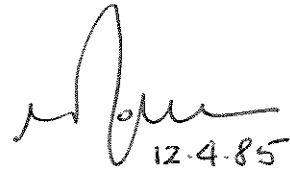


Este exemplar corresponde a redação final
da Tese defendida pelo Eng.º Agr.º Marcos Antônio
Sanchez Vieira e aprovada pela comissão
juladora


12.4.85

INDUÇÃO DE MUTAÇÕES, ATRAVÉS DE RAIOS GAMA,
VISANDO RESISTÊNCIA AO VÍRUS DO MOSAICO DA
CANA-DE-AÇÚCAR

Indução de Mutações, Através de Raios Gama, Visando Resistência ao Vírus do Mosaico da Cana-de-Açúcar

MARCOS ANTONIO SANCHES VIEIRA
Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. Lourival Carmo Mônaco

Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

CAMPINAS
1984

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

À minha esposa Lílíana e aos meus filhos
Gustavo, Renata e Guilherme

Dedico

AGRADECIMENTOS

O autor agradece a todos que colaboraram na realização deste trabalho, especialmente:

Ao Prof. Dr. Lourival Carmo Mônaco, pela orientação, pelo apoio, pela oportunidade de trabalhar sob sua administração e pela revisão dos originais.

Ao Dr. Sizuo Matsuoka, pelas sugestões e pelas facilidades de pessoal e material que permitiram a execução deste trabalho.

Ao Engº Agrº Irineu Fonseca, pela colaboração nos testes de campo desenvolvidos na Estação Experimental Regional de Bandeirantes-PR.

Aos Engºs Agrºs Norberto Antonio Lavoretti e Ester Maria C.F.Cavalcanti, pela colaboração nas análises estatísticas.

À Seção de Radiogenética do CENA pelo trabalho de irradiação e especialmente ao Prof. Dr. Augusto Tulman Neto, pela colaboração na discussão do trabalho.

Ao Instituto do Açúcar e do Alcool - PLANALSUCAR, pela oportunidade nesta especialização.

Ao técnico agrícola Válder Aparecido Longo, pelas inoculações e auxílio nas avaliações do mosaico.

Aos colegas pesquisadores, técnicos agrícolas, secretárias, trabalhadores braçais que contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

	página
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1. A cultura e o melhoramento da cana-de-açúcar	5
2.2. O vírus do mosaico na cana-de-açúcar	7
2.3. Mutação	9
2.3.1. Mutação por irradiação em cana-de-açúcar	11
2.3.2. Mutações morfológicas e fisiológicas em cana-de-açúcar	12
2.3.3. Mutação para resistência a agentes patogênicos em cana-de-açúcar	14
2.3.4. Dosagens de irradiação gama	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1. Estudo preliminar para calibração da dose de raios gama à variedade Co740 e avaliação dos efeitos da irradiação conforme SPARROW (1953) e TYSDAL (1956)	19
3.2. Indução de tolerância ao vírus do mosaico na variedade Co740 com irradiação gama na dose 5,5 kR	21
4. RESULTADOS	27
4.1. Estudos de calibração da dose de irradiação gama para a variedade Co740	27
4.1.1. Avaliações de germinação	27

4.1.2. Medidas da altura das plantas pelos dois critérios utilizados	29
4.1.3. Avaliações de características agro nômicas	33
4.2. Resultados das avaliações da variedade Co 740 irradiada com a dose 5,5 kR de raios gama e inoculada com vírus do mosaico ...	34
5. DISCUSSÃO	39
5.1. Análise dos resultados obtidos na calibra ção da dose ótima de irradiação gama para a variedade Co740	39
5.2. Discussão das observações verificadas na variedade Co740 irradiada com a dose 5,5 kR de raios gama e inoculada com vírus do mosaico	42
6. CONCLUSÕES	48
7. RESUMO	51
8. SUMMARY	53
9. BIBLIOGRAFIA	55

LISTA DE TABELAS

	página
Tabela 1. Frequência de touceiras que continham os números de colmos indicados a fornecerem as 6 gemas para o teste de suscetibilidade ao vírus do Mosaico.	63
Tabela 2. Dados de avaliações de germinação após irradiação de mini-toletes de cana-de-açúcar com as doses indicadas de Co^{60} (irradiação gama)	64
Tabela 3. Medidas da altura das plantas em cm, utilizando-se dois critérios: medida 1 (do solo até o "dewlap" da folha +1) e medida 2 (do solo até a ponta da folha +1)	65
Tabela 4. Resultados da análise estatística com dados de quatro características morfológicas em cana-planta VM2 obtidas na progênie selecionada da variedade Co 740 irradiada com cinco doses de raios gama.	67
Tabela 5. Resultados da análise estatística com dados de quatro parâmetros tecnológicos obtidos na progênie selecionada da variedade Co740 irradiada.	68
Tabela 6. Avaliação de plantas na progênie da variedade Co740 com doses 5,5 kR, ino	

culadas com vírus do mosaico em casa de vegetação - vM2, que não apresentaram os sintomas da moléstia. 1ª avaliação: 27/12/79 - 2ª avaliação: 05/05/80.

69

Tabela 7. Avaliação de plantas na progênie da variedade Co740 com doses 5,5 kR, inoculadas com vírus do mosaico em casa de vegetação - vM4, que não apresentaram os sintomas da moléstia. 1ª avaliação: 05/11/81 - 2ª avaliação: 04/12/81

71

Tabela 8. Resultados de avaliações de Mosaico em condições de campo (inoculação natural) vM4. 1ª avaliação: 08/01/82
2ª avaliação: 28/05/82

72

Tabela 9. Resultados de avaliação de Mosaico em condições de campo (inoculação natural) vM5 soca. Avaliação: 11/01/83.

74

Tabela 10. Resultados de avaliação de Mosaico em condições de campo (inoculação natural) vM5 - planta. Avaliação: 11/01/83

76

Tabela 11. Resultados de avaliação de Mosaico em condições de campo vM6*. Avaliação: 11/10/83. Mudanças provenientes de cana-planta.

77

Tabela 12. Resultados de avaliação de Mosaico em condições de campo vM6*. Avaliação:

11/10/83. Mudas provenientes de cana-
soca.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Fluxograma dos testes preliminares de irradiação gama na variedade Co740 para escolha da dose ótima.	25
Figura 2. Fluxograma das atividades visando avaliar o comportamento da progênie da variedade Co740 submetida a irradiação gama (5,5 kR).	26
Figura 3. Variedade de cana-de-açúcar Co740 irradiada com Co^{60} . À esquerda, clone obtido com a dose 5,0 kR, mostrando maior vigor e perfilhamento na brotação do que a testemunha, à direita, sem irradiação.	37
Figura 4. Variedade de cana-de-açúcar Co740 irradiada com Co^{60} . Clone obtido com dose 6,0 kR (esquerda). Testemunha dose 0,0 kR (direita)	37
Figura 5. Progênie modificada da variedade Co740 irradiada com Co^{60} à dose 7,0 kR.	38
Figura 6. Detalhe das "sardas" nas folhas da progênie irradiada com 7,0 kR de raios gama Co^{60} .	38
Figura 7. Altura média das progênies da variedade Co740 irradiada com cinco doses de raios gama, utilizando-se dois critérios de avaliação.	47

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é, indiscutivelmente, uma das mais importantes culturas exploradas no Brasil e no mundo e destaca-se como uma das mais eficientes plantas produtoras de carboidratos. Ocorre em grande extensão territorial, sendo cultivada em diferentes condições de solo e clima, nos dois lados do Equador, entre 35° de latitude Norte e Sul. No Brasil, foi introduzida com os primeiros colonizadores portugueses e, desde então, vem ocupando espaço de destaque na economia agroindustrial. A cultura apresentou flutuações periódicas devido a variações de preço no mercado internacional.

Em 1975, com a criação do PROÁLCOOL, a cultura tomou novo impulso, tendo sido estabelecido como meta a ser atingida em 1987, a produção de 14,3 bilhões de litros de álcool. Na safra de 1984/1985 é esperada a produção de 9,1 bilhões de litros. Essa rápida evolução constitui-se em fato histórico para o país, sendo o maior programa de substituição de derivado do petróleo por combustível líquido renovável. Deve-se ainda considerar os impactos sociais favoráveis, os quais têm ocorrido em muitas regiões do Brasil, principalmente pela ocupação dos cerrados do Mato Grosso e Goiás, gerando melhores condições de emprego, melhoria da qualidade de vida, além da descentralização da mão-de-obra especializada.

Portanto, a cana-de-açúcar representa hoje, um dos suportes mais importantes para as soluções dos proble

mas econômicos e sociais que afligem a nação. Para que esta posição se mantenha, há necessidade de se criar condições para que a competitividade do álcool com o derivado leve do petróleo seja mantida, principalmente pela redução do custo por Kcal líquida gerada.

Nesse sentido, o Programa de Melhoramento da Cana-de-Açúcar aparece como a base fundamental para que se consiga que a produtividade não caia do piso atual e que a seleção de genótipos permita o contínuo incremento no balanço energético cultural.

Os trabalhos de obtenção de variedades híbridas tiveram início em Java e Barbados. Essas variedades selecionadas são utilizadas ainda hoje, ou participam nos programas de melhoramento.

