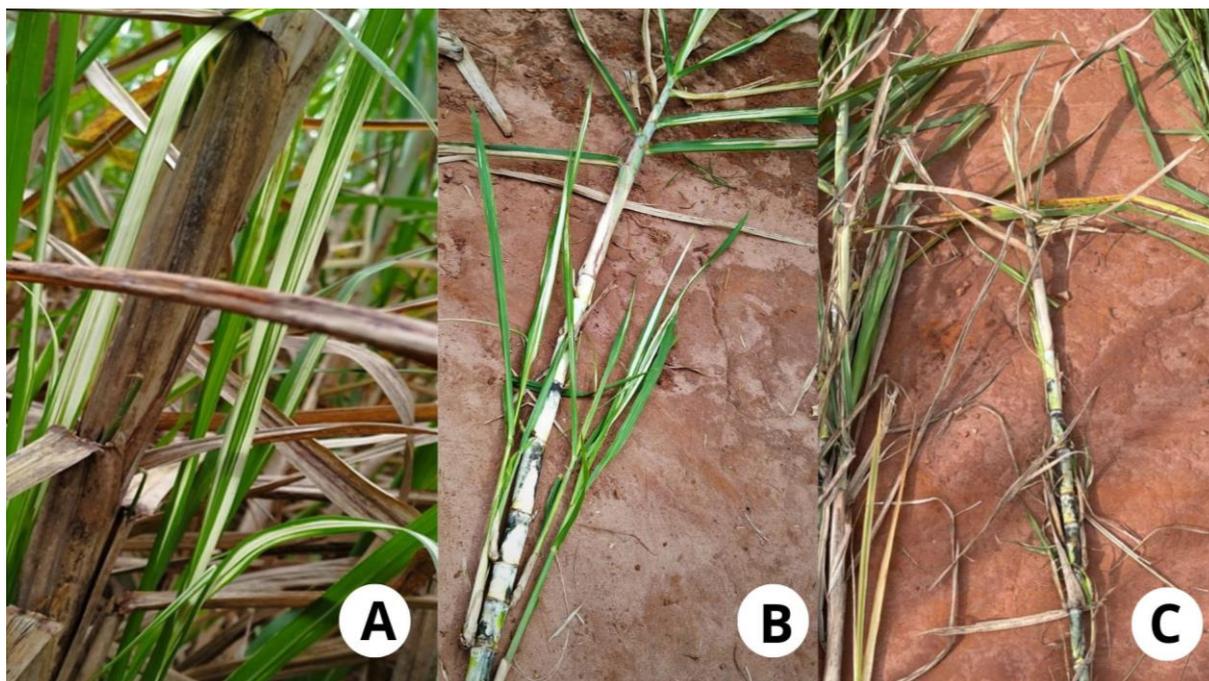


Figura 1. Sintomas de escaldadura-das-folhas observados no campo comercial de cana-de-açúcar, utilizados para avaliar a incidência visual. **A:** Estrias paralelas à nervura da folha de cor branca **B:** Brotações laterais com sintomas visíveis. **C:** Folhas necróticas

3.1.3. Diagnóstico molecular de *X. albilineans*

Foi realizada uma análise molecular das amostras sem sintomas de *X. albilineans* coletados nos cinco pontos amostrados, para determinar com precisão a porcentagem de área afetada pela escaldadura-das-folhas dentro do campo comercial de cana-de-açúcar. Isso ocorreu devido à característica dessa doença de ter uma fase de latência, que pode estar presente na área avaliada. Para fazer o diagnóstico molecular de *X. albilineans*, foi realizada a extração de DNA a partir dos colmos de cana-de-açúcar das amostras coletadas. Para isso, foram coletados pedaços da zona basal de cada colmo e o DNA total foi extraído seguindo o protocolo descrito por Murray e Thompson (1980). Posteriormente, foram preparadas as misturas de reação de PCR, utilizando os primers XAF1: 5'-CCT GGT GAT GAC GCT GGG TT-3' e XAR1: 5'-CGA TCA GCG ATG CAC GCA GT-3', conforme descrito por Wang *et al.* (1999). A amplificação de 600 pb com esses primers confirmou a presença de *X. albilineans*. As condições de amplificação foram; dez ciclos a 94°C por 45s para desnaturação; 65°C por 1 min para hibridização; e 72°C por 1 min para extensão. Seguiram-se 10 ciclos idênticos aos 10 anteriores, exceto por uma extensão de 2 min, e mais 10 ciclos com uma extensão de 3 min, com uma extensão final a 72°C por 10 min. Os produtos de amplificação foram visualizados por eletroforese em gel de agarose a 2% corado com brometo de etídio.

3.2. Número de colmos de cana-de-açúcar mortas por escaldadura-das-folhas

3.2.1. Amostragem

Foi utilizado material vegetativo do campo A (com alta severidade de escaldadura-das-folhas) e o B (usado como referência) ambas pertencentes à variedade de cana-de-açúcar RB9669288. Foi utilizado para avaliação um delineamento experimental completamente aleatório (DCA). O campo A consistia em plantas de cana-de-açúcar com 10 meses de idade, apresentando sintomas visíveis de escaldadura-das-folhas. Por outro lado, o campo B era composto por plantas de cana-de-açúcar com 9 meses de idade e não apresentava nenhum sintoma dessa doença (Figura 2). Embora as duas áreas estivessem próximas, as mudas utilizadas em cada área tinham origens diferentes.

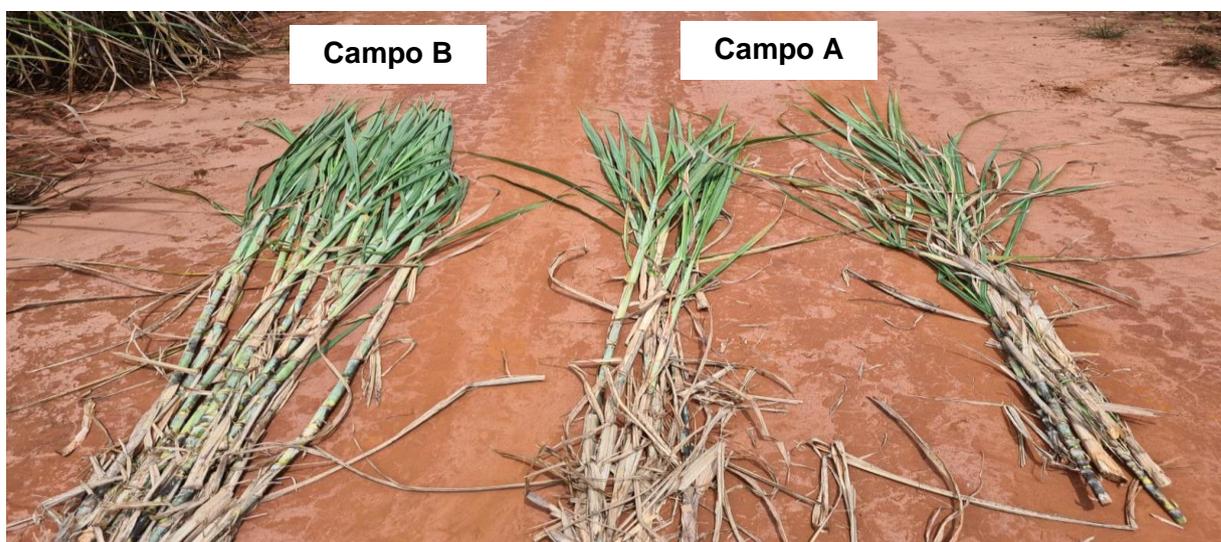


Figura 2. Material vegetativo do campo A com alta severidade de escaldadura-das-folhas; campo B de referência.

Para quantificar a variável do número de colmos, foi realizada uma amostragem no campo A e no campo B. No campo A, foram selecionadas aleatoriamente 20 touceiras com sintomas e 20 touceiras sem sintomas. Da mesma forma, foram amostradas 20 touceiras sem sintomas no campo B (campo de referência). Em cada uma das touceiras selecionadas, foi registrado o número de colmos presentes. Esse método de amostragem nos permitiu obter uma amostra representativa de ambos C campos e quantificar com precisão o número de colmos em cada touceira.



Figura 3. Avaliação do número de colmo por touceiras dos diferentes campos de cana-de-açúcar da variedade RB9669288.

3.2.2. Diagnóstico molecular de *X. albilineans*

De cada touceira dos diferentes tratamentos: Sintomáticos, Assintomáticos e Referência, foi coletada uma amostra de cada touceira para serem levadas ao laboratório e realizar análises de diagnóstico, seguindo os mesmos procedimentos mencionados no item 3.1.3 na página 15.

3.3. Efeito da escaldadura das folhas no peso de touceiras de cana-de-açúcar

3.3.1. Peso das touceiras de cana-de-açúcar

Foi realizado um meticuloso procedimento de pesagem manual e individual das 20 touceiras tanto no campo A (com alta severidade de escaldadura-das-folhas) como no campo B (usado como referência), utilizando uma balança portátil de alta precisão (Figura 4). No campo A, foram avaliadas 20 touceiras sintomáticas e 20 touceiras assintomáticas, além de 20 touceiras no campo B. Os pesos totais de cada touceira foram registrados cuidadosamente e, com base nesses dados e no número de colmo, foi possível obter o peso individual de cada colmo em todas as touceiras de ambos campos. Esses dados de peso forneceram uma medida precisa da produção de cada touceira em relação à doença. Ao comparar os pesos totais e os pesos por colmo entre o campo afetado e o da referência, foi possível determinar quantitativamente a perda de produção por touceira causada por escaldadura-das-folhas.



Figura 4. Processo de pesagem das touceiras do campo comercial da variedade RB9669288 cana planta.

3.3.2. Diagnóstico molecular de *X. albilineans*

De cada touceira dos diferentes tratamentos: Sintomáticos, Assintomáticos e Referência, foi coletada uma amostra de cada touceira para serem levadas ao laboratório e realizar análises de diagnóstico, seguindo os mesmos procedimentos mencionados no item 3.1.3 na página 15.

3.4. Análise estatística

Para as variáveis número de colmo e peso de touceira, foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) com 20 repetições e três tratamentos (Sintomático, Assintomático, Referência). Posteriormente foi realizada análises de variância e testes de médias (Tukey), ambos com nível de significância de 5%. As análises estatísticas foram realizadas com o programa Rstudio.

4. Resultados e Discussão

4.1. Incidência de escaldadura-das-folhas

A porcentagem de incidência da variedade RB9669288 de um campo comercial de 10 meses de idade, considerada como cana planta, é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Incidência de escaldadura-das-folhas na variedade RB9669288 cana planta, em um campo comercial de 10 meses de idade.

Repetição	N° Colmo	N° colmo Sintomático	Incidência Visual (%)	Incidência Detectada em Laboratório (%)
1	65	47	72,3	72,3
2	93	48	51,6	61,2
3	81	44	54,3	64,2
4	65	29	44,6	55,4
5	57	12	21,1	50,9
Media			48,80%	60,81%

Os resultados do nosso estudo fornecem uma avaliação direta e quantificável da incidência da escaldadura-das-folhas em um campo comercial da variedade RB9669288, que é a mais plantada no Brasil (CHAPOLA, 2022). Observamos que aproximadamente 48,80% das plantas dessa variedade apresentavam sintomas visíveis da doença no campo de cultivo de cana-de-açúcar. Essa porcentagem representa a proporção da presença da escaldadura-das-folhas dentro dos campos comerciais.

Ao compararmos nossos resultados com os estudos realizados por Huerta *et al.* (2003) e Rott *et al.* (1995) em campos experimentais, notamos uma variação significativa nos níveis de incidência. Huerta *et al.* (2003) conduziram um estudo em um campo experimental onde identificaram as variedades MEX68-P23, MEX69-290 e MEX64-1487, consideradas suscetíveis, como aquelas com as maiores taxas de incidência da doença. Especificamente, a variedade MEX68-P23 apresentou uma incidência significativa, com aproximadamente 50,60% das plantas exibindo sintomas de escaldadura-das-folhas. Por outro lado, Rott *et al.* (1995) realizaram um estudo em um campo experimental para determinar a incidência da escaldadura-das-folhas em sete variedades de cana-de-açúcar durante a primeira colheita (cana planta). Os resultados mostraram que a incidência variou significativamente, sendo de 0,7% para as variedades resistentes e 71% para as suscetíveis. Especificamente, a variedade B69379 apresentou o maior percentual de incidência dessa doença. É importante destacar que essas medições de incidência foram baseadas exclusivamente nos sintomas visíveis.

Esses dados estão em concordância com o que foi mencionado por Ricaud e Ryan (1989), que destacaram que o grau de suscetibilidade de uma variedade e a proporção de variedades suscetíveis em uma área determinada são fatores cruciais que influenciam a incidência e a gravidade da escaudadura-das-folhas na cana-de-açúcar. Em nosso estudo, observamos uma alta incidência de escaudadura-das-folhas na variedade RB9669288 em um campo comercial de cana-de-açúcar. Ao analisar os resultados e levar em conta informações de outros estudos, podemos concluir que uma das possíveis razões por trás dessa alta incidência poderia estar relacionada ao grau de susceptibilidade dessa variedade. Isso sugere que a variedade RB9669288 pode ser particularmente vulnerável à escaudadura-das-folhas.

É relevante ressaltar que, embora os dados de incidência obtidos em campos experimentais forneçam informações importantes sobre a doença, os resultados de nossa pesquisa são mais significativos, pois representam a situação real nos campos comerciais. A incidência observada em nosso estudo baseia-se em condições reais de produção de cana-de-açúcar, o que torna esses dados mais confiáveis e úteis para compreender o impacto da escaudadura-das-folhas na indústria canavieira no Brasil.

Além disso, estudos adicionais, como os realizados por Hoy e Grisham (1994) e Garcías *et al.* (2015), também contribuíram para o entendimento da incidência da escaudadura-das-folhas em campos comerciais de cana-de-açúcar. Enquanto Hoy e Grisham (1994) realizaram uma investigação onde os resultados demonstraram uma alta incidência em dois campos específicos, um da variedade CP 74-383, que apresentou uma estimativa de 19.430 plantas infectadas por hectare, e outro campo da variedade LCP 82-89, que apresentou 6.580 plantas infectadas por hectare. Nesta pesquisa, foi atribuído que as altas incidências estavam associadas a áreas próximas ao golfo do México, onde ocorreu um evento climático extremo, como um furacão severo. Essas condições climáticas extremas têm sido previamente associadas à propagação da doença (RICAUD e RYAN, 1989), uma vez que foi demonstrado que a bactéria pode ser transportada pelo ar (CHAMPOISEAU *et al.*, 2009; DAUGROIS *et al.*, 2012). No entanto, a alta incidência observada no campo comercial da variedade RB9669288 não ocorreu devido à disseminação aérea da bactéria. Isso foi comprovado pelo fato de que o campo próximo, campo B do nosso estudo, não apresentava nenhum sintoma visível da doença. Se a disseminação tivesse ocorrido pelo ar, os sintomas da doença deveriam ter sido observados de forma dispersa em

todo o campo agrícola, inclusive no campo vizinho que não apresentou nenhum sintoma da doença.