Nos programas de melhoramento, o cruzamento dirigido aumenta a probabilidade de recombinações genéticas que resultam em genótipos de maior interesse. A seleção desse material tem permitido a obtenção de cultivares com características superiores às aquelas cultivadas anteriormente. Devido ao grande número de indivíduos recombinantes, com características indesejáveis, é necessário o plantio e a observação de centenas de milhares de plântulas para aumentar a chance de identificação de um maior número de genótipos favoráveis. Face a essas dificuldades, os melhoristas têm procurado desenvolver técnicas que aumentem a probabilidade de sucesso a um menor custo.

Entre os métodos de melhoramento utilizados, na expectativa de aumentar a variabilidade genética, destaca-se a indução artificial de mutações, nascida das observa

ções de de Vries, 1901, em seu clássico trabalho com *Oenothera*. Posteriormente, H.J. MULLER, em 1927, mostrou trabalhando com *Drosophila*, que os raios X poderiam induzir modificações genéticas diferentes daquelas que ocorriam por recombinação.

Em cana-de-açúcar, apesar da grande variabilidade natural que se pode obter por meio de hibridações interespecíficas e intergenéricas, o número de trabalhos com irradiações tem aumentado muito ultimamente na tentativa de modificar alguma característica negativa específica, morfológica ou fisiológica, em genótipos superiores, evitando desse modo o rompimento de uma combinação superior de genes já obtida anteriormente pelos métodos convencionais de melhoramento. Como a cana-de-açúcar propaga-se vegetativamente, as mutações favoráveis, obtidas artificialmente, apresentam a vantagem de serem propagadas rapidamente para constituírem novas cultivares.

Dentre as variedades de cana-de-açúcar cultivadas na região Centro-Sul, a Co740, não obstante as boas características agroindustriais, é altamente suscetível ao mosaico da cana, o que tem limitado o seu plantio. A obtenção de um clone, originado a partir da Co740 e com maior resistência ao mosaico, iria ocupar uma posição de destaque nessa região, na qual se concentram cerca de 80% da produção canavieira do Brasil.

Com esse objetivo, foi realizada a presente pesquisa com ênfase nos seguintes pontos: 1) estabelecer a dose ótima de irradiação gama, capaz de produzir modificações genéticas na variedade de cana-de-açúcar Co740; 2) com

parar pela análise das progênies em gerações vegetativas avançadas, o grau de resistência obtido através de inoculações artificiais e naturais com o vírus do mosaico da cana;
3) selecionar clones originados da variedade Co740, resistentes ao vírus.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. A cultura e o melhoramento da cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar é historicamente citada desde o tempo das civilizações pré-históricas, anterior mesmo à era cristã. Entretanto, devido a controvérsias quanto sua origem e sua forma de reprodução, a genética da cana-de-açúcar é muito pouco conhecida. (BRANDES, 1956)

Botanicamente ela é classificada como uma graminea perene, pertencente ao gênero *saccharum* subdividido em várias espécies. Sendo a cana de característica perene, após o corte da cana-planta, obtém-se a primeira soca, que se forma a partir da brotação do restolho, ou seja, o caule subterrâneo. Posteriormente, obtém-se a segunda soca ou resso ca e assim sucessivamente até atingir declínio de produtividade com o avanço no número de cortes, quando se efetua a reforma da cultura.

As variedades cultivadas são híbridas e durante toda a história da cana-de-açúcar as plantações comerciais têm sido feitas por meio de reprodução vegetativa, utilizando as gemas laterais do colmo, nunca por meio de sementes. Uma boa germinação depende do bom preparo do solo, da sanidade e estado nutricional do tolete, da idade e das condições de temperatura e umidade. (van DILLEWIJN, 1951). Até meados do século passado acreditava-se que as flores da cana-de-açúcar eram estéreis. BREMER, em 1923, relata que

SOLTWEDEL, em Java, e HARRISON e BOVELL, em Barbados, por volta de 1887, descobriram independentemente que as flores da cana-de-açúcar produzem sementes viáveis, as quais se podem obter plantas.

Os híbridos explorados comercialmente encorp^oram genes de vários germoplasmas, principalmente das espécies *saccharum officinarum* e *S. spontaneum*, de *S. sinense* e *S. barberi*. Poucas variedades exibem características de *S. robustum*. As espécies do gênero são poliplóides e aneuplóides, sendo que muitas das variedades comerciais apresentam mais de 100 cromossomos, os quais são muito pequenos, dificultando os trabalhos citogenéticos. (PRICE, 1957)

No início, o melhoramento da cana-de-açúcar era feito simplesmente pela seleção de plantas modificadas naturalmente das espécies selvagens. O progresso desse trabalho foi lento e somente a partir de 1900 foi dado novo ritmo ao melhoramento da cultura com a seleção de plantas oriundas de polinização aberta entre plantas de *Saccharum officinarum*. (MANGELSDORF, 1956)

Posteriormente, foi adotado o método de cruzamentos controlados produzindo híbridos interespecíficos, não só por cruzamentos biparentais como também "policross" (BARNES, 1964 e STEVENSON, 1965).

O trabalho de cruzamento de cana para obtenção de novas variedades de cana-de-açúcar resume-se na recombinação genética e seleção de clones que reünam o maior número de qualidades que o produtor espera de uma variedade ideal, que são: resistência ou tolerância à enfermidade e pragas, boa produtividade agrícola, elevado teor de sacarose, rusti

cidade para suportar condições adversas, porte favorável para facilitar a colheita, boa germinação e brotação de soqueiras, precocidade e período de industrialização longo, ausência de florescimento na área comercial, deterioração lenta após a queima e o corte e qualidades organominerais adequadas para fácil industrialização.

A extrema raridade do aparecimento de genótipos que agrupem essas qualidades é o ponto crucial do melhoramento, sendo um processo demorado e laborioso, em virtude do número elevado de progênie que se trabalha para aumentar a probabilidade de se conseguir selecionar variedades superiores do que aquelas em cultivo. Não obstante às dificuldades, o programa de melhoramento tem-se mostrado eficiente em todo o mundo.

As variedades produzidas são designadas por letras, que significam os locais de origem ou as instituições onde foram obtidas. Seguidas por número de série recebidas na seleção, as mais conhecidas são POJ (Proefstation Oost Java, ou Estação Experimental do Oeste de Java); H (Hawaii); B (Barbados); PR (Porto Rico); Co (Coimbatore, Índia); CB (Campos, Brasil); SP (São Paulo, Copersucar); IAC (Instituto Agrônomo de Campinas); RB (República Federativa do Brasil, IAA/PLANALSUCAR).

2.2. O vírus do mosaico na cana-de-açúcar

A doença do mosaico da cana-de-açúcar foi reco

nhecida pela primeira vez em Java, em 1892. (BRANDES, 1920)
O vírus do mosaico é do tipo bastonete, tendo sido descritas pelo menos 11 linhagens, as quais dependendo da variedade e de fatores ambientes, apresentam as mais diversas sintomatologias. A transmissão do vírus é do tipo estiletar, feita principalmente pelo pulgão do milho *Rhopalosiphum maidis*; muitos outros agentes transmissores desse vírus, já provaram experimentalmente a capacidade de transmitir a doença. (TOKESHI, 1980)

No Brasil, manifestou-se por volta de 1924, causando grandes prejuízos, face a suscetibilidade dos genótipos cultivados na época. A introdução de variedades resistentes permitiu a rápida recuperação da cultura, embora as características das primeiras variedades não fossem as melhores dos pontos de vista agrícola e industrial.

Ultimamente, tem-se exagerado o plantio de variedades suscetíveis ou moderadamente resistentes ao mosaico, buscando maior riqueza em açúcar, o que poderá ocorrer dentro em breve novo surto de mosaico.

As perdas causadas pelo mosaico podem variar de 46% a 86%, dependendo da tolerância varietal, fertilidade do solo, proporção da variedade suscetível cultivada e porcentagem de touceiras infetadas.

A resistência ao vírus do mosaico é controlada por poucos genes, o que torna possível a obtenção de progenies resistentes através da hibridação controlada. Esse tipo de herança marca a possibilidade de utilização de mutação artificial para alterar essa característica indesejável, com razoável sucesso.

O cultivo de variedades resistentes é a melhor técnica para manter a doença em níveis baixos de danos, porém, nem sempre as formas resistentes produzem maior rendimento de açúcar (MATSUOKA, 1976). É por isso que nos planejamentos de variedades encontram-se variedades suscetíveis e tolerantes ao mosaico. Esse fato justifica-se principalmente agora, com a implantação da nova sistemática do pagamento de cana pelo teor de sacarose, sendo as variedades ricas em açúcar muito procuradas, aumentando os riscos de novos surtos da doença.

2.3. Mutação

O material genético é constituído por DNA, o qual junto às proteínas e RNA, mais alguns íons como Ca^{++} e Mg^{++} formam os cromossomos. Alterações químicas nas unidades do DNA (bases nitrogenadas) ocasionam modificações genéticas, que são chamadas mutações intragênicas. Podem ocorrer também alterações genotípicas decorrentes da mudança na estrutura ou no número de cromossomos. (BEADLE, 1932 e GILES, 1940, 1941).