Por outro lado, García *et al.* (2015) realizaram um estudo em zonas produtoras de cana-de-açúcar no México, identificando a presença da doença em clones comerciais (MEX 69-290, MEX 79-431, MEX 68-P-23, CP 72-2086 e RD 75-11). Os resultados revelaram a presença da doença nos colmos de três clones assintomáticos (MEX 69-290, MEX 68-P-23 e MEX 79-431) com uma incidência variando entre 10% e 20% em quatro campos amostradas. Para medir importante destacar que neste estudo eles não consideraram sintomas visíveis da doença para determinar a porcentagem de área com a presença dessa doença.

Em nosso estudo, adotamos uma abordagem integral para determinar a presença da escaldadura-das-folhas. Além de considerar os sintomas visíveis, incorporamos resultados de diagnósticos moleculares, o que nos permitiu obter uma estimativa mais precisa da presença da doença em plantas que não apresentavam sintomas evidentes. Os resultados obtidos revelaram uma incidência variando entre 50,88% e 72,31% nos pontos avaliados. Curiosamente, foi possível determinar que, embora apenas 48,80% das amostras apresentassem sintomas visíveis, 60,81% das plantas estavam colonizadas pela escaldadura-das-folhas. Esses dados são cruciais para avaliar a propagação e presença da doença no campo de cultivo, pois a escaldadura-das-folhas pode permanecer latente sem manifestar sintomas visíveis nas plantas. Isso indica que, mesmo na ausência de sintomas aparentes, o patógeno pode estar presente e se multiplicando nos tecidos vegetais, conforme demonstrado por Rott *et al.*, (1995) em sua pesquisa em campos comerciais, foi observado na segunda colheita realizada em seu experimento (primeira soca) que 23% dos colmos apresentaram sintomas visíveis da doença, no entanto, 44,4% dos colmos estavam colonizados pela escaldadura-das-folhas.

Diante desse desafio, torna-se essencial realizar análises de diagnóstico adicionais para confirmar a presença da escaldadura-das-folhas. Nesse sentido, as técnicas sorológicas e moleculares têm se mostrado altamente relevantes, especialmente para a detecção da doença em plantas assintomáticas (WANG *et al.*, 1999; URASHIMA e ZAVAGLIA, 2012). Graças a essas ferramentas, é possível obter uma identificação mais precisa e uma compreensão mais profunda da presença e propagação da escaldadura-das-folhas nas plantações de cana-de-açúcar.

4.2. Efeito da escaledadura das folhas no número de colmos por touceiras de cana-de-açúcar

Na Tabela 2, são apresentados os resultados da análise do parâmetro número de colmo para dois campos comerciais da variedade RB966928. No campo A, foram observadas duas situações distintas: plantas com sintomas característicos de escaledadura (Sintomáticas) e plantas sem sintoma de escaledadura-das-folhas (Assintomáticas). Em contraste, o campo B apresentou plantas sem sintomas visíveis da doença (Referência). Foram realizadas avaliações de três tratamentos para este parâmetro: touceiras Sintomáticas, Assintomáticas e Sadias. Esses tratamentos permitiram determinar a redução no número de colmos por touceiras devido à escaledadura-das-folhas.

Tabela 2. Número de colmo por touceira de cana-de-açúcar em função de seu estado fitossanitário de escaledadura-das-folhas.

Campo	Tratamento	Número de touceiras	Confirmação da doença (PCR)	Nº de colmo	Morte de colmo (%)
Campo A	Assintomático	20	16	5,15a	49 %
Campo A	Sintomático	20	20	5,8a	43%
Campo B	Referência	20	3	10,1b	

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

F = 60.855, p < 0.05

A análise de variância (ANOVA) revelou diferença significativa do tratamento Referência em comparação com os tratamentos assintomáticos e sintomáticos (F = 60,855, p < 0,05), indicando uma redução no número de colmos de cana-de-açúcar observado. Em seguida, o teste de Tukey foi realizado para comparar as médias dos tratamentos e detectar diferenças significativas entre eles, identificando três grupos distintos. O grupo Referência apresentou uma média significativamente maior de 10,1 em comparação com os grupos sintomático (média de 5,8) e assintomático (média de 5,2), sendo que não foram observadas diferenças significativas entre últimos (Figura 5).

Os resultados obtidos neste estudo revelam uma diferença significativa no número de colmos entre o campo afetado pela escaledadura-das-folhas (campo A) e o

campo sem sintomas visíveis da doença (campo B). No campo A, do grupo tratado como assintomático, foi observada uma redução de 49% no número de colmos por touceira, enquanto no grupo tratado como sintomático, a redução foi de 43%. Isso indica de forma evidente uma diminuição significativa no número de colmos da cana-de-açúcar em comparação com o campo B que tem baixa percentagem da presença da bactéria

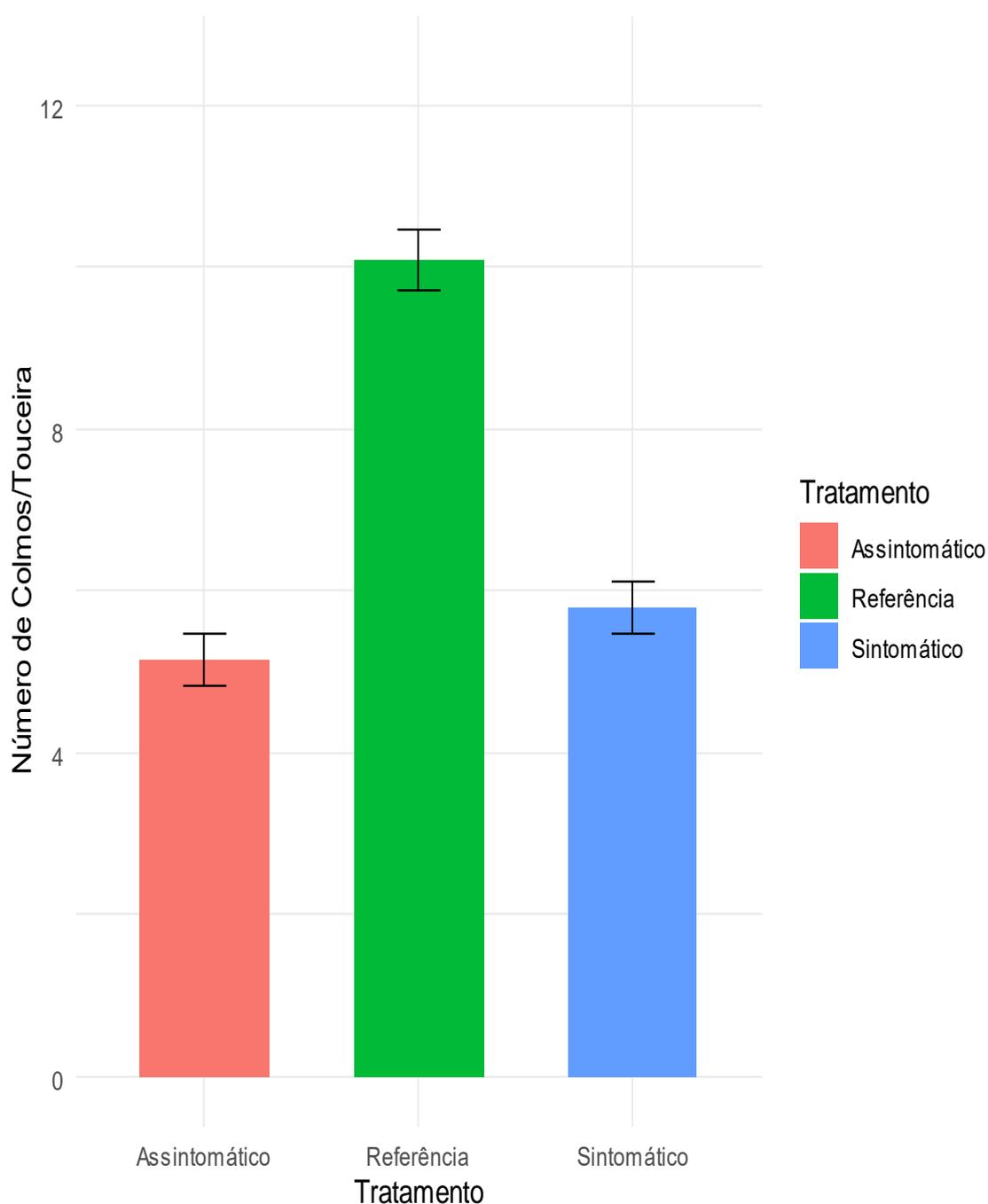


Figura 5. Relação entre o número de colmos por touceira de cana-de-açúcar e seu estado fitossanitário de escaldadura-das-folhas

Estudos anteriores, como o de Rott *et al.* (1995), demonstraram que as maiores reduções no rendimento em campos experimentais foram decorrentes da morte dos colmos. No entanto, em sua pesquisa, não foi determinada a porcentagem de plantas mortas. O mesmo ocorreu no estudo de Hoy e Grisham (1994), onde foi relatado um aumento no número de mortes de plantas e colmos jovens em campos da variedade CP74-383, mas não foi fornecida uma estimativa específica redução no número de colmos devido à doença. Em contraste, no presente estudo, foi realizada a primeira quantificação do efeito da doença em termos de redução no número de colmos em um campo comercial, evidenciando que, quando a bactéria está presente no campo comercial, ela pode causar a redução no número de colmos. A presença de redução no número de colmos no campo afetado confirma a capacidade dessa bactéria de causar danos às plantas de cana-de-açúcar, o que pode acarretar em consequências significativas para a produção da cultura.

4.3. Efeito da escaldadura das folhas no peso de touceiras de cana-de-açúcar

Na Tabela 3, são apresentados os resultados da análise de variância (ANOVA) que revelou uma diferença significativa entre o tratamento Referência em comparação com os tratamentos Assintomáticos e Sintomáticos no peso por touceira ($F = 86,519$, $p < 0,05$).

Tabela 3. Peso de touceira de cana-de-açúcar em função de seu estado fitossanitário de escaldadura-das-folhas.

Campo	Tratamento	Número de touceiras	Confirmação da doença (PCR)	Peso de touceira (Kg)	Redução em relação à referência (%)
Campo A	Assintomático	20	16	6,2 b	56,9
Campo A	Sintomático	20	20	6,6 b	54,2
Campo B	Referência	20	3	14,4 a	

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

$F = 86.519$, $p < 0.05$

Ao realizar o teste de Tukey, foram identificados três grupos distintos: "Referência", "sintomático" e "assintomático". O grupo "Referência" apresentou um peso médio

significativamente maior (14,4), enquanto os grupos "sintomático" (6,6) e "assintomático" (6,2) não mostraram diferenças significativas (Figura 6).

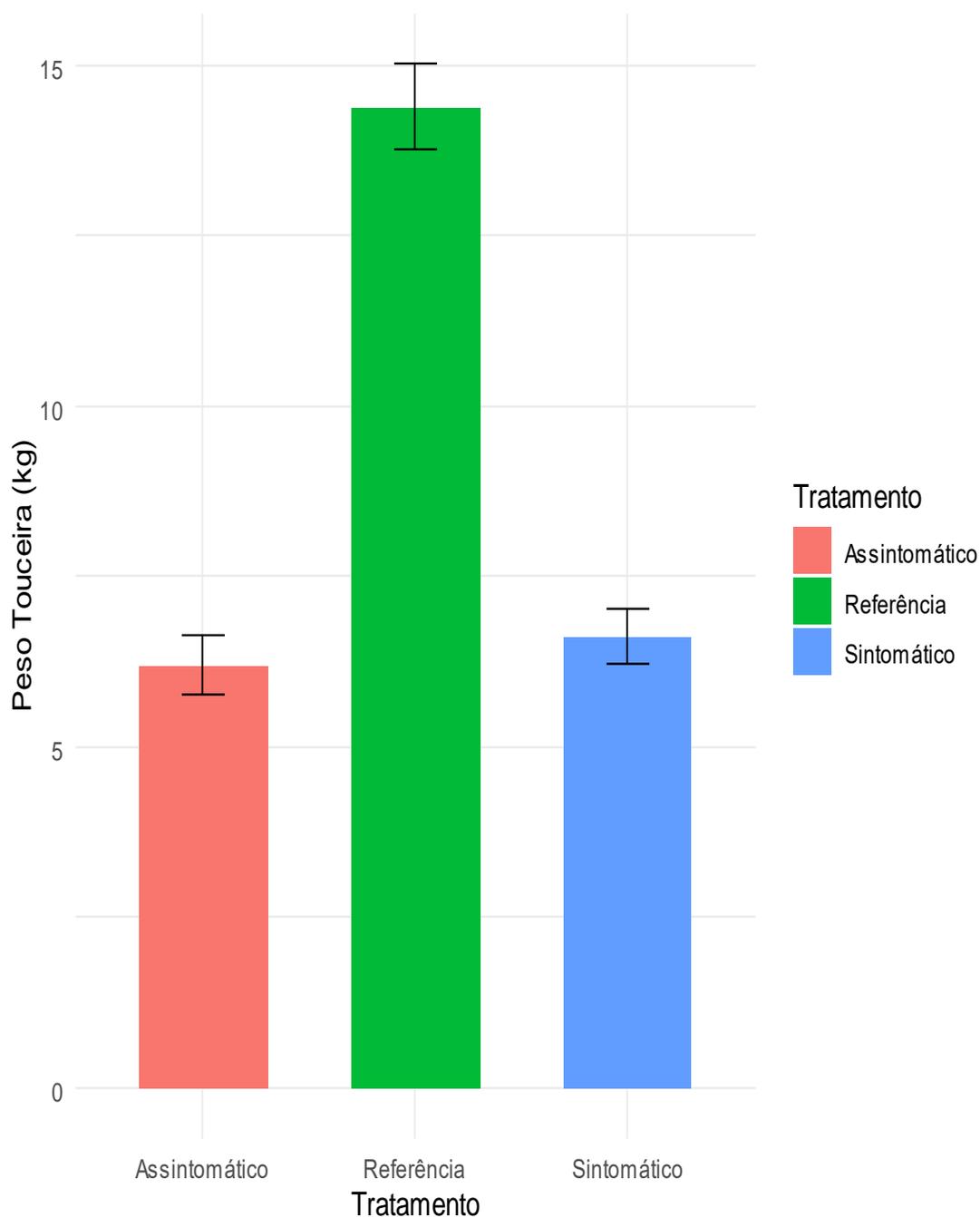


Figura 6. Relação entre o peso por touceira de cana-de-açúcar e seu estado fitossanitário de escaldadura-das-folhas.

Tabela 4 apresenta os resultados da análise estatística para o peso por cana. A análise de variância (ANOVA) revelou uma diferença altamente significativa no peso por cana entre os tratamentos ($F = 8.0391$, $p < 0.05$).

Tabela 4. Peso por colmo de cana-de-açúcar em função de seu estado fitossanitário de escaldadura-das-folhas.

Campo	Tratamento	Número de touceiras	Confirmação da doença (PCR)	Peso por colmo (Kg)	Redução em relação à referência (%)
Campo A	Assintomático	20	16	1,22b	14,7
Campo A	Sintomático	20	20	1,17b	18,2
Campo B	Referência	20	3	1,43a	

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

F = 8.0391, $p < 0.05$

Ao realizar o teste de Tukey, foram identificados dois grupos distintos: "Referência", "assintomático" e "sintomático". O grupo "Referência" mostrou um peso médio significativamente maior (1,43) em comparação com os grupos "assintomático" (1,22) e "sintomático" (1,17). Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos "assintomático" e "sintomático" (Figura 7).

Tanto nos tratamentos sintomáticos quanto nos assintomáticos, foi observada uma diminuição significativa de peso por touceira e peso por colmos afetados por escaldadura-da-folha em comparação com o tratamento Referência. Nas touceiras sintomáticas, a presença de escaldadura-das-folhas foi confirmada em 100% dos casos através da PCR, e nas touceiras assintomáticas, o patógeno foi detectado em 80%. Esses resultados indicam que ambas as condições (sintomática e assintomática) estão associadas a reduções significativas na produtividade de cana-de-açúcar. Especificamente, foi evidenciada uma redução de 54,2% no peso por touceira sintomática, enquanto as touceiras assintomáticas experimentaram uma diminuição de 56,9%. Em relação ao peso por colmos, a doença afetou significativamente, resultando em uma perda de 14,7% no peso dos colmos assintomáticos e de 18,2% no peso dos colmos sintomáticos. Esses resultados destacam o impacto negativo causado pela escaldadura-das-folhas, tanto em plantas com sintomas visíveis quanto naquelas em que a bactéria se encontra em estado latente.

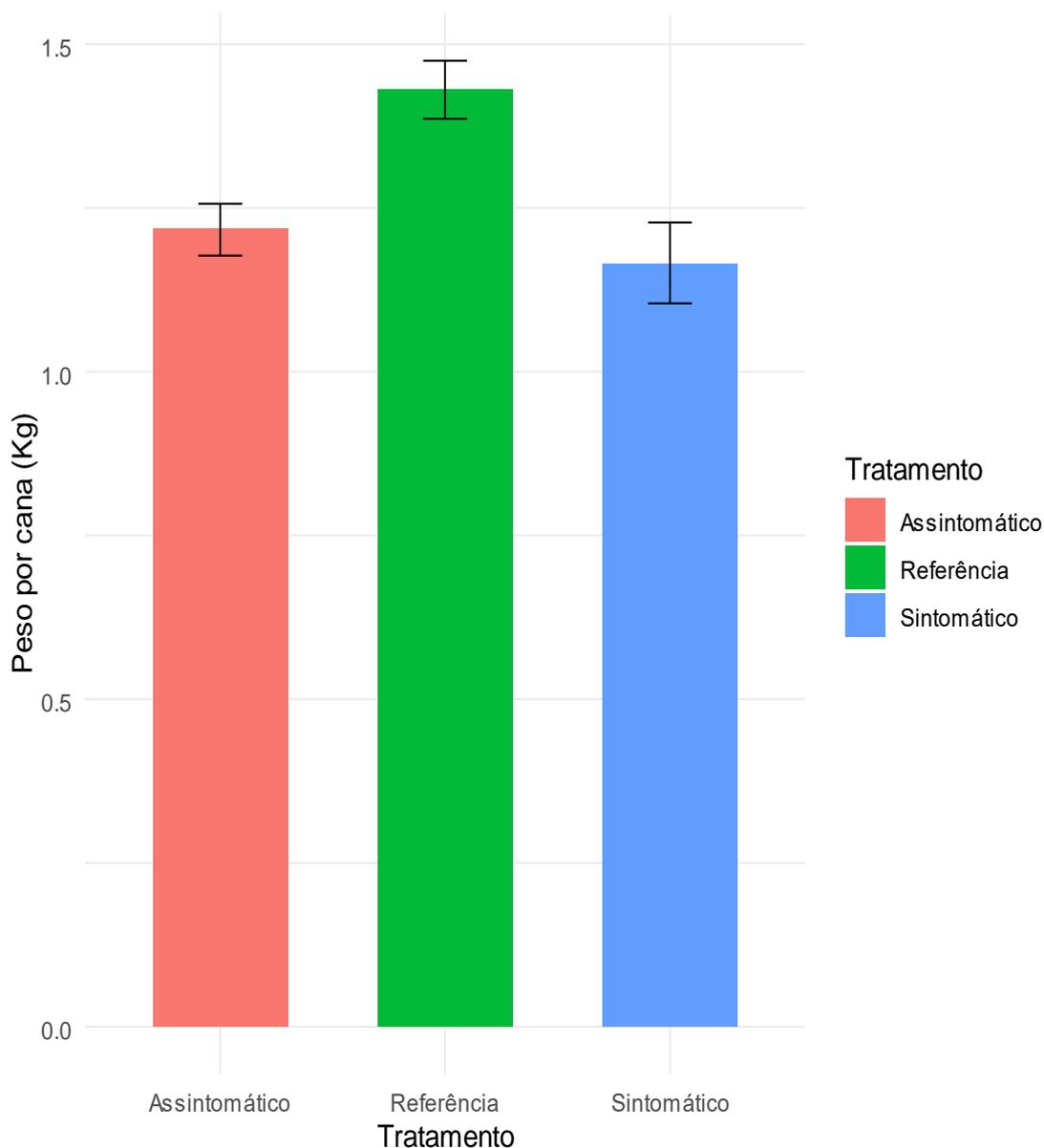


Figura 7. Relação entre o peso por cana e seu estado fitossanitário de escaaldadura-das-folhas.

No estudo realizado por Rott *et al.*, (1995) foi investigada a incidência e os efeitos da escaaldadura-das-folhas em variedades comerciais de cana-de-açúcar em Guadalupe. Sete variedades foram avaliadas ao longo de três anos, e os resultados demonstraram uma redução significativa de 12% no rendimento da variedade B69566 e uma redução altamente significativa na variedade B69379, que apresentou reduções em todas as épocas de colheita devido à escaaldadura-das-folhas. Na segunda colheita, foi observada a maior queda de produção na variedade B69379, alcançando uma diminuição de 28%, equivalente a 17 toneladas a menos por hectare devido à escaaldadura-das-folhas. Embora a incidência da doença tenha sido menor na segunda

colheita (23%) em comparação com a primeira (71% em cana-planta), foi constatado que uma alta porcentagem de 44,4% dos colmos estava colonizada pela bactéria causadora da escaldadura-das-folhas. Esses dados sugerem que a presença da bactéria em colmos assintomáticos pode ter um impacto significativo na produção, mesmo na ausência de sintomas visíveis externamente. Na investigação, a queda de rendimento foi principalmente atribuída aos sintomas causados pela doença. No entanto, os dados apresentados mostram uma discrepância, pois são observados casos em que há menos sintomas visíveis, mas ocorre uma maior queda de produção. Isso pode indicar que a presença da bactéria em colmos assintomáticos também desencadeia uma redução na produtividade da cana-de-açúcar. Infelizmente, a análise da colonização nos colmos não foi realizada nas demais colheitas, o que representa uma limitação em nosso conhecimento sobre como a fase de latência da doença pode ter afetado a produção nessas etapas. A presença da bactéria em colmos assintomáticos pode ter sido um fator importante nas quedas de produção observadas, apesar da baixa incidência de sintomas visíveis.

Em relação ao nosso estudo, investigamos o impacto da escaldadura-das-folhas na variedade RB9669288 em um campo comercial. Os dados obtidos mostraram que, para o tratamento sintomático, o diagnóstico da presença da doença dentro da touceira foi de 100%, enquanto que, para o tratamento das touceiras assintomáticas do mesmo campo foi de 80%. Ambos os tratamentos apresentaram maiores quedas de produtividade; no entanto, não houve diferença significativa entre eles. Isso indica que a infecção latente com colonização dos vasos, mesmo sem apresentar sintomas externos da escaldadura-da-folha, resultará em quedas de rendimento. A presença de *X. albilineans* nas células do floema e nas células de armazenamento do parênquima vascular, conforme relatado por Mensi *et al.* (2014), pode ter um impacto negativo na produtividade do cultivo, mesmo que a planta não mostre sintomas visíveis externamente. Essa situação pode ser responsável pela redução de produção observada nas plantas de cana-de-açúcar do campo objeto de nosso estudo. Em outra pesquisa conduzida por Hoy e Grisham (1994) em quatro campos comerciais com duas variedades (CP74-383 e LCP82-89), onde se observou uma incidência suficientemente alta de plantas com sintomas de escaldadura-das-folhas, foi determinada a perda de rendimento causada por essa doença. Para isso, foram coletadas amostras de colmos sintomáticos e assintomáticos dentro desses campos. Ao analisar os resultados para a variável de peso nos quatro campos, apenas

foi encontrada uma diferença significativa no quarto campo, onde se observou uma maior perda de peso nos colmos sintomáticos em comparação com os assintomáticos. No entanto, em nosso estudo, ao analisar os pesos por colmo, não foram encontradas diferenças entre o peso obtido das amostras sintomáticas e assintomáticas. Isso contrasta com os resultados obtidos na parcela analisadas por Hoy e Grisham (1994).

É crucial destacar que em nosso estudo foram avaliados dois campos de cana-de-açúcar em áreas de plantio, identificados como Campo A e Campo B, ambos situados próximos um ao outro. No entanto, é especialmente relevante mencionar que as mudas utilizadas em cada campo de reforma provinham de fontes diferentes. No campo A, foi observado um maior percentual de plantas com presença de *X. albilineans* em comparação com o campo B, conforme observado nos resultados do diagnóstico. Os efeitos dessa disparidade na incidência da escaldadura-das-folhas foram refletidos claramente na produtividade em ambos os campos. No campo A os danos foram significativos e graves, com quedas substanciais devido à presença da doença nas plantas, ao contrário do campo B, onde a presença de escaldadura-das-folhas foi mínima (Tabela 3 e 4).

Estes dados enfatizam a importância crítica de abordar adequadamente a propagação da doença e garantir o uso de mudas saudáveis e livres da bactéria *X. albilineans* nos de plantios de cana-de-açúcar. Ao tomar medidas preventivas no campo A, onde a incidência e os danos foram significativos, poderia ter sido evitada grande parte da queda de produção e protegida a viabilidade a longo prazo da cultura.

5. Conclusões

La escaldadura das folhas foi responsável por uma queda de 56,9 % (assintomático) e 54,2% (sintomático) no peso por touceira da variedade RB966928 nas condições do presente estudo, resultado da redução de 49% (assintomático) e 43% (sintomático) no número de colmos por touceira y de 14,7% (assintomático) e 18,2% (sintomático) no peso por colmo.

6. Literatura citada

CHAMPOISEAU P.; Rott, P.; Daugrois, J. High variation in pathogenicity of genetically closely related strains of *Xanthomonas albilineans*, the sugarcane leaf scald pathogen, in Guadeloupe. **Phytopathology**, v.96, n. 10, p. 1081-1091, 2006.

- CHAPOLA, R. **Variedades de cana-de-açúcar mais cultivadas nos estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul em 2021**. Disponível: <https://www.revistacanavieiros.com.br/variedades-de-cana-de-acucar-mais-cultivadas-nos-estados-de-sao-paulo-e-mato-grosso-do-sul-em-2021>, 2022.
- CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar, safra 2023/24** - Primer levantamento, 2013.
- DAUGROIS, J.; DUMONT, P.; CHAMPOISEAU, P.; COSTET, L.; BOISNE, R.; ROTT, P. Aerial contamination of sugarcane in Guadeloupe by two strains of *Xanthomonas albilineans*. **European Journal of Plant Pathology**. v. 109, p. 445–458, 2003.
- DAUGROIS, J.; BOISNE-NOC, R.; CHAMPOISEAU P.; ROTT, P.; The revised infection cycle of *Xanthomonas albilineans*, the causal agent of leaf scald of sugarcane. **Functional Plant Science and Biotechnology**. v.6, 91-97, 2012.
- DAVIS, M.; ROTT, P.; WARMUTH, C.; CHATENET, M.; BAUDIN, P. Intraspecific genomic variation within *Xanthomonas albilineans*, the sugarcane leaf scald pathogen. **Phytopathology**, v. 87, n. 3, p. 316–324, 1997.
- EMBRAPA 2023. **Doenças bacterianas - Portal Embrapa**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/cana/producao/manejo/fitossanidade/doencas/doencas-bacterianas>. Acesso em: 05 julho. 2023.
- GARCIA, H.; ORTIZ, C.; SALGADO, S.; VALDEZ, A.; SILVA, H.; OVALLE, W. Presence of *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson in sugarcane crops in la chontalpa, Tabasco, México. **Revista Fitotecnia Mexico**. v. 38, 397-404, 2015.
- GOVINDARAJU, M.; Li, Y.; ZHANG, M. **Emerging bacterial disease (leaf scald) of sugarcane in China: pathogenesis, diagnosis, and management**. Intech Open 14 pp. 2019. DOI <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.88333>
- HOY, J; GRISHAM, M. Sugarcane leaf scald distribution, symptomatology, and effect on yield in Louisiana. **Plant Disease**, v.78, p. 1083-1087, 1994.
- HUERTA-LARA, M.; ARENAS, L.; SANCHEZ, C.; FUCIKOVSKY-ZAK. L.; GARCIA, M. Resposta de 10 variedades de cana-de-açúcar à escaldadura foliar de

- Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson na região costeira central de Veracruz. **Agrociência**, v. 37, n. 5, p. 511-519, 2003.
- LIN, L.; NTAMBO, M.; ROTT, P.; WANG, Q.; LIN, Y.; FU, Y.; GAO, S. Molecular detection and prevalence of *Xanthomonas albilineans*, the causal agent of sugarcane leaf scald, in China. **Crop Protection**, v. 109, p. 17–23, 1 jul. 2018.
- MENSI, I.; VERNERAREY, M.; GARGANI, D.; NICOLE, M.; ROTT, P. Breaking dogmas: The plant vascular pathogen *Xanthomonas albilineans* able to invade non-vascular tissues despite its reduced genome. **Open Biology**, v. 4, p. 1-12, 2014.
- MURRAY MG, THOMPSON WF. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. **Nucleic Acids Research**. v.8. n. 19, p. 4321-4325, 1980.
- PEREZ, Y.; PEREZ, J.; ECHEVERRIA, M.; HERNANDEZ, R.; GUZMAN, Y. *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson: cultivars susceptibility. **Revista Centro Agrícola**. v. 44, n.1, 23-27, 2017.
- PIERETTI, I.; PESIC, A.; PETRAS, D.; ROYER, M.; SÜSSMUTH, D.; COCIANCICH, S. What makes *Xanthomonas albilineans* unique amongst *Xanthomonas*?. **Frontiers in Plant Science**, v.6, p.289, 2015.
- RICAUD, C; RYAN, C. **Leaf scald**. En Ricaud C, Egan BT, Gillaspie AG Jr, Hughes CG (Eds.) Diseases of sugarcane. Major diseases. Elsevier. Amsterdam, Holanda. pp. 39- 58, 1989.
- ROTT, P.; FLEITAS, L.; MARLOW, G.; ROYER, M.; GABRIEL, D. Identification of New Candidate Pathogenicity Factors in the Xylem-Invading Pathogen *Xanthomonas albilineans* by Transposon Mutagenesis. **The American Phytopathological Society**, v.24, n.5, p. 594–605, 2011.
- ROTT, P.; DAVIS, M.J. **Leaf scald**. In **A Guide to Sugarcane Diseases**; Rott, P., Bailey, R.A., Comstock, J.C., Croft, B.J., Saumtally, S., Eds.; CIRAD/ISSCT: Montpellier, France, pp. 38–44, 2000.
- ROTT, P.; MOHAMED, I.; KLETT, P.; SOUPA, D.; SAINT-ALBIN, A; FELDMANN, P.; LETOURMY, P. Resistance to leaf scald disease is associated with limited colonization on sugarcane and wild relatives by *Xanthomonas albilineans*. **Phytopathology**, v. 87, n.12, p.1202-1213, 1997.