As mutações ocorrem naturalmente ou podem ser induzidas artificialmente por agentes químicos ou físicos. A primeira hipótese ocorre espontaneamente nas populações e constitui-se um elemento essencial no processo evolutivo. (DOBZHANSKY, 1951)

As mutações induzidas artificialmente, visando

modificar a estrutura genotípica como meio para aumentar a variabilidade genética, vêm sendo feitas através de agentes mutagênicos, físicos e químicos.

O número de mutagênicos químicos é muito grande e tem aumentado com o desenvolvimento da ciência. Entretanto, em termos práticos para a indução de mutação em vegetais, somente poucos produtos são utilizados. A maioria deles pertencem à classe de agentes alquila como: sulfonato metano de etila (EMS), sulfato dietilo (DES), uretano nitroso de etila (ENU), uréia nitroso de etila (ENH) e uréia nitroso de metila (MNH).

Conforme BOWEN (1965), a dificuldade de penetração do agente mutagênico químico na célula é uma das causas dos insucessos na obtenção de mutantes com essa técnica. Alguns pesquisadores obtiveram sucesso trabalhando com batata e algumas frutíferas. (UPADHYA e PUROHIT, 1973)

Os mutagênicos físicos são basicamente os raios ultravioletas, radiações ionizantes, normalmente raios X e gama, partículas alfa e beta, prótons e neutrons. Cada um desses mutagênicos têm características próprias que devem ser consideradas quando da sua utilização. Os resultados práticos obtidos indicam que os mutagênicos físicos têm se mostrado efetivos na obtenção de mutantes. Assim, na década de 50, foi desenvolvida na Indonésia, através de irradiação, uma variedade de fumo (BROERTJES, 1972). Já na década de 60, cerca de 15 cultivares de diversas espécies foram desenvolvidas comercialmente; em 1970 subiu para 72 cultivares e em 1975 tinha 133 variedades cultivadas de diferentes espécies (MICKE, 1969, 1974; SIGURBJORNSSON e MICKE, 1974 e SIGURE

JORNSSON, 1975). Mais importante do que o número de variedades desenvolvidas é o seu valor agrícola, principalmente em plantas ornamentais e de propagação vegetativa.

A mutação, seja ela espontânea ou induzida por agentes físicos ou químicos, tem contribuído para aumentar a variabilidade genotípica e a sua importância aumenta à medida que os programas de melhoramento convencionais, através de hibridação, atingem patamares superiores com fontes naturais de variabilidade.

2.3.1. Mutação por irradiação em cana-de-açúcar

A cana-de-açúcar, pelas suas características genéticas de ploidias e os genes alelos altamente heterozigotos, tem sido estudada do ponto de vista de produzir mutantes de irradiação artificial. Desde o início dos anos 50, existe relato da utilização de raios X em cana-de-açúcar para provocar modificações genéticas (HEINZ, 1973). Apesar deste autor não ter conseguido produzir mutantes de interesse comercial, foi registrada a ocorrência de listras coloridas nos colmos. Isto comprova a existência de mutantes morfológicos identificados visualmente e indica a possibilidade de, através de técnicas adequadas de seleção, identificar mutantes de interesse agrônomo. STEVENSON (1957) tratou "seedlings" com raios X em doses variando de 50 a 1000R não tendo também obtido mutantes de interesse agrônomo.

Segundo URATA & HEINZ (1972), a utilização de

raios gama em cana-de-açúcar começou a ser feita a partir de 1956, embora os resultados não tenham sido divulgados. Outros pesquisadores como PRICE & WARNER (1960) sugeriram a transferência de genes desejáveis de diferentes espécies para produção de híbrido, a exemplo de SEARS (1956), que obteve o híbrido *Triticum x Aegilops* através de irradiação. Tentativas feitas no Havaii em cana-de-açúcar, não levaram a resultados positivos. (PRICE & WARNER, 1960)

Outros centros de pesquisa passaram a desenvolver trabalhos com utilização de irradiação e os principais resultados confirmam o seu potencial na indução de mutações afetando características morfológicas, fisiológicas e resistência a pragas e moléstias.

2.3.2. Mutações morfológicas e fisiológicas em cana-de-açúcar

WALKER & SISODIA (1969) irradiaram com raios gama a variedade B52107 e obtiveram clones que não floresceram, não sendo constatadas alterações nas outras características.

ANDEREZ (1971) relata estudos preliminares com indução de mutação artificial, através de raios gama, em seis variedades de cana-de-açúcar. Foram selecionados 28 clones da variedade B42231 e 68 da PR980, todos com modificações morfológicas.

ROACH (1974), partindo de variedade florífera,

obteve clones com menor número de colmos florescidos, maior dificuldade para florescer e alguns não florescendo no ambiente estudado. Ele utilizou irradiação gama com doses variando de 3,0 a 5,0 kR.

RAO (1973), utilizando raios X e gama, também obteve mutantes não floríferos. Um dos mutantes, além de não florescer, ainda produziu 48% a mais de açúcar por área, comparado com a variedade original.

Em outra oportunidade, o mesmo autor, trabalhando com irradiação gama nas variedades B49119 e B52107, obteve clones de ambas as variedades com diferenças na germinação e desenvolvimento.

Outros pesquisadores como SANKARANARAYANAN & BABU (1970) obtiveram mutantes com maior capacidade produtiva de açúcar, porém, com baixo teor de fibra. BALASUNDARAM (1981) obteve sucesso na indução de mutação por irradiação nas variedades Co419 e Co602 e posterior seleção de clones com altos teores de açúcar sem diminuir a produtividade agrícola. Pela irradiação da variedade Co527, o mesmo autor obteve clones com características agrônômicas mais favoráveis quanto ao vigor, perfilhamento e comprimento do colmo.

JAGATHESAN & SREENIVASAN (1973) estudaram o efeito de raios X e gama em quatro variedades de cana-de-açúcar, nas gerações vM1, vM2 e vM3. Doses baixas de raios X provocaram estímulo no perfilhamento de alguns clones. Outros clones sofreram modificações na cor e no comprimento do colmo. Um clone mutante da variedade Co419 foi selecionado em vM3 com elevada capacidade de produção de açúcar, mantendo a produção de colmos semelhante à variedade original.

SIDDIQUI *et alii* (1976) obtiveram progênie da Co547 após irradiação que apresentava modificações principalmente na arquitetura, comprimento do colmo e perfilhamento.

JAGATHESAN *et alii* (1978) irradiaram a variedade Co527 e obtiveram um clone mutante com maior vigor e desenvolvimento.

ACOSTA *et alii* (1982) divulgaram resultados de irradiação gama em cana-de-açúcar, induzindo esterilidade em alguns clones.

2.3.3. Mutação para resistência a agentes patogênicos em cana-de-açúcar.

A literatura relata a obtenção de mutantes com maior resistência às principais doenças fúngicas e viróticas. Os primeiros trabalhos foram realizados no Instituto de Melhoramento da Cana-de-Açúcar de Coimbatore, na Índia. Com o intuito de se conseguir material resistente à podridão vermelha (*Colletotrichum falcatum*) foram irradiadas, com dose de 500R de raios gama, gemas da variedade Co449. Entre os descendentes, foi selecionado um clone com alto grau de tolerância à linhagem D do fungo da podridão vermelha.

SINGH (1970) aplicou irradiação gama na variedade Co997 e selecionou clones com maior resistência a doença da podridão vermelha.

NAIR (1973) conseguiu mutantes com maior resistência à podridão vermelha irradiando com raios gama a varie

dade Co997.

JAGATHESAN (1977) irradiou as variedades Co 740, Co997 e Co453 e na segunda geração vegetativa as progêⁿies foram inoculadas com fungo do carvão (*Ustilago scitaminea*). Dentre a 1057 plantas inoculadas, foram selecionadas 32 que não apresentaram sintoma da doença. Essas plantas selecionadas e reinoculadas no ano seguinte mantiveram a resistência ao carvão.

DARMODJO (1977) irradiou a variedade POJ3016, suscetível a uma determinada raça de mosaico da cana, com doses variando de 3,0 a 6,0 kR de raios gama. Na segunda geração VM2 foram selecionados dois clones altamente resistentes àquela raça do vírus. Nos testes de inoculação de mosaico, estes dois clones não tiveram nenhuma planta com sintoma de mosaico.

2.3.4. Dosagens de irradiação gama

A dose de irradiação, em geral, depende da radiosensibilidade da espécie do tecido e do estágio de desenvolvimento da planta. As partes da planta que estão se diferenciando são mais sensíveis do que aquelas estabilizadas. (FUJII, 1958)

A radiosensibilidade varia entre espécies de plantas e depende principalmente do núcleo das células (núcleos grandes são mais sensíveis), da quantidade de cromatina e conseqüentemente do nível de ploidia. Portanto, os poliplóides

des são mais sensíveis que os indivíduos diplóides. Como são vários os fatores que interferem na radiosensibilidade, torna-se necessário expor o material desejado a uma série de doses consistente com aquelas encontradas na literatura. Geralmente, é necessária a repetição dos testes preliminares até determinar a dose ideal para a cultivar em estudo. (COWAN, 1962)

Outro aspecto a ser considerado para se determinar a dose ótima é a frequência de mutações que é diretamente proporcional ao aumento da dose de irradiação para raios X e gama. Por outro lado, a sobrevivência e a capacidade de regeneração decresce com o aumento da dose. Assim, o critério normalmente utilizado para se determinar essa dose é denominado LD_{50} , que significa a dose de irradiação capaz de provocar 50% de viabilidade da progênie irradiada. Nas doses altas pode aparecer mais de uma mutação no mesmo indivíduo, aumentando o risco de que uma mutação favorável venha acompanhada de uma ou mais alterações genéticas desfavoráveis. (QUESADA, 1977)

Para uma determinada dose de irradiação aplicada sobre o tecido vegetal durante dias, semanas ou meses (dose crônica), a frequência de mutação é menor do que quando se aplica a mesma dose num único período de exposição (dose aguda). (NYBON & KOCH, 1965)

PANGE & PRASADE (1959) consideraram que a dose letal para a variedade Co419 estaria em torno de 14 kR de raios gama. Já VIJAYALAKSHMI & RAO (1960) verificaram em três híbridos de cana-de-açúcar que, para doses de irradiação gama até 3,0 kR, a germinação foi pouco afetada, sendo algumas

vezes ligeiramente superior ao controle. Uma queda brusca na germinação foi observada a partir de 4,0 kR e com a dose 10,0 kR a brotação foi reduzida em 90%.

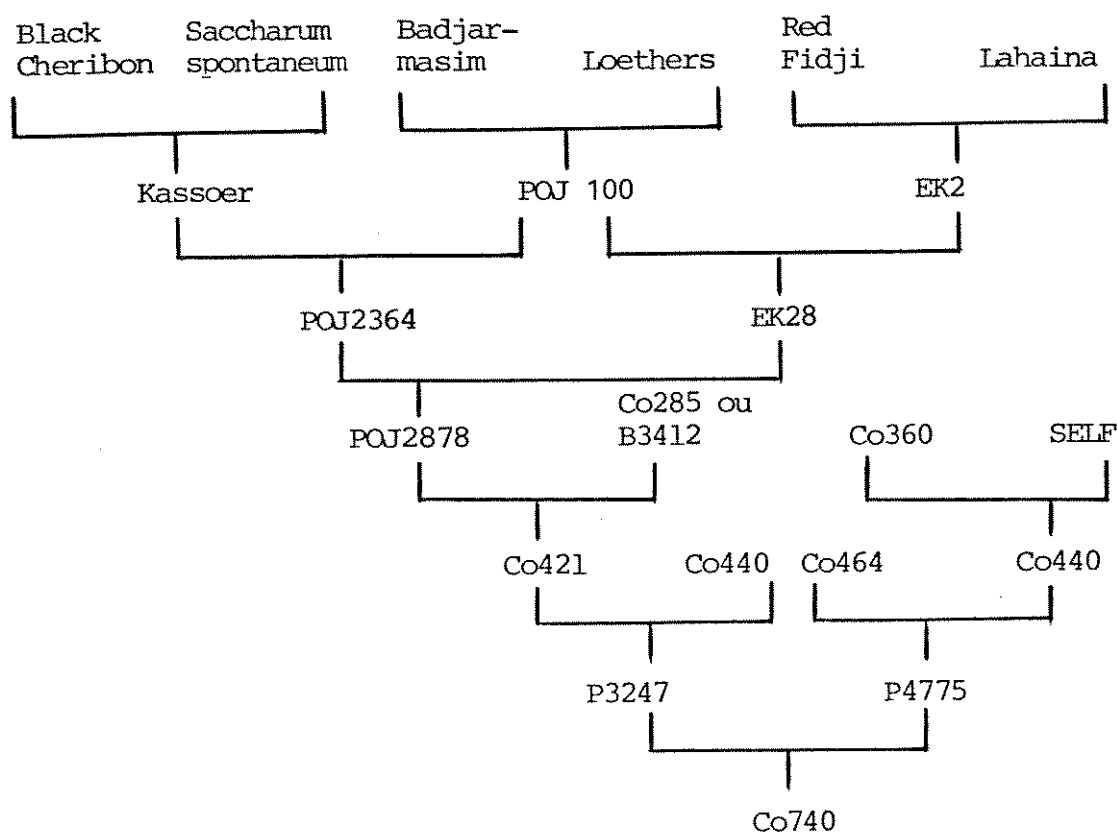
URATA & HEINZ (1972), WALKER & SISODIA (1969), JAGATHESAN & SREENIVASAN (1973) sugerem o intervalo de 2,0 a 6,0 kR de raios gama, no qual se obtém maior incidência de sobrevivência e alta frequência de mutação em cana-de-açúcar. Destacam, ainda, que cada variedade tem comportamento diferente em relação a dose de irradiação.

Em cana-de-açúcar, testes com dosagens variando até 10,0 kR de raios gama, revelaram que o terço superior do colmo contém gemas que respondem melhor à irradiação, avaliado pela porcentagem de sobrevivência. A dose 6,0 kR produziu maiores alterações, sendo a maioria delas morfológicas.

(BROERTJES, 1972)

3. MATERIAL E MÉTODOS

Para mostrar o efeito da indução de irradiação gama em cana-de-açúcar foi escolhida a variedade Co740 para aproveitar as suas boas características agroindustriais, pensando em torná-la tolerante à doença do mosaico através dessa técnica. A sua composição genética é formada pelo "pedigree" abaixo, sendo que ela foi selecionada na progênie do cruzamento P3247 x P4775, realizado em Coimbatore, na Índia.



3.1. Estudo preliminar para calibração da dose de raios ga
ma à variedade Co740 e avaliação dos efeitos da irradiaç
ão conforme SPARROW (1953) e TYSDAL (1956)

Irradiaram-se com raios gama obtidos da fonte Co^{60} , em novembro de 1977, no reator do Centro de Energia Nuclear Aplicada à Agricultura (CENA, em Piracicaba), 311 ge
mas do terço superior de colmos da variedade Co740. As gemas foram retiradas de mudas especialmente cultivadas para esse fim, as quais nessa ocasião estavam com cerca de 11 meses.

A irradiação das gemas foi feita utilizando-se 6 fontes de Co^{60} a uma taxa dose 105 kR/hora com diâmetro de 60 cm. As doses utilizadas com os respectivos tempos de expo
sição do material foram: 3,0 kR (1,7 min), 4,0 kR (2,3 min), 5,0 kR (2,9 min), 6,0 kR (3,4 min), 7,0 kR (4,0 min) e a tes
temunha sem tratamento.

As gemas, depois de irradiadas, foram colocadas para germinar em caixas contendo um substrato formado de uma parte de areia, duas de matéria orgânica e duas partes de se
rapilheira. As caixas foram mantidas em casa de vegetação.

O efeito da irradiação sobre a germinação foi avaliado em duas oportunidades, contando-se as plantas obti
das: a primeira com 22 e a segunda com 56 dias depois do plantio.

Na casa de vegetação foram também realizadas medidas de altura da planta, na expectativa de se detectarem diferenças para esse caráter em relação à testemunha. Duas me
didas foram feitas adotando-se o seguinte critério: a primei

ra medida foi tomada no colmo primário e considerada a distância do solo até o "dewlap" da folha +1 e a segunda medida foi semelhante, só que a altura da planta foi considerada até a extremidade da folha +1. As medidas foram realizadas 90 dias após o plantio. Para cada tratamento foram tomadas 20 plantas. Para a dose 7,0 kR foram mantidas as 16 plantas obtidas.

Como os resultados preliminares de germinação e desenvolvimento foram melhores nas progênies provenientes das doses de irradiação gama 5,0 e 6,0 kR, optou-se pela dose 5,5 kR para a variedade Co740, visando induzir resistência ao vírus do mosaico da cana-de-açúcar.

Posteriormente, quando já apresentavam desenvolvimento maior, as plantas foram transplantadas para o campo, tomando-se o cuidado de selecionar as 20 plantas utilizadas para medir a altura nos diversos tratamentos. Para o tratamento 7,0 kR foram aproveitadas somente seis plantas em virtude do fraco desenvolvimento das demais.

Em janeiro de 1979, foram feitas avaliações agronômicas sobre perfilhamento, desenvolvimento, vigor, cor do colmo e arquitetura da planta, para caracterizar prováveis diferenças morfológicas. Em junho do mesmo ano, procedeu-se ao primeiro corte das plantas no campo vM1. As plantas que apresentaram diferenças morfológicas, em relação à testemunha, foram multiplicadas para avaliar vM2 em soca e em nova cana-planta. Cada colmo foi multiplicado individualmente.

Os campos de cana-planta e soca vM2 foram conduzidos até julho de 1980, quando foram selecionados e amostrados para caracterização morfológica do número de internó

dios, peso, diâmetro e comprimento do colmo, assim como análise tecnológica, em porcentagem, do brix e pol do caldo, pol e fibra da cana na mesma amostra.

3.2. Indução de tolerância ao vírus do mosaico na variedade Co740 com irradiação gama na dose 5,5 kR

Com base nos resultados preliminares da germinação e altura das plantas nas diversas dosagens de irradiação gama, foram irradiadas em fevereiro de 1978, 1.573 gemas da variedade Co740. Para esse trabalho foi utilizada a taxa dose de 107,5 kR/h com diâmetro de 58 cm e a dose de 5,5 kR durante 3,1 minutos.

Após o tratamento, as gemas foram plantadas em caixas contendo o mesmo substrato do teste preliminar, as quais foram colocadas para germinar em casa de vegetação, juntamente com 120 gemas testemunhas da variedade Co740.