- ROTT, P.; SOUPA, D.; FELDMANN, P.; LETOURMY, P. Leaf scald (*Xanthomonas albilineans*) incidence and its effect on yield in seven sugarcane cultivars in Guadeloupe. **Plant Pathology**, v.44, n. 6, p. 1075-1084, 1995.
- TOKESHI, H. Doenças da Cana-de-açúcar. In: GALLI, F.; CARVALHO, P.; TOKESHI, H.; BALMER, E.; KIMATI, H.; CARDOSO, C.; SALGADO, C.; KRUGNER, T.; CARDOSO, E.; FILHO, A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. 2 ed. São Paulo, 1980. 146-149 p.
- TOKESHI, H.; RAGO, A. Doenças da Cana-de-açúcar. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. 4 ed. São Paulo, 2005. 197-223 p.
- URASHIMA, A.; AVAGLIA, C. Comparação de dois métodos diagnósticos de escaldadura- das-folhas (*Xanthomonas albilineans*) da cana-de-açúcar. **Summa Phytopathologica**. v.38, n.2, p. 155-158, 2012.
- WANG, Z.; COMSTOCKA, J.; HATZILOUKAS, E.; SCHAAD, N. Comparison of PCR, BIO-PCR, DIA, ELISA and isolation on semiselective medium for detection of *Xanthomonas albilineans*, the causal agent of leaf scald of sugarcane. **Plant Pathology**. v.48, 245–252, 1999.

CAPÍTULO 2. AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À ESCALDADURA-DAS-FOLHAS EM VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR.

Autor: CLAUDIA ELIZABETH BOGADO GONZALEZ

Orientador: Prof. Dr. ALFREDO SEITI URASHIMA

1. Resumo

A escaaldadura-das-folhas, causada por *Xanthomonas albilineans*, é uma doença presente em todas as regiões produtoras de cana-de-açúcar no Brasil. Apesar dessa ampla distribuição, a doença tem sido amplamente negligenciada em termos de controle e prevenção. Embora o nível de dano da escaaldadura-das-folhas no Brasil não seja conhecido, resultados em outros países têm mostrado a importância da doença na redução da produtividade. Diante dessa problemática, destaca-se a necessidade de promover o uso de variedades resistentes, pois é considerado o método de controle mais recomendado em todo o mundo para mitigar os efeitos da escaaldadura-das-folhas nas plantações de cana-de-açúcar. No entanto, no Brasil ainda existe uma escassez de pesquisa sobre esse assunto, especialmente em relação às principais variedades utilizadas na produção agrícola. Portanto, o objetivo deste trabalho foi determinar a resistência de variedades de cana-de-açúcar à escaaldadura-das-folhas. Para isso, foram utilizadas 10 variedades RBs (RB9669288, RB867515, RB92579, RB855156, RB975201, RB975242, RB985476, RB975033, RB975952, RB005014) que foram inoculadas com o isolado ScXa01-08 proveniente de Valparaíso pelo método de decapitação. Aos 35 dias após a inoculação, foram realizadas as avaliações das reações das variedades à escaaldadura-das-folhas, utilizando uma escala desenvolvida neste estudo com base em observações visuais da sintomatologia da doença. Os resultados revelaram diferenças na reação das variedades avaliadas em relação à doença da escaaldadura-das-folhas. As variedades RB92579 e RB9669288 foram classificadas como suscetíveis, mostrando uma severidade de 82.85% e 81.49%. Em contraste, as variedades RB985476, RB975033 e RB975952 foram classificadas como resistentes, exibindo as menores severidades de 23.33%, 21.43% e 20.95%, respectivamente. Por outro lado, em relação às variedades RB855156, RB975201, RB867515, RB975242 e RB005014, apresentaram níveis de severidade da escaaldadura-das-folhas situados em uma escala intermediária entre as mais suscetíveis (RB92579 e RB9669288) e as mais resistentes (RB985476, RB975033 e RB975952).

Palavras-chave: *Saccharum spp.*, susceptibilidade, reação, *Xanthomonas albilineans*

2. Introdução

A escaudadura-das-folhas, causada por *Xanthomonas albilineans*, é uma doença importante que afeta a cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*). Ao longo dos anos, esta doença tem sido objeto de investigação em diferentes países, e novos surtos têm sido registrados em várias regiões do mundo, o que tem gerado preocupação na indústria açucareira. Atualmente, mais de 60 países relatam a presença desta doença em seus campos de produção (RICAUD e RYAN, 1989; ROTT e DAVIS, 2000). A doença é caracterizada por sintomas crônicos e agudos. Em sua forma crônica, são observadas estrias cloróticas de cor branca a amarela nas folhas, seguidas de necrose do tecido foliar e murcha progressiva, além de formação de brotações laterais nos colmos. Na forma aguda, provoca murcha e morte súbita dos colmos maduros em variedades susceptíveis (RICAUD e RYAN, 1989; ROTT e DAVIS, 2000).

A gravidade da escaudadura-das-folhas tem levado a importantes perdas na produção de cana-de-açúcar em diferentes países, afetando significativamente os componentes do rendimento industrial, como o teor de açúcar no colmo (Brix) e o conteúdo de sacarose, especialmente quando atinge variedades altamente suscetíveis, chegando a provocar danos de até 100% (TOKESHI, 2005). Pesquisas têm demonstrado claramente que *X. albilineans* pode ocasionar perdas consideráveis em certas variedades, como foi observado em Guadalupe, onde os danos variaram entre 12% e 21% após a introdução de duas variedades consideradas suscetíveis (ROTT *et al.*, 1995). Em outros lugares, como Veracruz, México, a presença dessa doença levou à eliminação de 800 hectares de cultivo da variedade MEX 64-1487, que era suscetível à escaudadura-das-folhas (HUERTA *et al.*, 2003).

Devido a gravidade das quebras de produção mencionadas anteriormente, a busca por variedades resistentes tem sido procurada em todos os países como método de controle ideal (RICAUD e RYAN, 1989; ROTT e DAVIS, 2000; GARCES *et al.*, 2014). Em vários, são conduzidos ensaios sistemáticos e regulares de resistência para avaliar a reação das variedades frente a essa enfermidade. Em Guadalupe, Rott *et al.* (1997) realizaram estudos que revelaram uma variabilidade significativa na resposta das diferentes variedades à escaudadura-das-folhas. Eles observaram que as variedades suscetíveis apresentavam porcentagens de severidade próximas a 100%, enquanto outras demonstraram ser mais resistentes, mostrando severidades mais próximas de zero. Por outro lado, Gutiérrez *et al.* (2016) em Louisiana estudaram

a resistência de clones de cana-de-açúcar, e também observaram uma ampla variabilidade na gravidade da doença nos clones estudados. Especificamente, os clones suscetíveis mostraram maior gravidade da doença, com suas classificações agrupadas dentro do intervalo de classificação de moderadamente suscetíveis (4 a 6), enquanto os clones resistentes apresentaram classificações médias dentro do intervalo de classificação de resistentes (1 a 3). Também em Veracruz, México, Huerta *et al.* (2003) conduziram um estudo sobre a resistência de dez variedades de cana-de-açúcar, onde as variedades MEX68-P23, MEX69-290 e MEX64-1487 foram consideradas suscetíveis à escaldadura-das-folhas, apresentando uma alta incidência da doença e uma significativa redução no rendimento, em contraste, as variedades resistentes mostraram menor incidência e não experimentaram reduções significativas no rendimento.

Em vários países, estudos abrangentes têm sido realizados sobre a resistência de variedades de cana-de-açúcar em relação à escaldadura-das-folhas (*X. albilineans*). No entanto, no Brasil, ainda existe uma lacuna significativa de pesquisa rigorosa nesse tema, especialmente em relação às principais variedades utilizadas na produção em campo. Essa falta de conhecimento é motivo de preocupação, considerando as possíveis perdas consideráveis que essa doença pode causar à indústria canavieira nacional. Portanto, o objetivo deste trabalho foi determinar a resistência de 10 variedades de cana-de-açúcar RBs à escaldadura-das-folhas.

3. Materiais e Métodos

3.1. Material vegetal

Neste estudo, foram utilizadas 200 plantas, das quais 100 foram destinadas à realização de uma duplicata do experimento. Foram utilizadas 10 variedades comerciais mais cultivadas e plantadas no Estado de São Paulo durante o ano de 2021 (CHAPOLA, 2022), sendo elas: RB9669288, RB867515, RB92579, RB855156, RB975201, RB975242, RB985476, RB975033, RB975952, RB005014. As gemas das variedades para todos os tratamentos foram obtidas no campus do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de São Carlos em Araras, Estados de São Paulo

3.2. Diagnóstico pré-plantio

Para garantir as condições do experimento e certificar que as mudas utilizadas como material propagativo estivessem livres de *X. albilineans*, todas as canas-mães de 10 meses de idade foram submetidas a testes sorológicos para detectar a

escaldadura-das-folhas. Dessa forma, as plantas com resultados positivos foram eliminadas antes de serem utilizadas na instalação do experimento. Para o diagnóstico, foi utilizado o método “dot blot” (CARNEIRO *et al.*, 2004; URASHIMA e GRACHET, 2012). Nesse método, foram obtidas amostras de 100 µL de seiva do entrenó basal e aplicadas sobre uma membrana de nitrocelulose, que foi então seca em uma estufa a 80°C por uma hora. Em seguida, foram bloqueadas por 30 minutos à temperatura ambiente com uma solução salina contendo leite em pó desnatado e lavadas três vezes com solução salina. Posteriormente, foram incubadas com antissoros de coelho por uma hora, lavadas novamente três vezes com solução salina e incubadas com IgG de anti-coelho conjugada com fosfatase alcalina por uma hora. Após o tempo, foram realizadas mais três lavagens com solução salina e, finalmente, cada membrana foi incubada na escuridão com a solução de revelação por uma hora. Ao término, a membrana foi lavada com água destilada e deixada secar para posterior avaliação de sua sanidade quanto à *X. albilineans*.

3.3. Obtenção de mudas

As gemas individuais das diferentes variedades RB, obtidas após o diagnóstico, foram plantadas em bandejas de plástico contendo substrato, a uma profundidade de 2-3 cm. Todas as gemas, incluindo as da duplicata, foram plantadas no mesmo dia. Em seguida, foram levadas para uma estufa com temperatura de 30-35°C e regadas durante duas semanas para facilitar o brotamento (Figura 1). Posteriormente, foram transferidas para um pátio externo com condições naturais, mas com irrigação artificial, e mantidas nessas condições até a inoculação. Para garantir o total de 200 plantas, foram plantadas dez gemas adicionais de cada variedade, como reserva, caso ocorressem falhas de brotação.



Figura 1. Preparação de mudas de cana-de-açúcar das dez variedades RBs.

3.4. Isolamento de *X. albilineans* e preparo do inóculo.

Para a inoculação, a bactéria foi isolada de uma seção longitudinal da folha que incluía sintomas de faixa amarela ou branca paralela à nervura. Os segmentos de folhas foram cortados em pequenos pedaços que foram imersos por cinco a oito segundos em álcool e posteriormente em hipoclorito de sódio (NaClO) em diferentes intervalos de tempo para desinfecção superficial do tecido; por fim, foram colocados em água por um segundo. Após a desinfecção, os fragmentos de tecido foram transferidos em condições de assepsia para uma placa de Petri contendo meio de cultura XAS o qual continha 5 g de bactopectona, 10 g de sacarose, 0,5 g de $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$, 0,5 g de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,25 g de Na_2SO_3 , 15 g de bactoagar, 5 g de KBr, 100 mg de cicloheximida, 2 mg de benomil, 25 mg de cefalexina, 30 mg de novobiocina, 50 mg de kasugamicina e 1 L de água destilada (DAVIS *et al.*, 1994). As amostras foram incubadas a 28°C, e uma vez que o crescimento da bactéria foi observado, procedeu-se à transferência para outra placa para assegurar a pureza das colônias bacterianas antes de seu uso (Figura 2).

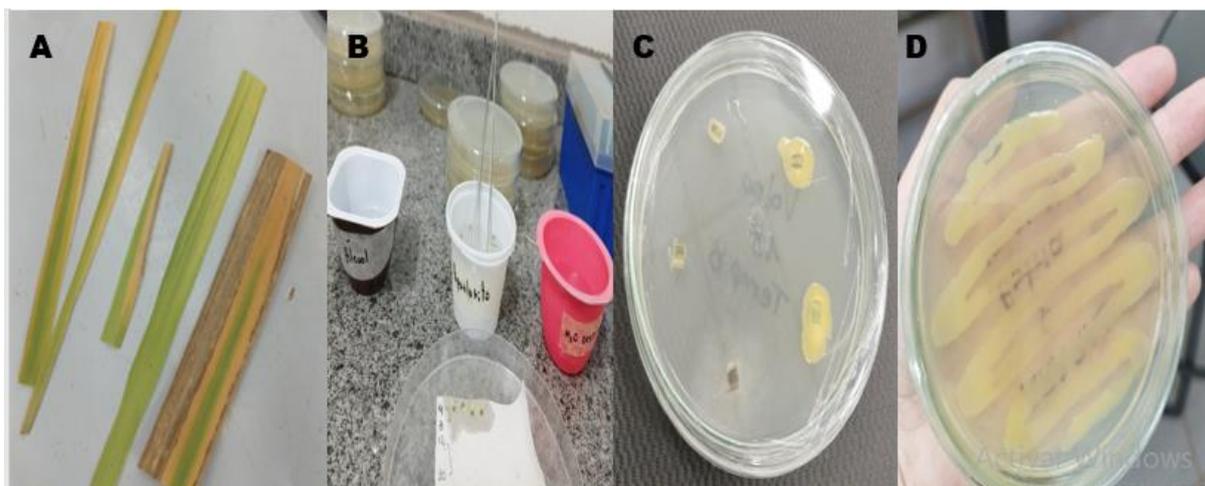


Figura 2. Procedimento para o isolamento de *X. albilineans*. A: Amostra utilizada para o isolamento; B: Procedimento de desinfecção; C: Crescimento da bactéria a partir do tecido vegetal; D: Replicação da bactéria suspeita de ser *X. albilineans* para outra placa.

Após o isolamento, o crescimento bacteriano suspeito de ser *X. albilineans* foi suspenso em 500 µl de solução salina. Em seguida, utilizou-se 100 µl desse crescimento para confirmar a presença da bactéria utilizando o método de “dot blot”. Do processo de isolamento, obteve-se um isolado, identificado como ScXa01-08 proveniente da folha da variedade RB055612 de Valparaíso, que foi confirmado como *X. albilineans* usando o método de “dot blot”. Os resultados dessa confirmação estão observados nos poços 11 e 12 da linha 5 e poço 11 da linha 7 na Figura 3.

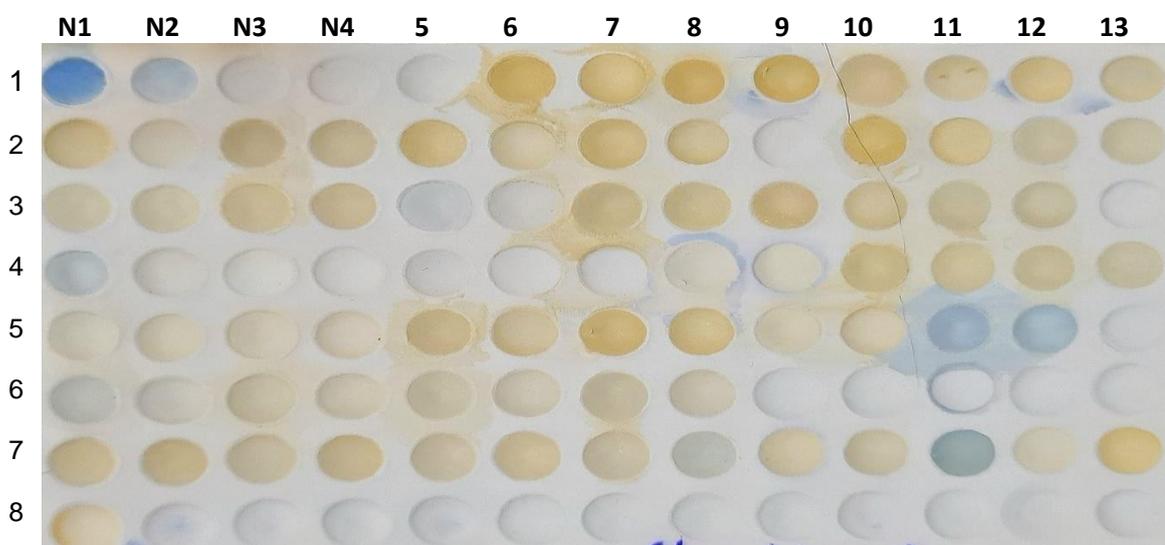


Figura 3. Controles: 1- N1 (10^9 CFU/mL); 2 - N2 (10^8 CFU/mL); 3 - N3 (10^7 CFU/mL); 4 – N4 (10^6 CFU/mL); 5 - Controle negativo. Outros poços: dos poços 6 até a posição 13 da linha 3: amostras provenientes de Araras; dos poços 1 da linha 4 até os poços 1 da linha 8: amostras provenientes de Valparaíso.

3.5. Inoculação

O isolado ScXa01-08, proveniente de Valparaíso, foi inoculado em dez variedades de cana-de-açúcar RB. Para a inoculação, foram depositados 150 µl de solução bacteriana em 150 ml de meio líquido XAS específico por quatro dias dentro de um agitador (shaker) a 28°C. No total, foram preparados 300 ml de solução, que foram utilizados para inoculação das variedades RB de cana-de-açúcar. A concentração bacteriana inicial foi confirmada por contagem de placas por diluição seriada em meio XAS. Após 48 horas de incubação a 28°C, procedeu-se à contagem de colônias, determinando que a concentração da solução era de $3 \cdot 10^8$ UFC/ml (Figura 4).



Figura 4. Concentração de *Xanthomonas albilineans*, agente causal da escaudadura das folhas em cana-de-açúcar (UFC/ml) por contagem de colônias através de diluição seriada em meio XAS.

Os colmos foram inoculados quando as plantas tinham quatro meses de idade utilizando a técnica de decapitação seguindo a mesma metodologia empregada por Rott *et al.* (1995). As plantas foram cortadas acima do ponto de crescimento com tesouras previamente imersas na suspensão bacteriana ($3 \cdot 10^8$ UFC/ml), 100 µL do inóculo foram aplicados na superfície cortada de cada planta usando uma pipeta. As plantas de controle foram tratadas da mesma forma, utilizando água, para avaliar qualquer contaminação cruzada de origem natural e para confirmar que as plantas inoculadas não apresentavam contaminação prévia. Toda as amostras foram colocadas em câmara úmida durante 48 horas a 28°C para favorecer a infecção bacteriana, após esse período as plantas foram transferidas para uma estufa (Figura 5) O fornecimento de água foi suspenso durante quatro dias com o objetivo de induzir estresse nas plantas (TARDIANI *et al.*, 2014). O mesmo procedimento foi realizado para a duplicata, que foi realizada cinco horas após a primeira inoculação.



Figura 5. Processo de inoculação de *Xanthomonas albilineans*, agente causal da escaldadura das folhas em cana-de-açúcar nas variedades RBs. A: Água destilada usada como controle; B: Inoculação com água destilada nas plantas de controle; C: Desinfecção das tesouras com álcool; D: Inoculação com a bactéria *X. albilineans*; E: Decapitação das plantas com tesouras previamente imersas na bactéria; F: Aplicação de 100 µL da suspensão bacteriana na área cortada; G: Câmara úmida.

3.6. Avaliação da doença

3.6.1. Classificação visual das variedades de acordo com sua reação a escaldadura-das-folhas.

Foi realizada 35 dias após a inoculação, seguindo os critérios de Gutiérrez *et al.* (2016) com modificações, substituindo os colmos pelas folhas. Dessa forma, a reação de cada variedade à doença foi baseada em uma escala de notas de 1 a 7, elaborada neste estudo com base nas observações visuais da sintomatologia da doença (Figura 6), onde as notas 1-2 foram consideradas resistentes, as notas 3-4 moderadamente susceptíveis e as notas 5-6-7 altamente susceptíveis. Para o cálculo da reação à doença (RD), foi utilizada a fórmula $RD = [(1 \times NF) + (2 \times PL) + (3 \times ML) + (5 \times N) + (7 \times D)] / T$, onde RD: reação à doença; NF = número de folhas sem sintomas; PL = início de clorose inferior a 50%; ML = clorose avançada nas folhas, com mais de 50%; N = número de folhas com sintomas graves, necrose na lâmina foliar; D = número de plantas mortas; T = número total de folhas na variedade.

3.6.2. Severidade da doença

Foi quantificada utilizando uma escala de classificação que variava de 0 (para os genótipos mais resistentes) a 100 (para os mais susceptíveis). O procedimento de classificação seguiu o método descrito por Rott *et al* (1997) com modificações, onde as folhas inoculadas foram avaliadas com base na escala elaborada para medir as reações das variedades. O cálculo da gravidade média da doença (DS) foi determinado utilizando a fórmula: $DS = [(1 \times FL + 2 \times ML + 3 \times CB + 4 \times N + 5 \times D) / 5 \times T] \times 100$, onde DS: gravidade média; FL = número de folhas sem sintomas; ML = início de clorose menor que 50%; CB = clorose avançada pelo limbo foliar, com mais de 50%; N = número de folhas com sintomas graves, necrose na lâmina foliar; D = número de plantas mortas; T = número total de folhas na variedade.

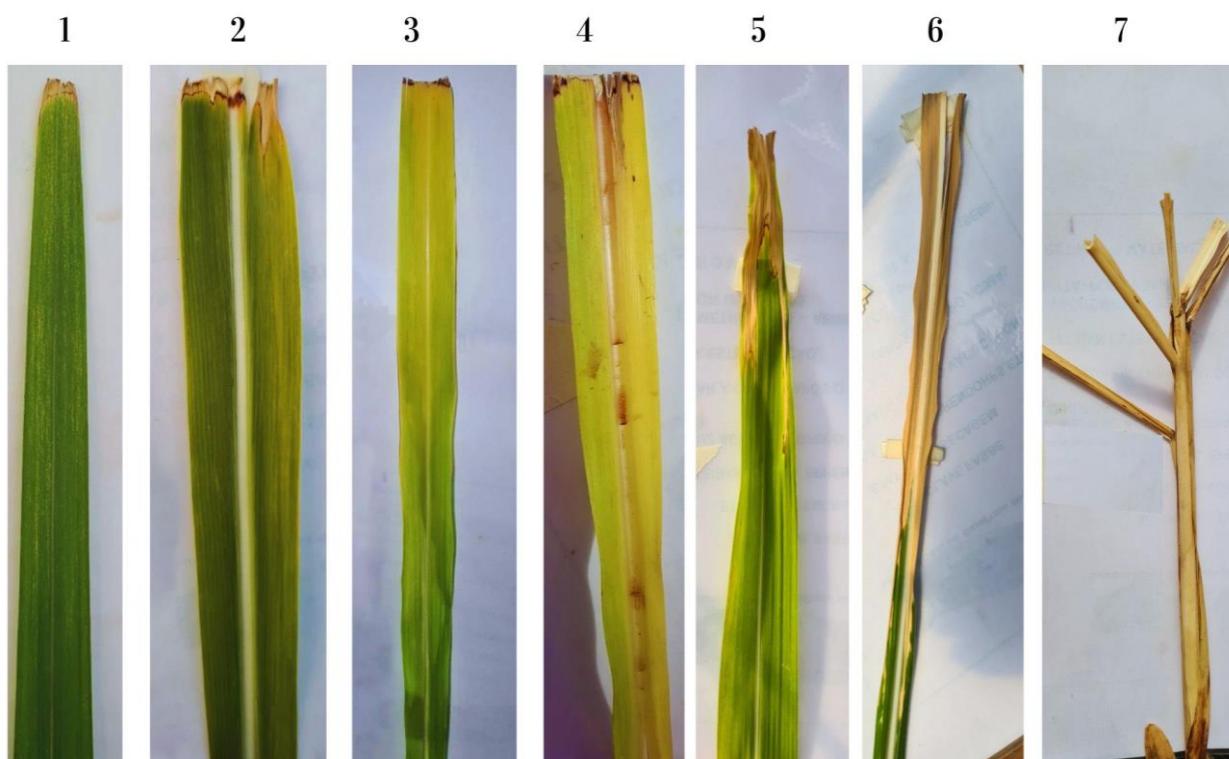


Figura 6. Escala de classificação para avaliar os sintomas de escaldadura-das-folhas em cana-de-açúcar.

Tabela 1. Escala de avaliação para determinar a gravidade da doença escaldadura-das-folhas em cana-de-açúcar.

Nota	Sintoma
1	Sem sintomas
2	Início de clorose menor que 50% no limbo foliar, sem presença de necrose.
3	Clorose avançada pelo limbo foliar (com mais de 50%)
4	Cloroses intensas em todo limbo foliar
5	Início da necrose na lâmina foliar não mais que a metade da folha (menos de 50%)
6	Necrose muito avançada pelo limbo foliar (com mais de 50%)
7	Morte da planta

3.7. Delineamento estatístico e análise dos dados

Foi empregado um delineamento estatístico de blocos ao acaso com cinco repetições. Cada unidade experimental consistiu em bandejas contendo uma planta de cada variedade. Os dados obtidos da avaliação foram submetidos a uma transformação utilizando o logaritmo (nota + 1), a fim de atender aos critérios de homogeneidade dos dados. Posteriormente, foram analisados utilizando o programa Rstudio. Foram conduzidas análises de variância e testes de média (Tukey), ambos com um nível de significância de 5%, para comparar o índice de severidade das variedades avaliadas.

4. Resultados e Discussão

Na Tabela 2, são apresentados os resultados da avaliação de diferentes variedades em resposta à escaldadura-das-folhas. Esses resultados foram baseados em uma escala específica, desenvolvida a partir dos sintomas visíveis associados à doença que foram observados durante o estudo (Tabela 1). A escala permitiu classificar as variedades de acordo com sua reação à doença, fornecendo uma visão clara de seu nível de resistência ou suscetibilidade, agrupando-as em quatro

categorias distintas: 1-2 para as variedades resistentes, 2-3 para as moderadamente resistentes, 3-4 para as moderadamente suscetíveis e 5-7 para as suscetíveis.

Tabela 2. Avaliação da resistência à escaldadura-das-folhas em 10 cultivares de cana-de-açúcar utilizando a classificação visual do desenvolvimento de sintomas sistêmicos.

Variedade	Classificação visual Duplicata 1	Classificação visual Duplicata 2	Controle Duplicata1	Controle Duplicata2
RB92579	5,8	5,7	1	1
RB9669288	5,7	5,8	1	1
RB855156	3,5	3,6	1	1
RB975201	3,4	3,5	1	1
RB867515	3,3	3,3	1	1
RB975242	2,7	2,6	1	1
RB005014	2,4	2,4	1	1
RB985476	1,6	1,5	1	1
RB975033	1,5	1,4	1	1
RB975952	1,4	1,4	1	1

As classificações da gravidade da escaldadura-das-folhas, associadas aos sintomas da doença, variaram consideravelmente entre as diferentes variedades. Aos 35 dias após a inoculação, foram observados sintomas diversos nas plantas. As variedades RB92579 e RB9669288 obtiveram as maiores classificações, com médias de 5,8 e 5,7; o que as colocou no intervalo de variedades suscetíveis. A Figura 7 e 8 complementam esses dados, permitindo visualizar a resposta das diferentes variedades à escaldadura-das-folhas. As variedades RB92579 e RB9669288 classificadas como suscetíveis apresentaram necrose em mais de 50% do tecido foliar, e em casos extremos, foi observada até a morte completa da planta.

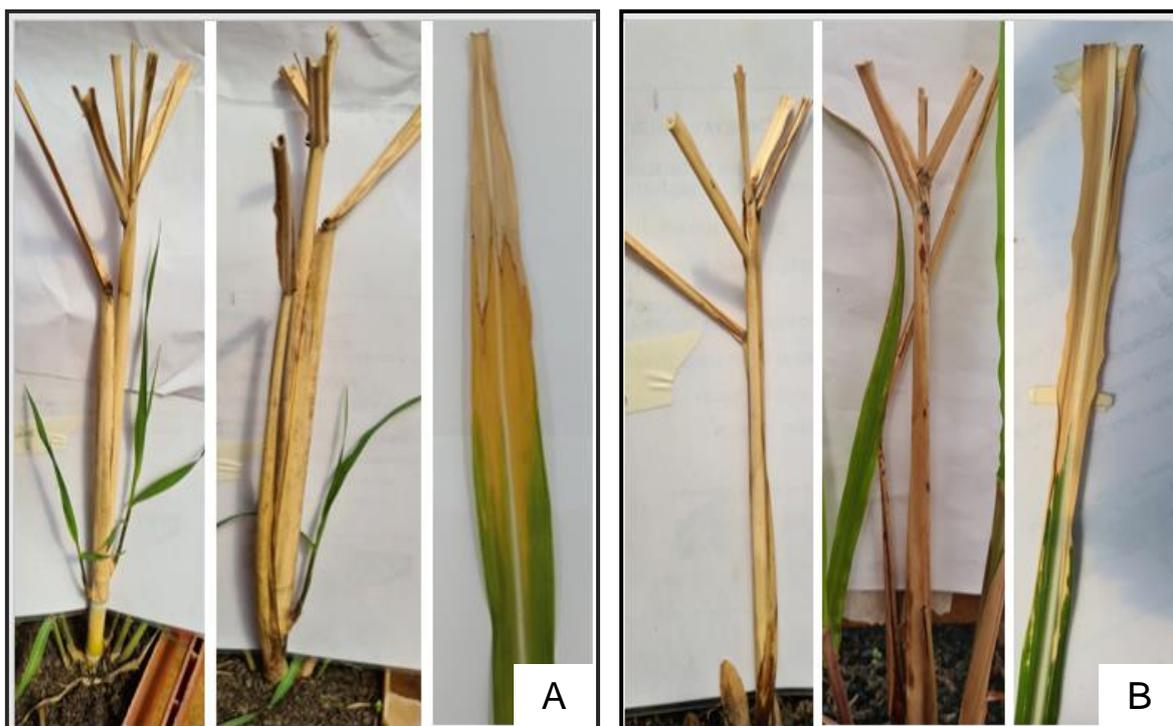


Figura 7. Reação da variedade de cana-de-açúcar RB9669288 à escaldadura-das-folhas. A: Duplicata um; B: Duplicata dois.