Em junho de 1978, as plantas obtidas foram transplantadas para o campo e o seu desenvolvimento foi acompanhado até novembro/78, quando foram podadas rente ao solo para avaliação de soqueira VM2. Esse procedimento, pela probabilidade de ocorrência de quimera, torna-se necessário para identificar novas alterações ou para garantir maior estabilidade genotípica de variantes. Doze meses após foram coletadas gemas de alguns colmos, conforme a tabela 1. Como critério para a coleta do material, sempre que possível, foi retirada uma gema por colmo da touceira, originária de perfilhos

primários, secundários, terciários e outros. Esse material era destinado para avaliação sobre a ocorrência de resistência ao vírus do mosaico.

As gemas colhidas foram plantadas em copos, colocados em caixas plásticas na casa de vegetação. O campo original VM2 foi então cortado para avaliação de ressoca VM3. Foi obtido um total de 227 caixas com 24 gemas em cada uma. Esse material, 20 dias depois do plantio, foi inoculado com vírus do mosaico utilizando-se a técnica de inoculação por pressão (DEAN, 1960). As plantas pequenas e as que ainda não tinham germinado, inclusive nas testemunhas, foram marcadas para posterior inoculação.

A segunda inoculação, nas plantas marcadas que não haviam sido inoculadas na primeira operação, foi feita no início de 1980 pelo método de fricção manual (BAIN, 1944). Aproveitou-se nesta ocasião para reinocular algumas plantas que apresentaram bom desenvolvimento e que já tinham sido inoculadas por pressão. Essas plantas foram reinoculadas por um terceiro método, ou seja, método da agulha. (MATZ, 1933).

Foram utilizadas essas três técnicas diferentes de inoculação do vírus do mosaico da cana-de-açúcar, porque na segunda inoculação foi pequeno o número de plantas, que não foram inoculadas na primeira vez. Por outro lado, as duas últimas técnicas empregadas asseguram que todas as plantas recebem o vírus, visto que são inoculadas individualmente. Assim, optou-se pela técnica da fricção manual por ser um pouco mais eficiente que a da pressão, dispensando a inoculação das demais plantas. Da mesma forma, a técnica da agulha é mais eficiente em plantas maiores do que as outras duas téc

nicas.

As avaliações das plantas infetadas foram feitas em duas oportunidades: a primeira em dezembro/79 e a segunda em maio/80. Com base nos resultados dessas avaliações, foram multiplicadas, no campo, as 73 plantas que não haviam mostrado sintoma da presença do vírus do mosaico. O plantio foi feito individualizando cada colmo, mesmo aqueles provenientes da mesma touceira. Ainda nessa época, fez-se a avaliação de brotação do perfilhamento e do desenvolvimento em vM3 do campo que forneceu as gemas para inoculação do mosaico. Novamente, esse campo foi cortado para avaliação da brotação em vM4, a qual foi realizada em junho/81.

As plantas vM3, provenientes da casa de vegetação e transplantadas para o campo, as quais não tinham sintoma de mosaico, foram avaliadas inicialmente em julho/80 e selecionadas em setembro/81. Das 36 plantas selecionadas, foram coletadas 48 gemas de cada uma, as quais foram plantadas individualmente em casa de vegetação para nova inoculação artificial com vírus do mosaico. Também foram separados dois colmos de cada planta selecionada e instalados no campo em Bandeirantes-PR, para avaliação de infecção natural, de acordo com a técnica citada por MATSUOKA (1975). O material colocado na casa de vegetação foi inoculado pelo método de pressão e as plantas muito pequenas ou em fase de germinação foram novamente marcadas para posterior inoculação pelo método de fricção.

As avaliações de plantas com sintomas de mosaico foram feitas em duas épocas: novembro e dezembro/81.

Com o desenvolvimento das plantas, em feverei

ro de 82, foram transplantadas para o campo vM4 e em julho/83 foram selecionadas 8 plantas para multiplicação do campo vM5.

Paralelamente, os 36 clones selecionados e plantados no Paraná, com fonte natural de inóculo para mosaico, foram avaliados em duas ocasiões, janeiro e maio de 82.

Na seleção feita em novembro/82, foram multiplicadas aquelas plantas com até 30% de infecção e todo o campo vM4 foi cortado para no ano seguinte avaliar planta e soca.

Em abril/83, tanto a cana-planta como a soca vM5 foram multiplicadas, tomando-se o cuidado de separar as canas provenientes da planta e da soca, apesar de oriundas do mesmo tratamento, isto porque se observou diferença na porcentagem de infecção do vírus do mosaico.

Deve-se ressaltar as gerações vegetativas desenvolvidas neste trabalho, vM1 a vM6, permitindo a estabilização das prováveis alterações genéticas, assim como o rigor dos testes de inoculação do mosaico submetendo as progênes nas gerações vM2 e vM4 a três métodos de inoculação artificial do vírus do mosaico, sendo as gerações vM4, vM5 e vM6 do mesmo material submetidas a inoculação natural do vírus em condições de campo.

Uma apresentação esquemática das atividades desenvolvidas com a variedade Co740 são apresentadas nas figuras 1 e 2.

Figura 1 - Fluxograma dos testes preliminares de irradiação gama na variedade Co740 para escolha da dose ótima.

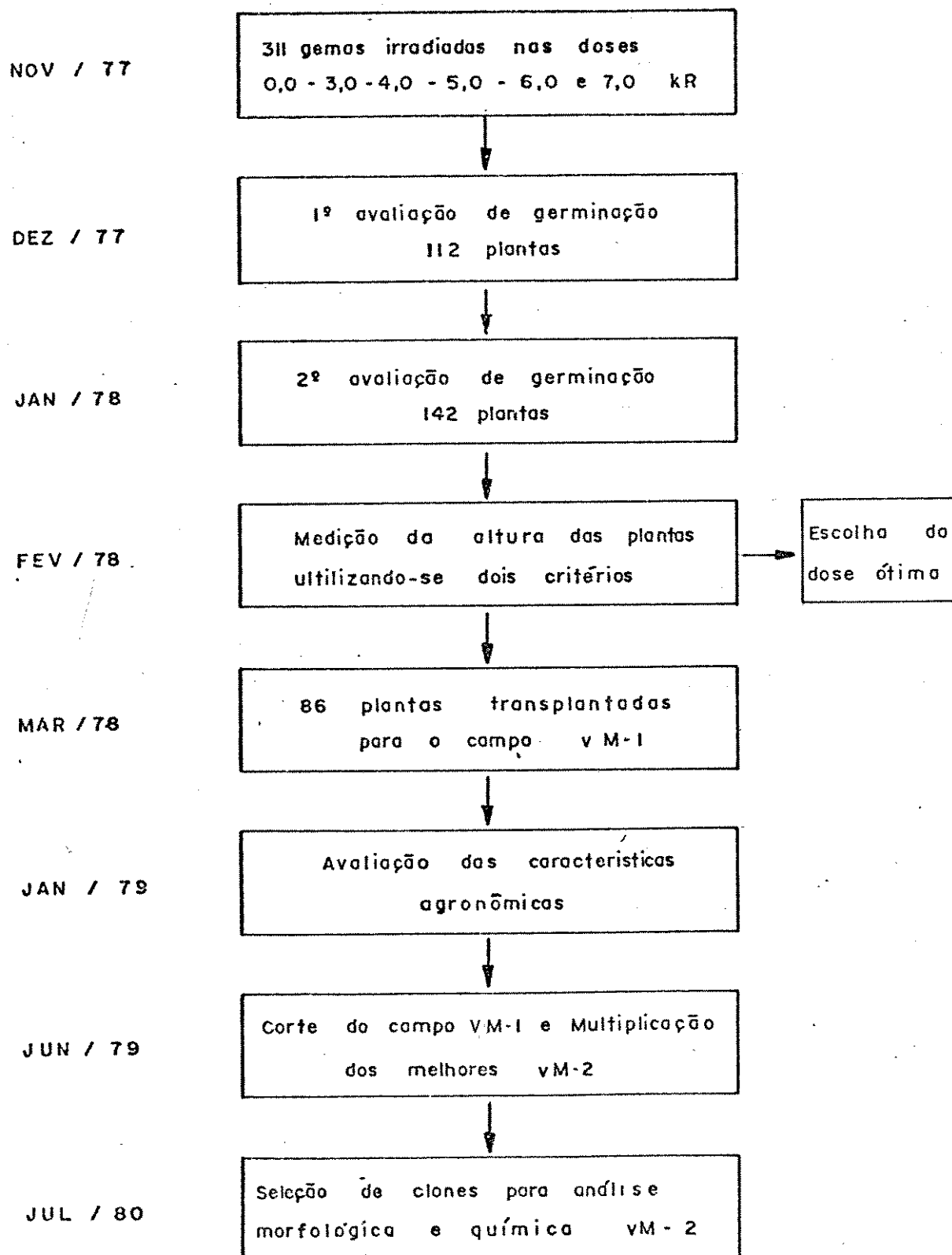
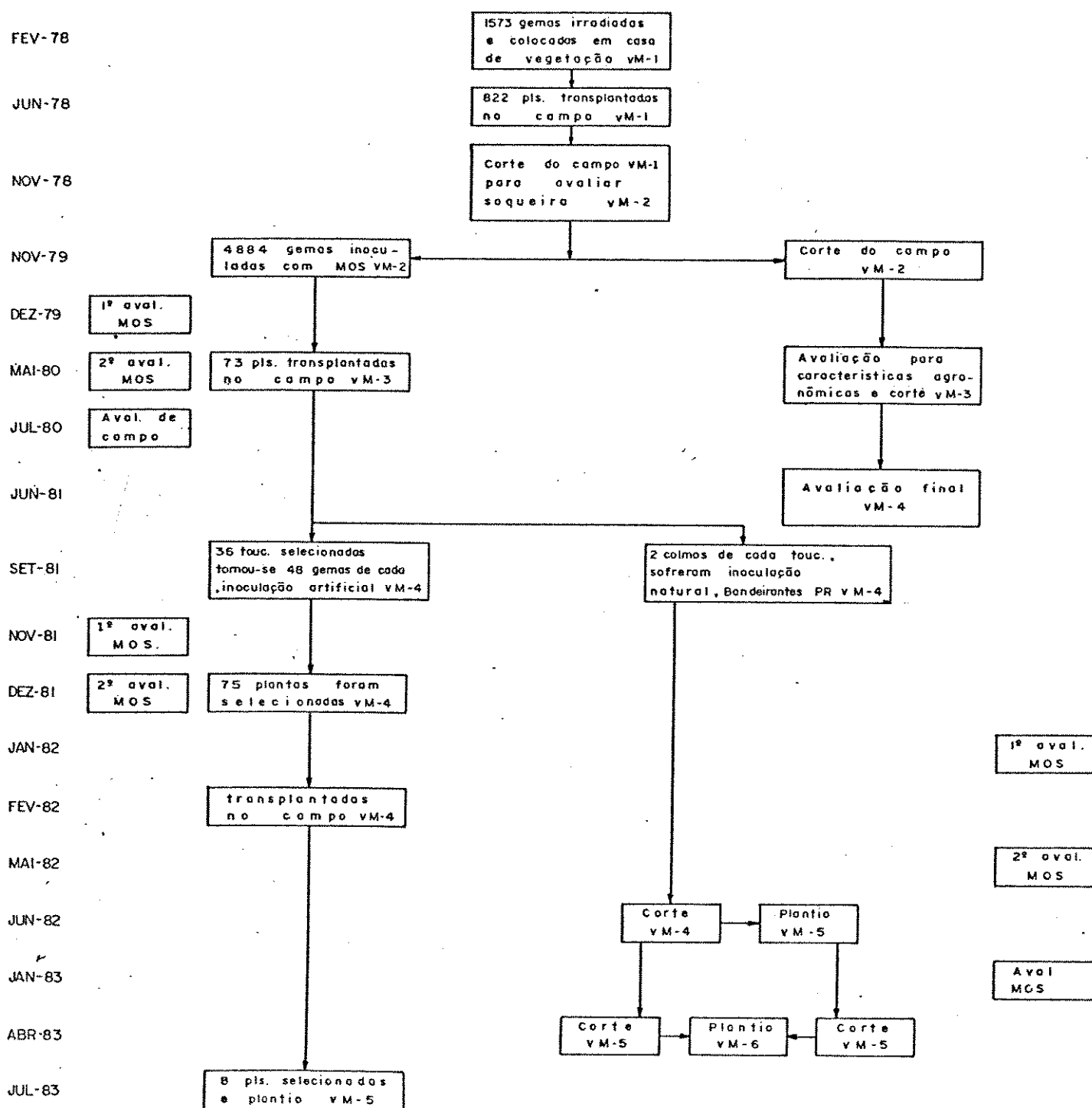


Figura 2 - Fluxograma das atividades visando avaliar o comportamento da progênie da variedade Co740 submetida a irradiação gama (5,5 kR)



4. RESULTADOS

4.1. Estudos de calibração da dose de irradiação gama para a variedade Co740

4.1.1. Avaliações de germinação

Os dados de germinação levantados no estudo preliminar estão na tabela 2. As diferentes doses de irradiação avaliadas em duas épocas após o plantio, foram analisadas estatisticamente pelo teste Qui-Quadrado (χ^2).

Com base nas diferenças dos dados, foram estabelecidos alguns grupos de contrastes ortogonais para cada avaliação. Na primeira avaliação foram os seguintes os contrastes:

Contrastes	χ^2	Significância
$Y_1 = (5,0 + 0,0) \text{ VS } (3,0 + 4,0 + 6,0 + 7,0)$	12,18	0,50
$Y_2 = 5,0 \text{ VS } 0,0$	1,29	ns
$Y_3 = 4,0 \text{ VS } 7,0$	1,59	ns
$Y_4 = 3,0 \text{ VS } (4,0 + 7,0)$	3,60	ns
$Y_5 = 6,0 \text{ VS } (3,0 + 4,0 + 7,0)$	0,03	ns

Como houve diferença no contraste Y_1 , onde os valores médios da dose (5,0 + 0,0) diferiram das médias das

doses (3,0 + 4,0 + 6,0 + 7,0), foram feitos mais dois con
trastes:

Contrastes	χ^2	Significância
$Y_1' = 5,0$ VS (3,0 + 4,0 + 6,0 + 7,0)	9,20	0,005
$Y_2'' = 0,0$ VS (3,0 + 4,0 + 6,0 + 7,0)	4,27	0,050

Confirmando, então, que a média das doses 5,0 kR difere do efeito médio das doses (3,0 + 4,0 + 6,0 + 7,0) o mesmo acontecendo com a testemunha (0,0) em diferentes graus de significância.

Para a segunda avaliação os mesmos contrastes foram estudados:

Contrastes	χ^2	Significância
$Y_1 = (5,0 + 0,0)$ VS (3,0 + 4,0 + 6,0 + 7,0)	8,78	0,005
$Y_2 = 5,0$ VS 0,0	5,31	0,025
$Y_3 = 4,0$ VS 7,0	0,00	ns
$Y_4 = 3,0$ VS (4,0 + 7,0)	0,90	ns
$Y_5 = 6,0$ VS (3,0 + 4,0 + 7,0)	0,93	ns

Nesta avaliação verifica-se que os valores mé
dios dos tratamentos (5,0 + 0,0) diferiram do efeito mé
dio dos tratamentos (3,0 + 4,0 + 6,0 + 7,0) e também houve dife
rença entre o tratamento com dose 5,0 kR e a testemunha.

Como complemento das análises foram feitos

mais dois contrastes:

Contrastes	χ^2	Significância
$Y_1' = 5,0$ VS $(3,0 + 4,0 + 6,0 + 7,0)$	13,33	0,005
$Y_2'' = 0,0$ VS $(3,0 + 4,0 + 6,0 + 7,0)$	0,91	ns

Observa-se que a média do tratamento 5,0 kR diferiu do efeito médio dos tratamentos $(3,0 + 4,0 + 6,0 + 7,0)$, enquanto a testemunha não diferiu estatisticamente dos demais tratamentos na segunda avaliação de germinação.

4.1.2. Medidas da altura das plantas pelos dois critérios utilizados

Os dados de altura da cana-de-açúcar com os 2 diferentes tipos de medidas, chamados medida 1 e medida 2, com 20 repetições em cada tratamento, exceção apenas no tratamento com irradiação 7,0 kR que teve 16 repetições, encontram-se na tabela 3.

Para analisar estes dados utilizou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado no esquema de parcelas subdivididas e para atender a normalidade dos dados, procedeu-se a transformação dos mesmos para $\log x$.

C. Variação	GL	Quadrados médios log x
Tratamentos (T)	5	1,3251**
Resíduo (a)	110	0,0442
Medidas (M)	1	19,4648**
T x M	5	0,0102**
Resíduo (b)	110	0,0032

C.V. (parcelas) = 12,44%

C.V. (subparcelas) = 3,35%

Como todos os efeitos testados (tratamentos, medidas e interação tratamentos x medidas) apresentaram significância estatística ao nível de 1% de probabilidade entre si, procedeu-se aos dois desdobramentos possíveis, para se avaliar o efeito da interação tratamentos x medidas:

a) Tratamentos dentro de cada medida

	GL	Quadrados médios log x
Trat. d. medida 1	5	0,5811**
Trat. d. medida 2	5	0,7543**
Resíduo Médio	122	0,0237

Nota-se que os tratamentos diferem entre si ao nível de 1% de probabilidade nas duas medidas, independentemente.

b) Medidas dentro de cada tratamento

C. Variação	GL	Quadrados Médios log x
Medida d. 3,0	1	3,7822**
Medida d. 4,0	1	3,3814**
Medida d. 5,0	1	3,1137**
Medida d. 6,0	1	3,5047**
Medida d. 7,0	1	2,1580**
Medida d. test.	1	3,5760**
Resíduo	110	0,0032**

Depreende-se do quadro acima que, para todas as doses, as medidas diferem entre si.