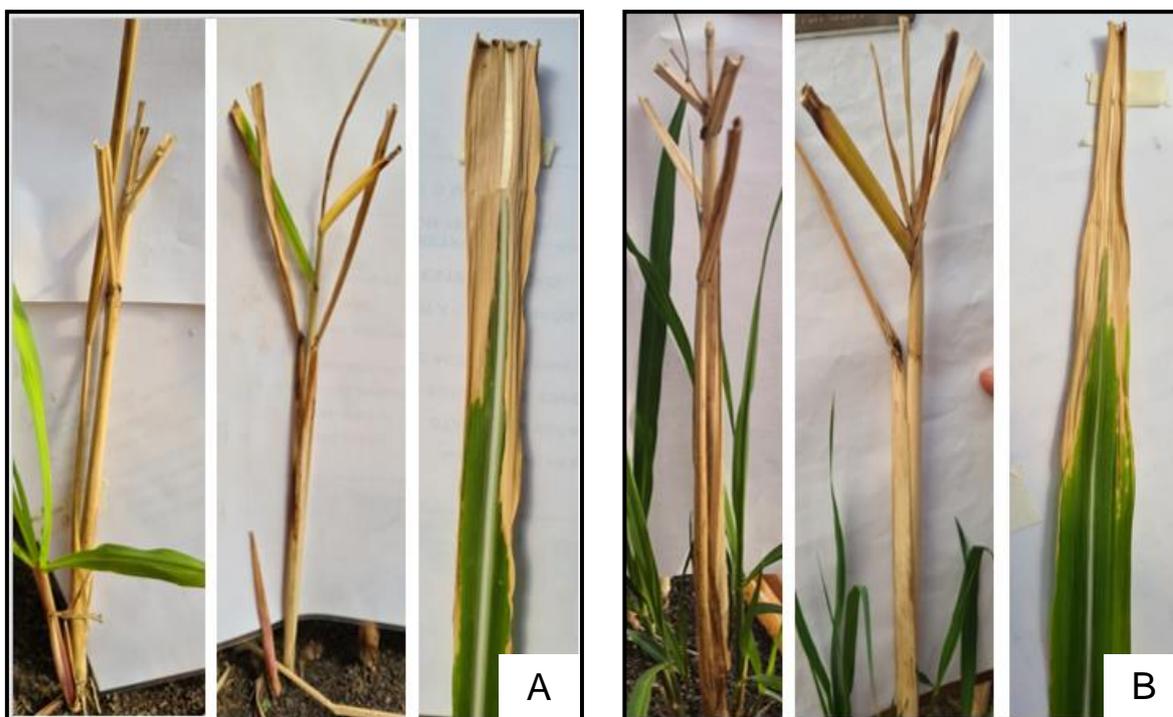


Figura 8. Reação da variedade de cana-de-açúcar. RB92579 à escaldadura-das-folhas. A: Duplicata um; B: Duplicata dois.

Por outro lado, as variedades RB985476, RB975033 e RB975952 apresentaram os valores mais baixos associados aos sintomas, variando entre 1,4 e 1,6; classificando-as como variedades resistentes, dentro do intervalo de 1 a 2, exibiram

apenas danos leves nas folhas, com um leve início de clorose observado em algumas delas. Os resultados obtidos na duplicata do experimento foram altamente consistentes com os resultados do primeiro experimento. Os dados coletados em ambas as avaliações demonstraram padrões semelhantes e tendências congruentes em toda as variedades avaliadas como visto nas figuras 9 e 10.



Figura 9. Reação de variedades de cana-de-açúcar classificadas como resistentes à escaldadura das folhas. Duplicata um; A: Variedade RB985476; B: RB975033; C:RB975952.



Figura 10. Reação de variedades de cana-de-açúcar classificadas como resistentes à escaldadura das folhas. Duplicata dois; A: Variedade RB985476; B: RB975033; C:RB975952.

Além das classificações previamente mencionadas, foram identificados dois grupos de variedades que se encontram em um ponto intermediário entre as mais resistentes e as mais suscetíveis. As variedades classificadas como moderadamente suscetíveis apresentaram sintomas da doença com gravidade próxima às variedades consideradas moderadamente resistentes. As variedades RB975242 e RB005014 foram consideradas moderadamente resistentes, com valores variando entre 2,4 e 2,7 na primeira duplicata e entre 2,4 e 2,6 na segunda duplicata. Por outro lado, as variedades RB855156, RB975201 e RB867515 foram classificadas como moderadamente suscetíveis, com valores variando entre 3,3 e 3,5 na primeira duplicata e de 3,3 a 3,6 na segunda duplicata. Nas variedades moderadamente resistentes, destacaram-se sintomas de clorose em mais de 50% da área foliar, chegando em algumas ocasiões a uma clorose completa no limbo foliar, mas sem a presença de necrose (Figura 11-12). Em contrapartida, as variedades moderadamente suscetíveis mostraram sintomas variados, com clorose presente em diferentes proporções nas folhas e o aparecimento de início de necrose, que não ultrapassou 50% da área foliar (Figura 13-14).

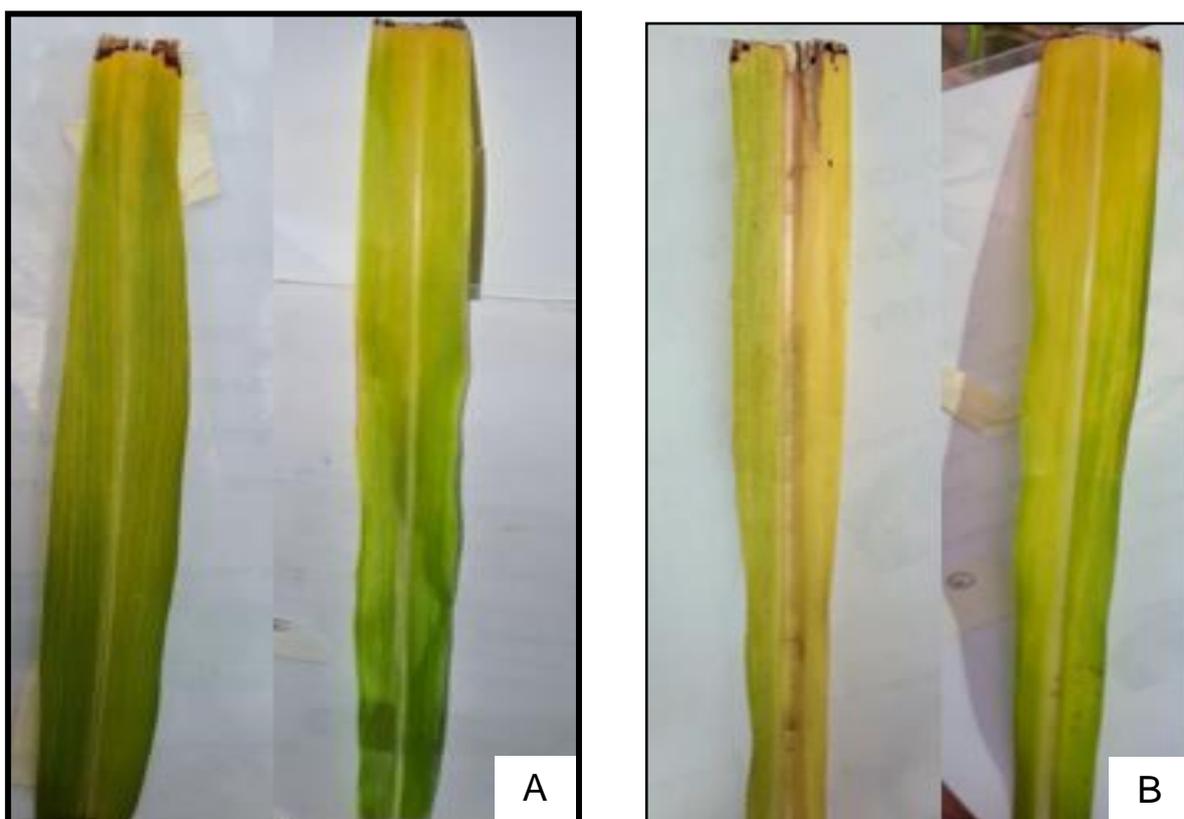


Figura 11. Reação da variedade de cana-de-açúcar RB975242 à escaldadura-das-folhas. A: Duplicata um; B: Duplicata dois.

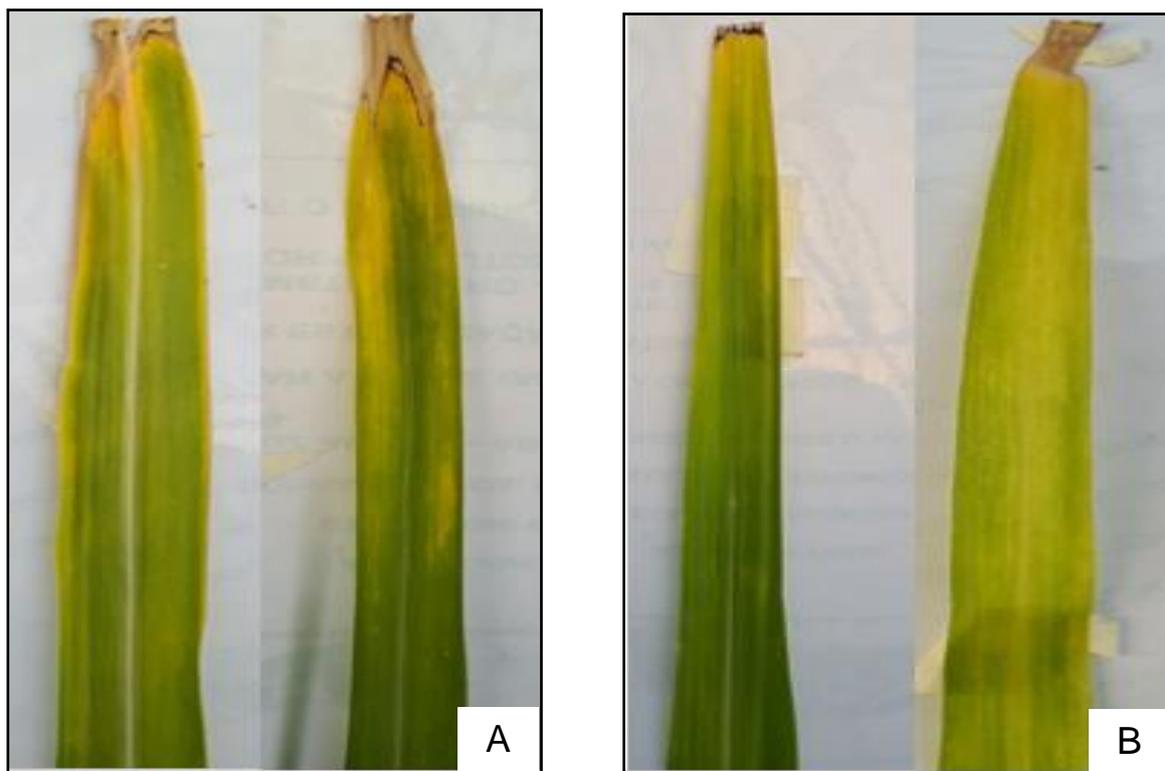


Figura 12. Reação da variedade de cana-de-açúcar RB005014 à escaldadura-das-folhas. A: Duplicata um; B: Duplicata dois

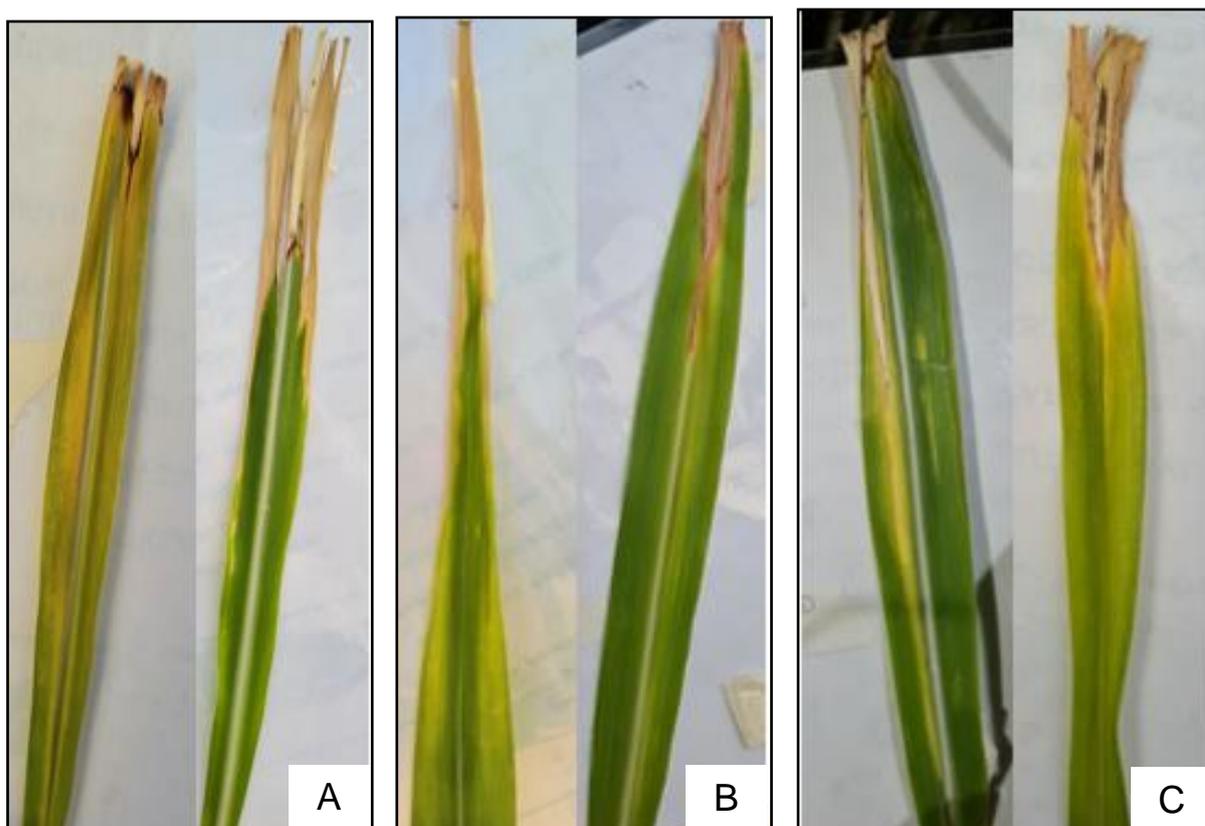


Figura 13. Reação de variedades de cana-de-açúcar classificadas como moderadamente suscetíveis a escaldadura-das-folhas. Duplicata um; A: Variedade RB855156; B: RB975201; C: RB867515.

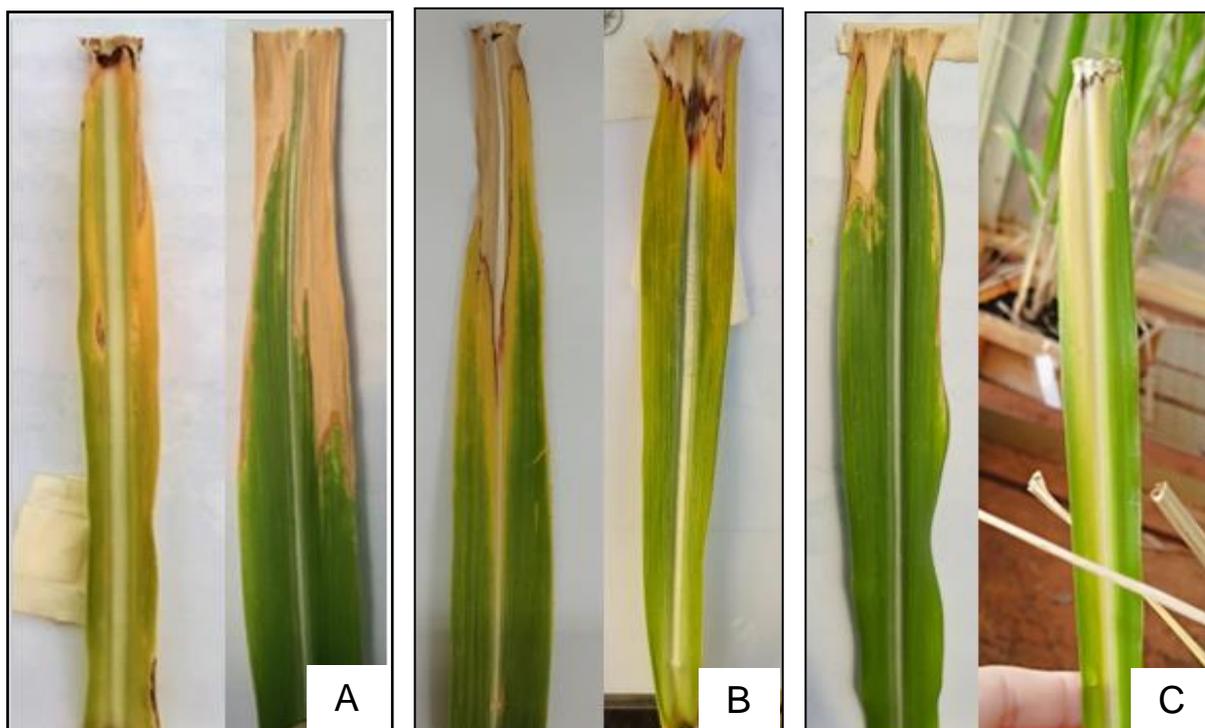


Figura 14. Reação de variedades de cana-de-açúcar classificadas como moderadamente suscetíveis a escaldadura-das-folhas. Duplicata dois; A: Variedade RB855156; B: RB975201; C:RB867515.

Sintomas semelhantes foram observados nos cultivares inoculados por Garces *et al.* (2014). Duas ou três semanas após a inoculação, as folhas inoculadas apresentaram sintomas como clorose e necrose do tecido a partir da borda da folha cortada em direção à base da folha. Após 8 semanas, também foi observada a morte das plantas nos cultivares. Os sintomas observados em nossa pesquisa e os observados por Garces *et al.* (2014) são consistentes com os relatados na literatura, como a presença de clorose nas folhas com linhas estreitas de tonalidade branca ou amarela, bem como áreas de necrose limitadas ou extensas. Além disso, em uma fase avançada da doença, pode causar morte repentina dos colmos maduros, muitas vezes sem expressão prévia de sintomas, especialmente em variedades susceptíveis (RICAUD e RYAN, 1989; 1986; ROTT; DAVIS, 2000), como foi o caso em que observamos a morte de plantas nas variedades RB92579 e RB9669288, consideradas susceptíveis de acordo com os dados obtidos na pesquisa.

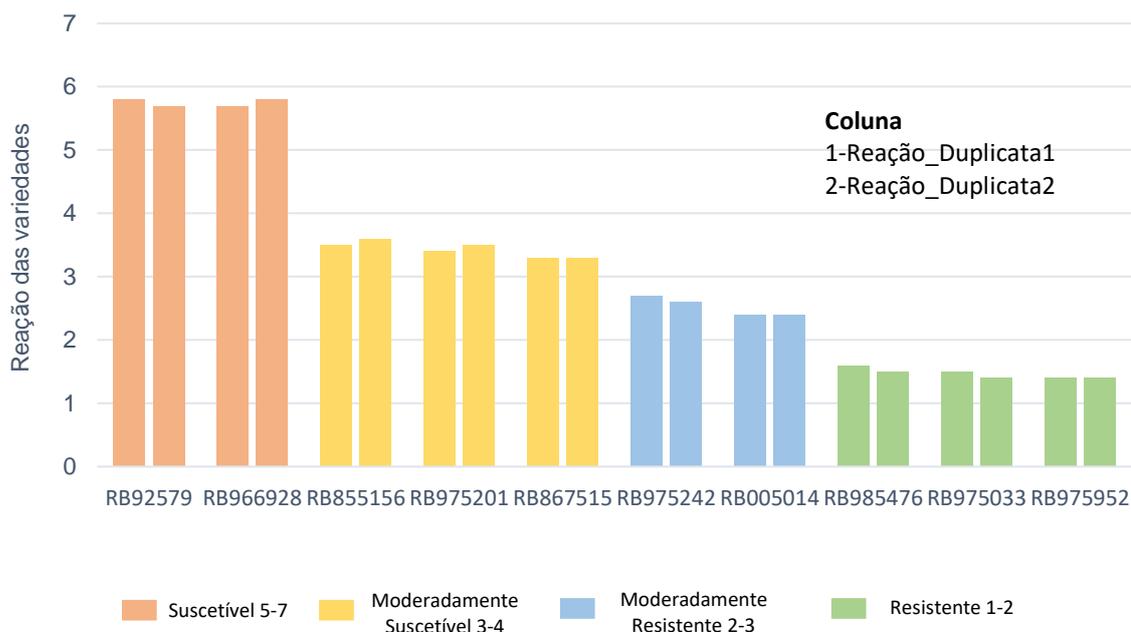


Figura 15. Classificação visual das reações das variedades de cana-de-açúcar à escaldadura-das-folhas.

Em seu estudo, Gutiérrez *et al.* (2016) aplicaram um sistema de critério de avaliação similar em sua pesquisa sobre a resistência à escaldadura-das-folhas em 31 clones de cana-de-açúcar. A avaliação visual dos sintomas foi baseada em uma escala de classificação de notas de 1 a 9, onde as plantas com notas de 1 a 3 foram consideradas resistentes, aquelas que obtiveram notas de 4 a 6 foram classificadas como moderadamente suscetíveis e aquelas com notas de 7 a 9 apresentaram os sintomas mais graves, incluindo necrose nas folhas e morte dos colmos. Os resultados de sua pesquisa, obtidos a partir de três experimentos realizados durante os anos de 2011 e 2012, mostraram padrões claros de comportamento entre os cultivares de controle resistentes e suscetíveis. Os cultivares de controle resistentes apresentaram pontuações mais baixas, na faixa de 1 a 3, tanto após 8 semanas quanto após 12 semanas da inoculação. Isso sugere que as variedades de cana-de-açúcar com maior resistência à escaldadura-das-folhas mantêm uma menor gravidade de sintomas. Por outro lado, os cultivares de controle suscetíveis obtiveram pontuações médias de 4 a 6, o que indica que as variedades mais suscetíveis apresentaram sintomas mais graves e podem ser mais vulneráveis à doença em diferentes estágios de desenvolvimento. Com base nos dados obtidos em nossa pesquisa, juntamente com os dados de Gutiérrez *et al.*, (2016), podemos constatar que as variedades de cana-de-açúcar com maior resistência à escaldadura-das-folhas apresentam sintomas

extremamente leves em comparação às variedades suscetíveis, cujos índices de gravidade associados aos sintomas são significativamente mais altos, corroborando a importância da resistência na redução dos danos causados pela doença. Diferentemente do estudo de Gutiérrez *et al.*, 2016, nossa pesquisa identificou um grupo intermediário de variedades moderadamente suscetíveis e moderadamente resistentes (Figura 15). Essas variedades exibiram sintomas e índices de gravidade que se situavam entre os extremos das variedades suscetíveis e resistentes, o que foi importante porque permitiu uma compreensão mais detalhada e precisa da resposta das plantas à doença. Ao invés de termos apenas duas categorias amplas (suscetíveis e resistentes), a inclusão desses grupos intermediários nos ajudou a entender a diversidade existente entre as variedades. Essas descobertas têm implicações significativas para a seleção de variedades mais adequadas para enfrentar a doença, podem contribuir para estratégias de manejo e controle mais eficazes da escaldadura-das-folhas, bem como para programas de melhoramento genético, visando o desenvolvimento de variedades ainda mais resistentes e adaptadas às condições específicas de cultivo.

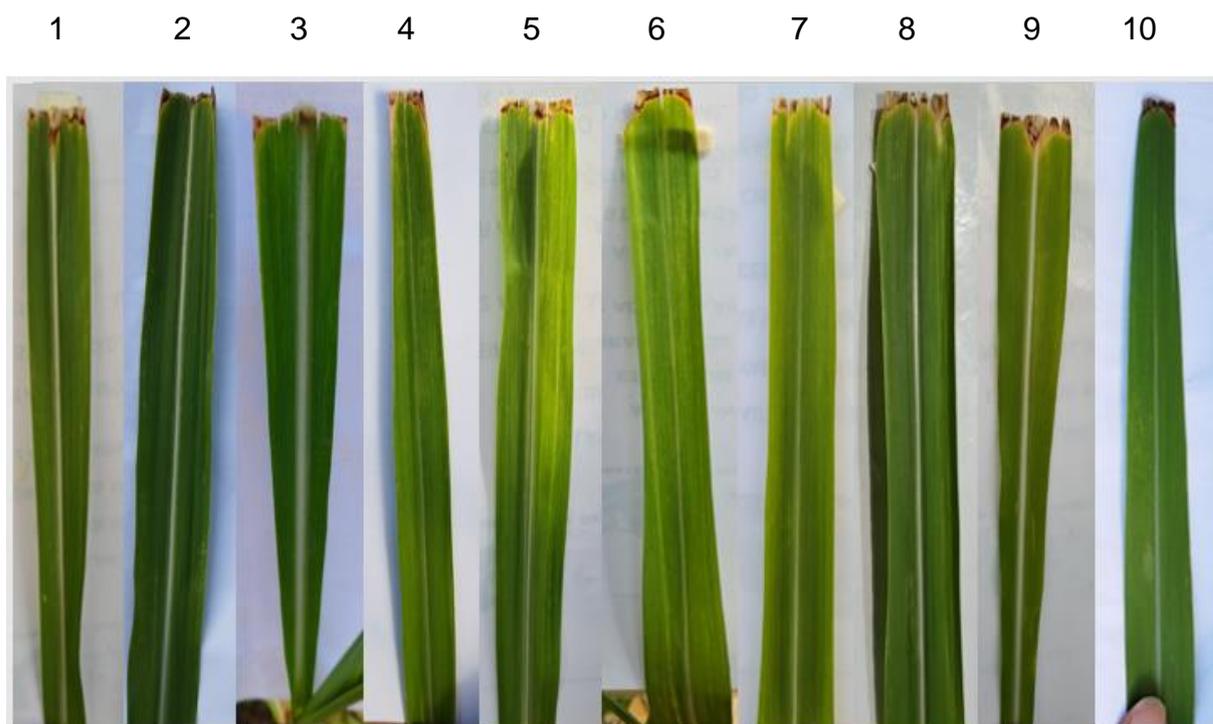


Figura 16. Variedades de cana-de-açúcar controle inoculadas com água: 1:RB92579; 2:RB9669288; 3:RB855156; 4:RB975201; 5:RB867515; 6: RB975242; 7: RB005014; 8: RB985476; 9: RB975033; 10: RB975952.

É importante ressaltar que, durante a avaliação, também foram incluídas plantas controle que foram inoculadas com água em vez do inóculo da bactéria. Essas plantas controle mostraram a classificação mais baixa possível, pois não foi observada a presença de nenhum sintoma associado à doença, inclusive nas variedades suscetíveis, como mostrado na Figura 16. Este grupo de controle é crucial para garantir a validade dos resultados e confirmar que os sintomas observados nas variedades avaliadas foram efetivamente causados pela presença do patógeno e não por outros fatores ambientais ou de manejo. A inclusão de plantas controle inoculadas com água permite estabelecer um ponto de referência para comparar as reações das variedades frente à doença. Esses controles negativos ilustram como seria a área fotossintética das folhas no caso de as canas não estarem doentes, em outras palavras, mostram a diferença entre uma cana com e sem escaldadura-das-folhas.

Na Tabela 3 são observados os resultados obtidos de severidade de cada variedade à escaldadura-das-folhas. Em ambas duplicatas, de acordo com a análise de variância (ANOVA), foram observadas diferenças altamente significativas entre a severidade das diferentes variedades a escaldadura-das-folhas ($p < 0,0001$).

Tabela 3. Severidade de escaldadura-das-folhas em dez variedades de cana-de-açúcar aos 35 dias após a inoculação.

Variedade	Severidade	
	Duplicata 1	Duplicata 2
RB92579	82,85a	81,43a
RB9669288	81,49a	82,85a
RB855156	50,23b	51,42b
RB975201	49,52b	50,00bc
RB867515	47,38bc	47,62bc
RB975242	38,57bc	38,57cd
RB005014	35,00c	34,28d
RB985476	23,33d	20,95e
RB975033	21,43d	20,00e
RB975952	20,95d	21,43e

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

No teste de Tukey a 5% da duplicata um, observou-se que as variedades RB92579 e RB9669288 apresentaram os valores mais altos de severidade da doença,

com 82,85% e 81,49%, respectivamente, sendo significativamente diferentes das demais variedades. Essas variedades foram agrupadas em um grupo separado, mostrando maior susceptibilidade à escaldadura-das-folhas. Por outro lado, as variedades RB985476, RB975033 e RB975952 mostraram os valores mais baixos de severidade, com 23,33%, 21,43% e 20,95% pontos, respectivamente, exibindo maior resistência à doença em comparação com as demais variedades avaliadas. Na duplicata dois, novamente observou-se que as variedades RB92579 e RB9669288 apresentaram os maiores valores de severidade, com 81,43% e 82,85% pontos, respectivamente, mostrando diferenças significativas em relação às demais variedades. Por outro lado, as variedades RB985476, RB975033 e RB975952 também mostraram os menores valores de severidade nesta duplicata, com 20,95%, 20,00% e 21,43% e foram estatisticamente similares entre si. Esses resultados reforçam a ideia de que as variedades RB92579 e RB9669288 são mais susceptíveis à escaldadura da folha, enquanto as variedades RB985476, RB975033 e RB975952 exibem maior resistência à doença. É importante destacar que as variedades consideradas suscetíveis são amplamente cultivadas no Brasil. Atualmente, a variedade RB9669288 é a mais cultivada, ocupando 16,2% da área de produção e sendo a segunda mais utilizada em áreas de plantio, com uma participação de 11,1%. Já a variedade RB92579 é a quinta variedade mais cultivada no Brasil, com uma área de produção de 4,7% (CHAPOLA, 2022). Em relação às variedades RB855156, RB975201, RB867515, RB975242 e RB005014, ambas as duplicatas apresentam níveis de severidade da escaldadura-das-folhas que se encontram em uma escala intermediária entre as mais susceptíveis (RB92579 e RB9669288) e as mais resistentes (RB985476, RB975033 e RB975952). Não apresentam diferenças significativas entre elas em relação à severidade da doença, mas sim em comparação com as demais variedades. Seus valores de severidade não são tão extremos como os das variedades mais susceptíveis ou resistentes.