Para verificar quais tratamentos ou quais medidas diferiram entre si, foi utilizado o método de TUKEY ao nível de 5% de probabilidade. As médias transformadas em log x dos tratamentos e das medidas, bem como da interação T x M, encontram-se no quadro seguinte:

Tratamentos	Medidas		Médias
	1	2	
0,0	1,46 a ⁺	2,06 a	1,76
3,0	1,42 a	2,03 a	1,73
4,0	1,49 a	2,07 a	1,78
5,0	1,50 a	2,06 a	1,78
6,0	1,43 a	2,03 a	1,73
*7,0	1,01 b	1,53 b	1,27
Médias	1,40	1,98	

* tratamento com 16 repetições

+ as letras diferentes significam diferenças dentro de cada medida

Como o tratamento 7,0 kR teve 16 repetições, portanto diferindo dos demais tratamentos com 20 repetições, foram as seguintes as diferenças mínimas significativas - d.m.s (Δ)

$\Delta_1 = 0,14$ - d.m.s. para comparar duas médias de tratamentos com 20 repetições, independentemente de medidas.

$\Delta_2 = 0,15$ - d.m.s. para comparar o tratamento 7,0 kR com qualquer um dos demais, independentemente de medidas.

$\Delta_3 = 0,01$ - d.m.s. para comparar as duas médias de medidas, independentemente de tratamentos.

$\Delta_4 = 0,04$ - d.m.s. para comparar as duas médias dentro de cada tratamento, exceto 7,0 kR.

$\Delta_5 = 0,04$ - d.m.s. para comparar as duas médias de medidas,

dentro do tratamento 7,0 kR

$\Delta_6 = 0,14$ - d.m.s. para comparar duas médias de tratamentos com 20 repetições dentro de cada medida.

$\Delta_7 = 0,15$ - d.m.s. para comparar a média do tratamento 7,0kR com as demais dentro de cada medida.

C.V. (parcelas) = 12,44% C.V.(subparcelas) = 3,35%

4.1.3. Avaliações de características agronômicas

Algumas modificações morfológicas e fisiológicas foram constatadas nas progênies da variedade Co740 irradiada.

As alterações morfológicas começaram a ficar evidentes a partir do tratamento com dose 5,0 kR, onde algumas plantas apresentaram maior vigor, maior perfilhamento e coloração das folhas com tonalidade de verde mais escuro (Figura 3). Outras plantas foram modificadas na arquitetura, com colmos mais finos e folhas estreitas e eretas. Duas plantas desenvolveram-se menos, com maior número de perfilhos e colmos mais finos.

No tratamento com dose 6,0 kR aumentou o número de plantas modificadas em relação à testemunha. Algumas delas apresentaram colmos mais finos, em maior número e mais baixos, com as folhas de tonalidade verde clara, estreitas e eretas (Figura 4). Outras plantas tinham colmos roxos, bainha verde e ainda redução no porte.

O tratamento com dose 7,0 kR foi o que apresen

tou maior número de plantas modificadas, onde somente três progênie foram semelhantes à testemunha. As demais ficaram com porte reduzido, como planta anã, mostrando folhas estreitas e eretas, semelhantes a espécies selvagens (Figura 5). A maioria das plantas apresentou no limbo foliar manchas marrons de forma simétrica, denominadas "sardas" (Figura 6). Essa dose também provocou maior inibição na germinação, retardamento na velocidade de desenvolvimento e ainda maior número de plantas mortas.

As diferenças verificadas para algumas características morfológicas mensuráveis, tais como diâmetro, peso, comprimento e número de internódios dos colmos, foram confirmadas através da análise estatística, onde houve diferença entre alguns tratamentos em todas as determinações acima (tabela 4).

Nos parâmetros químicos analisados: brix e pol. % caldo, pol e fibra % cana, as diferenças entre tratamentos foram menores e houve diferença estatística entre tratamentos somente para fibra % (tabela 5).

4.2. Resultados das avaliações da variedade Co740 irradiada com a dose 5,5 kR de raios gama e inoculada com vírus do mosaico.

Do total de gemas irradiadas com 5,5 kR de raios gama foram obtidas 822 plantas e das gemas não irradiadas nasceram 46 plantas. As porcentagens de germinação fo

ram 52,26% para aquelas submetidas à irradiação e de 38,33% para as gemas testemunhas.

As 4.884 gemas inoculadas com vírus do mosaico foram avaliadas duas vezes em casa de vegetação para sintoma da doença e os resultados do número de plantas sadias de cada progênie estão na tabela 6. Após a segunda avaliação restaram 73 plantas, as quais foram transplantadas para o campo. Algumas plantas mostraram sintoma de mosaico e foram eliminadas, restando 36 progênies sadias.

Concomitantemente, foram observadas as gerações vM3 e vM4, provenientes das soqueiras do campo original, onde foram constatadas pequenas modificações morfológicas em algumas progênies, sendo mais frequente alteração na coloração dos colmos e das folhas, colmos mais finos e perfilhamento mais intenso e ainda foi notado diferença na caracterização de pêlos.

A segunda inoculação de mosaico, em casa de vegetação, feita em material proveniente das 36 progênies selecionadas, foi avaliada por duas ocasiões com diferença de um mês. Os resultados são introduzidos na tabela 7 e desse material 8 progênies foram selecionadas e estão sendo multiplicadas.

Os resultados dos testes de inoculação natural realizados em Bandeirantes-PR, no mesmo material coletado das 36 progênies selecionadas em setembro/81, geração vegetativa vM4, encontram-se na tabela 8.

As tabelas 9 e 10 expressam os resultados respectivamente de cana-soca e cana-planta obtidos no mesmo ano em vM5, também em Bandeirantes-PR.

Finalmente, a última avaliação de mosaico no campo, com fonte natural de inóculo em cana-planta vM6, é apresentada nas tabelas 11 e 12, proveniente respectivamente de cana-planta e soca.



Fig. 3 Variedade de cana-de-açúcar Co740 irradiada com Co^{60} . À esquerda, clone obtido com a dose 5,0 kR, mostrando maior vigor e perfilhamento na brotação do que a testemunha, à direita, sem irradiação.



Fig. 4 Variedade de cana-de-açúcar Co740 irradiada com Co^{60} . Clone obtido com dose 6,0 kR (esquerda). Testemunha dose 0,0 kR (direita).



Fig. 5 Progenie modificada da variedade Co740 irradiada com Co^{60} à dose 7,0 kR.

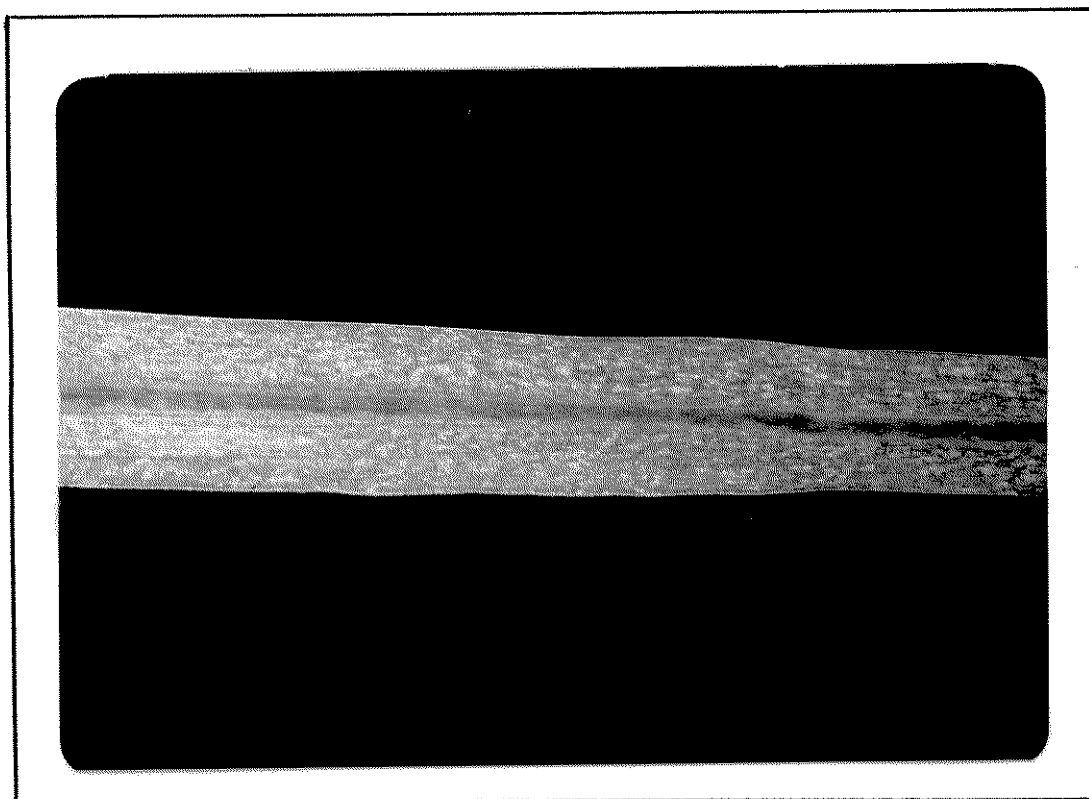


Fig. 6 Detalhe das "sardas" nas folhas da progenie irradiada com 7,0 kR de raios gama Co^{60} .