Os resultados obtidos em nosso experimento estão de acordo com pesquisas anteriores realizadas por Rott *et al.* (1997) e García *et al.* (2014), que também avaliaram a resistência da cana-de-açúcar à escaldadura-das-folhas. Rott *et al.* (1997) conduziram estudos de campo e estufa e constataram que as variedades resistentes apresentavam poucos ou nenhum sintoma da doença, enquanto as variedades suscetíveis exibiam sintomas graves. Essas observações foram consistentes em

ambas fases de suas pesquisas e revelaram que algumas variedades eram altamente suscetíveis, atingindo valores próximos a 99,5% de severidade, enquanto outras variedades eram mais resistentes, exibindo valores tão baixos como 0%, especialmente na fase inicial do cultivo. Por outro lado, Garcia *et al.* (2014) obtiveram um índice que representa a severidade geral da doença em cada planta, e os resultados mostraram uma severidade variando de 20,4% a 36,6% para as variedades suscetíveis, em comparação com 0,3% a 2,2% para as variedades resistentes.

Em outras pesquisas, foi possível observar a importância de determinar a resistência das variedades, uma vez que quanto maiores os índices de severidade dessa doença, maiores foram os danos causados à produção. Um exemplo disso é o estudo realizado por Rott *et al.* (1995) em Guadalupe, onde sete variedades de cana-de-açúcar foram avaliadas em um campo experimental. Foi constatado que uma dessas variedades, a B69379, foi significativamente mais afetada pela escaldadura-das-folhas, apresentando uma severidade de 63,3% durante a primeira colheita (plantio da cana). Em contraste, as variedades resistentes apresentaram uma média de severidade entre 0,4% e 0,7%. É relevante destacar que a presença dessa doença teve um impacto significativo no rendimento da variedade B69379 durante a primeira colheita, resultando em perdas de 21%. No México, foi possível observar os danos causados por essa doença, levando à eliminação e substituição de 800 hectares da variedade MEX64-1487 em Veracruz. Com o objetivo de avaliar a resposta de diferentes variedades de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L.) a *X. albilineans*, incluindo MEX69-290, MEX68-P23, MEX79-431, RB73-9735, CP74-2005, Q-96, RD75-11, CP72-2086, Co-997 e MEX64-1487, Huerta-Lara *et al.* (2003) conduziram uma pesquisa em um campo experimental. Os resultados dessa pesquisa indicaram que a doença teve um impacto significativo no rendimento das variedades suscetíveis, como MEX68-P23, MEX69-290 e MEX64-1487, resultando em uma redução de 13,27%, 12,0% e 14,5% na produção por hectare,

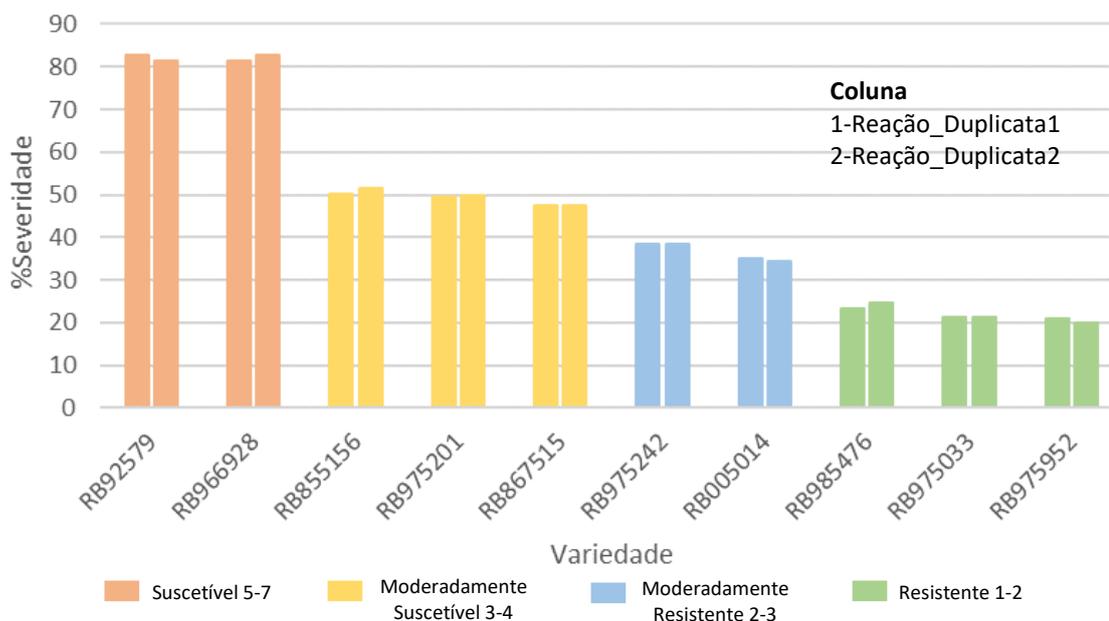


Figura 17. Severidade de escaldadura-das-folhas nas variedades de cana-de-açúcar de acordo com a classificação visual dos sintomas.

Em um campo comercial da variedade RB9669288, pudemos observar uma situação similar à observada por Rott *et al.* (1995) em Guadalupe e Huerta *et al.* (2003) no México. O campo comercial apresentou perdas significativas na produção entre 54,2 % e 56,9 % devido à escaldadura-da-folha. Esses dados sugerem que essa variedade é suscetível à doença, levando em consideração pesquisas anteriores que associam as perdas de produção à suscetibilidade das variedades. Podemos concluir que a variedade RB9669288 é realmente suscetível à escaldadura-das-folhas, e nosso estudo de pesquisa reforça ainda mais essa conclusão, pois após a inoculação, foram observados níveis elevados de sintomas associados à doença, alcançando uma severidade que variou entre 81% e 82%. Esses valores são consistentes com o que se esperaria em uma variedade suscetível à escaldadura-das-folhas. Com base nesses dados, podemos inferir que uma situação similar pode ocorrer com a variedade RB92579, que também foi classificada como uma das variedades suscetíveis, mostrando uma severidade semelhante à RB96628 de 81% e 82%, conforme observado na Figura 17.

Com esses dados em nossa pesquisa, podemos ressaltar a importância de estudar a resistência das variedades de cana-de-açúcar utilizadas nos campos comerciais do Brasil, já que as variedades mais comumente cultivadas e empregadas em áreas de plantio, como é o caso da variedade RB9669288, não estão imunes a

serem significativamente afetadas pela escaldadura-das-folhas. O fato de uma variedade tão amplamente cultivada, como a variedade RB9669288, poder ser afetada pela escaldadura-das-folhas, destaca a necessidade de aprofundar o estudo da resistência das variedades de cana-de-açúcar. Compreender quais variedades de cana-de-açúcar são mais suscetíveis e quais são mais resistentes é de extrema importância para a elaboração de estratégias de manejo mais eficientes e sustentáveis na produção. Esse conhecimento é essencial para garantir uma abordagem adequada na prevenção e controle da escaldadura-das-folhas, visando minimizar as perdas de produção

5. Conclusões

O método adotado neste estudo é eficiente para classificar a reação de variedades de cana á escaldadura-das-folhas, pois permitiu dividir as 10 variedades avaliadas em grupos em 4 grupos de reação:

- ✓ As variedades de cana-de-açúcar RB92579 e RB966928 são suscetíveis á escaldadura das folhas, enquanto que as variedades RB975033, RB975952 e RB985476 são resistentes.
- ✓ Em um grupo intermediário, estão as variedades RB975242 e RB005014 consideradas moderadamente resistentes, e as variedades RB855156, RB867515 e RB975201, classificadas como moderadamente suscetíveis.

6. Literatura citada

CARNEIRO, J.; SILVEIRA, S.; SOUZA FILHO,G.; OLIVARES, F.; GIGLIOTI E. Especificidade de anti-soro policlonal à *Leifsonia xyli subsp. xyli*. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.6, 614-619, 2004.

CHAPOLA, R. **Variedades de cana-de-açúcar mais cultivadas nos estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul em 2021**. Disponível: <https://www.revistacanavieiros.com.br/variedades-de-cana-de-acucar-mais-cultivadas-nos-estados-de-sao-paulo-e-mato-grosso-do-sul-em-2021>, 2022.

DAVIS, M.; ROTT, P.; BAUDIN, P.; DEAN, J. Evaluation of selective media and immunoassays for detection of *Xanthomonas albilineans*, causal agent of sugarcane leaf scald disease. **Plant Disease**, v.78, n.1,78-82, 1994.

- GARCES, F.; GUTIERREZ, A.; HOY, J. Detection and Quantification of *Xanthomonas albilineans* by qPCR and Potential Characterization of Sugarcane Resistance to Leaf Scald. **Plant Disease**, v.98, n.1, 121-126, 2014.
- GARCIA, H.; ORTIZ, C.; SALGADO, S.; VALDEZ, A.; SILVA, H.; OVALLE, W. Presence of *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson in sugarcane crops in la chontalpa, Tabasco, México. **Revista Fitotecnia Mexico**. v. 38, 397-404, 2015.
- GUTIERREZ A, GARCES FF, HOY JW. Evaluation of resistance to leaf by quantitative PCR of *Xanthomonas albilineans* in sugarcane. **Plant Disease**.v.100, n.7, p. 1331-1338, 2016.
- HUERTA-LARA, M.; ARENAS, L.; SANCHEZ, C.; FUCIKOVSKY-ZAK. L.; GARCIA, M. Resposta de 10 variedades de cana-de-açúcar à escaldadura da folha de *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson na região costeira central de Veracruz. **Agrociência**, v. 37, n. 5, p. 511-519, 2003.
- RICAUD, C; RYAN, C. **Leaf scald**. En Ricaud C, Egan BT, Gillaspie AG Jr, Hughes CG (Eds.) Diseases of sugarcane. Major diseases. Elsevier. Amsterdam, Holanda. pp. 39- 58, 1989.
- ROTT, P.; DAVIS, M.J. **Leaf scald**. In: **A Guide to Sugarcane Diseases**; Rott, P., Bailey, R.A., Comstock, J.C., Croft, B.J., Saumtally, S., Eds.; CIRAD/ISSCT: Montpellier, France, pp. 38–44, 2000.
- ROTT, P.; MOHAMED, I.; KLETT, P.; SOUPA, D.; SAINT-ALBIN, A; FELDMANN. P; LETOURMY, P. Resistance to leaf scald disease is associated with limited colonization on sugarcane and wild relatives by *Xanthomonas albilineans*. **Phytopathology**, v. 87, n.12, p.1202-1213, 1997.
- ROTT, P.; SOUPA, D.; FELDMANN. P.; LETOURMY, P. Leaf scald (*Xanthomonas albilineans*) incidence and its effect on yield in seven sugarcane cultivars in Guadeloupe. **Plant Pathology**, v.44, n. 6, p. 1075-1084, 1995.
- ABDAL, A. **Sobre regiões e desenvolvimento: o processo de desenvolvimento regional brasileiro no período 1999-2010**. Tese (Doutorado em Sociologia) – Faculdade de Filosofia, Letras e Ciências Humanas, Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 261. 2015.
- TARDIANI, A. **Caracterização da variabilidade genética em isolados de *Xanthomonas albilineans* oriundos de diferentes regiões do Brasil**. Tese

(Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, p.31.2013.

TOKESHI, H.; RAGO, A. Doenças da Cana-de-açúcar. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**. 4 ed. São Paulo, 2005. 197-223 p.

URASHIMA, A.; GRACHET, N. Métodos de detecção de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* e efeito da termoterapia na brotação das gemas de diferentes variedades de cana-de- açúcar. **Tropical Plant Pathology**, v.37, n. 1, 57-64, 2012.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Capítulo 1

No campo comercial A, onde a variedade de cana RB966928 com dez meses de idade estava sendo cultivada, observou-se uma alta severidade de escaldadura-das-folhas, resultando em uma ampla incidência da doença (48,80%) no campo. Essa situação causou danos significativos na produção de cana-de-açúcar, com uma perda de produção de 54,2% nas touceiras assintomáticas e 56,9% nas sintomáticas. A principal causa desse problema é atribuída ao fato de que mudas contaminadas pela doença foram utilizadas na área de reforma. Por outro lado, no campo comercial B (campo de referência), que também era uma área de reforma e utilizava a mesma variedade de cana-de-açúcar, os resultados foram completamente diferentes. A diferença chave estava no fato de que as mudas utilizadas nesse campo vinham de uma fonte diferente, o que evitou a presença da doença e, como consequência, manteve a produção estável. Dadas essas diferenças entre os campos comerciais A e B, é evidente que o uso de mudas saudáveis e livres da bactéria causadora da queima de folhas desempenha um papel crucial na prevenção da propagação da doença e na proteção da produção. Portanto, é importante promover e utilizar exclusivamente mudas saudáveis e certificadas nos programas de replantio de cana-de-açúcar. Isso garantirá que as novas áreas de produção não sejam afetadas pela escaldadura-das-folhas e ajudará a manter a viabilidade e sustentabilidade de longo prazo das culturas. Ao adotar essa medida preventiva, os produtores poderão evitar perdas significativas na produção e proteger o rendimento e a qualidade de suas colheitas.

Capítulo 2

No Brasil, até o momento, não foram realizados estudos específicos sobre a resistência das variedades à escaldadura-das-folhas, possivelmente devido à falta de registros de dados que demonstrem os danos causados por essa doença e seu impacto na produção de cana-de-açúcar. Nosso estudo é o primeiro a focar na avaliação da resistência das variedades mais cultivadas e utilizadas nas áreas de plantio do país. A resistência das variedades é um método eficaz para controlar essa doença, porém, sem informações suficientes sobre os graus de resistência ou susceptibilidade de cada variedade, é difícil que os produtores optem por esse enfoque de controle. Com os dados obtidos, observamos que a variedade

RB9669288, considerada uma das mais importantes devido à sua alta presença nos campos comerciais do Brasil, mostrou susceptibilidade a essa doença, com uma porcentagem de severidade entre 81% e 82%, o que pode causar perdas na produção do cultivo, como foi observado no Capítulo 1. A mesma situação foi observada na variedade RB92579. Esses resultados destacam a necessidade de continuar pesquisando para compreender o comportamento de outras variedades utilizadas no Brasil em relação a essa doença. Dispor de informações adequadas nos permitiria selecionar e promover o crescimento de variedades com alta resistência à doença, fortalecendo assim a capacidade das culturas de enfrentá-la e reduzir sua incidência e severidade. Isso, por sua vez, poderia incentivar os produtores a adotarem esse método de controle, considerado o mais eficaz.