5. DISCUSSÃO

5.1. Análise dos resultados obtidos na calibração da dose ótima de irradiação gama para a variedade Co740.

Na avaliação da germinação, observou-se que, aos 2 meses após a semeadura, houve um acréscimo no número de plantas em relação à primeira avaliação feita com aproximadamente 20 dias após o plantio. Isto ocorre devido a variação na velocidade de brotação e desenvolvimento das gemas; mesmo entre as gemas testemunhas verifica-se esse gradiente. Entretanto, a irradiação pode ter modificado essa característica, reduzindo a velocidade de germinação tornando-a mais lenta nas doses mais elevadas. Por outro lado, a dose 5,0 kR parece ter estimulado a germinação em ambas as avaliações. Esse resultado segue o mesmo padrão verificado em outros estudos relatados por ANDEREZ (1971), RAO (1973), JAGATHESAN & SREENIVASAN (1973).

As análises do teste qui-quadrado indicaram diferenças de germinação entre tratamentos com diferentes graus de significância. Nas duas avaliações os tratamentos (5,0 + 0,0) diferiram dos demais, sendo que na primeira o tratamento 5,0 kR não diferiu da testemunha, mas ambos foram diferentes dos demais, individualmente. Na segunda avaliação o tratamento 5,0 kR diferiu da testemunha e esta não foi diferente dos demais tratamentos. É possível que o tratamento com dose 5,0 kR tenha estimulado a germinação na variedade

Co740, enquanto a dose 6,0 kR e mais severamente a dose 7,0 kR tenham causado inibição de germinação. A comparação dos números de plantas germinadas na tabela 2 expressam essa tendência. Os dados não são suficientes para estabelecer uma curva de resposta às doses crescentes de irradiação.

As duas medidas da altura de plantas, utilizando-se dois critérios, mostraram diferença entre tratamentos, medidas e interação tratamentos x medidas a nível de 1% de probabilidade e para atender a normalidade dos dados, procedeu-se à transformação dos mesmos para log x. No desdobramento dentro de cada medida também houve diferença significativa entre tratamentos para ambas as medidas a nível de 1% de probabilidade. Através do teste Tukey pode-se constatar que somente o tratamento com dose 7,0 kR diferiu estatisticamente dos demais nas duas avaliações. Contudo, nota-se pelos dados médios da interação irradiação x medidas uma certa tendência de acréscimo no tamanho das plantas nas doses 4,0 e 5,0 kR, decrescendo nas doses maiores. Estes resultados estão de acordo com os dados relatados por RAO (1973) e JAGATHESAN (1978). Na figura 7, verifica-se comportamento semelhante nas progênies dos diversos tratamentos, para os dois critérios de medidas da altura das plantas.

Modificações morfológicas em relação ao tipo original foram verificadas nas doses 5,0, 6,0 e 7,0 kR. As características alteradas com maior frequência foram: altura da planta, arquitetura (folhas mais estreitas e eretas), sardas nas lâminas das folhas, distribuídas de forma simétrica, colmos mais finos, em maior número com alteração na cor e folhas com diferentes tonalidades de verde. Algumas dessas

características também foram modificadas nos trabalhos realizados em outras variedades de cana-de-açúcar por ANDEREZ (1971), JAGATHESAN & SREENIVASAN (1973), SIDDIQUI (1976), JAGATHESAN (1978).

Outras características mensuráveis avaliadas mostraram que os tratamentos diferem entre si para todas as determinações analisadas (tabela 4), ao nível de 5% de probabilidade. Não encontramos na literatura relato de tais afeições em progênie irradiada, o que existem são informações subjetivas: maior perfilhamento, colmos mais altos, maior vigor e maior desenvolvimento.

Assim, as comparações múltiplas entre as médias para número de internódios mostraram que a planta 03 diferiu da 07 e da 01.

Para o diâmetro do colmo a planta 03 diferiu das plantas 01, 02, 04 e 05 e ainda houve diferença da planta 05 para 01 e 02.

Quanto ao peso do colmo a planta 01 diferiu das plantas 03 e 05 e também a planta 02 diferiu das plantas 03, 05 e 06.

Finalmente, para o comprimento do colmo, a planta 03 diferiu das demais e ainda a planta 05 foi diferente da planta nº 01.

Como foram selecionadas plantas de gemas que receberam a mesma dose de irradiação, alguns desdobramentos foram feitos para discutir o efeito da dose. No confronto da testemunha com as doses 5,0, 6,0 e 7,0 kR foi constatada diferença somente para o parâmetro comprimento do colmo.

As plantas que receberam dose 5,0 kR diferem

da média das que receberam 6,0 e 7,0 kR para todas as determinações, exceto para número de internódios ao nível de significância de 1% de probabilidade. As plantas que receberam dose 6,0 kR diferem daquelas com dose 7,0 kR em todas as determinações estudadas.

Com relação às características químicas analisadas houve diferença significativa a nível de 5% de probabilidade para a fibra % cana. As modificações nos índices de brix % e pol % caldo e também para pol % cana não atingiram níveis significativos. Por outro lado, o desdobramento das médias para fibra % indica que a planta 05 diferiu das plantas 01, 03 e 04. Já os pesquisadores SANKARANARAYANAN & BABU (1970) relataram a obtenção de mutante com maior produção de açúcar e menor teor de fibra %. Outro autor, BALASUNDARAM (1981) relata a produção de clones com teores de açúcar mais altos não fazendo referência ao teor de fibra.

A comparação das médias das plantas agrupadas pelas doses recebidas mostrou que as plantas 5,0 kR diferiram das doses mais elevadas (6,0 e 7,0) e também as 6,0 kR diferiram das plantas que receberam 7,0 kR para teor de fibra %.

5.2. Discussão das observações verificadas na variedade Co740 irradiada com a dose 5,5 kR de raios gama e inoculada com vírus do mosaico

A porcentagem de germinação das gemas irradiadas foi superior à porcentagem das gemas testemunhas, indi

cando a possibilidade da dose 5,5 kR ter provocado um estímulo na capacidade de germinação. Esses dados confirmam observações anteriores.

Outra questão enfatizada em plantas de propagação vegetativa é o problema da ocorrência de quimera. Cortes das plantas, provocando nova brotação, asseguram estabilidade de prováveis quimeras, HEINZ (1973). JAGATHESAN (1977) afirma que a estabilização de característica modificada é o principal problema de culturas de propagação vegetativa e que através de gerações vegetativas, pode-se assegurar que a mutante obtida não vai reverter ao tipo original.

Por esse motivo, procurou-se podar as plantas no campo original, acompanhando até a 4ª geração (vM4) aquelas plantas modificadas morfológicamente na coloração das folhas, lâminas foliares mais estreitas e mais eretas, maior capacidade de perfilhamento, assegurando que realmente ocorreram mutações.

Dentre as 4.884 plantas inoculadas, somente 43 plantas não mostraram sintoma de mosaico na primeira avaliação vM2 (tabela 6), enquanto que na segunda avaliação feita 5 meses depois, aumentou para 73 o número de plantas sadias. Estes dados mostram que algumas plantas com sintoma recuperam-se desaparecendo o sintoma da doença. Esse fenômeno de recuperação já foi verificado em algumas variedades de tolerância intermediária como a NA56-79 e IAC52-150, DAL PICCOLO *et alii* (1981). Segundo esses mesmos autores, variedades sensíveis ao vírus do mosaico como a CB40-13 e CB46-47 não apresentam essa capacidade de recuperar-se após a infecção da doença.

Como a variedade Co740 é considerada suscetível ao mosaico, esperava-se que não fosse capaz de recuperar, mas os dados mostraram que, mesmo no controle não submetido à irradiação, algumas plantas apresentaram recuperação à sanidade depois de manifestar o sintoma do vírus do mosaico.

Já na inoculação seguinte, também feita em casa de vegetação pelo método de pressão, foram realizadas duas avaliações defasadas de um mês, conforme os resultados obtidos na tabela 7. Nota-se que na segunda leitura aumentou o número de plantas com sintomas de mosaico, não havendo nenhuma progênie com plantas recuperando a sanidade, provavelmente pelo tempo entre as duas avaliações ter sido curto. Mesmo tendo partido de 48 indivíduos de cada progênie, verificou-se baixo número de plantas sadias (tabela 7).

As plantas sadias foram transplantadas para o campo (vM4), em janeiro de 1982 e depois de 17 meses foram selecionadas oito progênies: 18, 46, 48, 150, 415, 443, 651 e 654, as quais foram multiplicadas em vM5 e continuam em observação.

No mesmo período em que foram coletadas as 48 gemas de cada uma das 36 progênies selecionadas, também foram coletados dois colmos de cada uma das progênies para expor à fonte natural de inóculo em Bandeirantes-PR. Este cuidado em expor as progênies selecionadas em condições de campo com fonte natural de inóculo, não encontramos nenhuma referência e julgamos ser indispensável por envolver o agente transmissor do vírus.

A tabela 8 contém os dados das duas avaliações

de incidência de mosaico nas plantas levadas para Bandeirantes-PR. Nota-se que uma das testemunhas, bem como as progênies 46 e 48 não mostraram nenhuma planta com mosaico. Isto reafirma a necessidade de novos testes, antes de concluir que foram produzidos mutantes resistentes.

Outras progênies 57, 157, 654 e 670 apresentaram menos de 30% de plantas infetadas pelo vírus do mosaico, ao passo que a maioria das demais progênies, inclusive as testemunhas, foram altamente infetadas.

No ano seguinte, foram avaliadas na mesma época cana-soca e as progênies selecionadas foram avaliadas em cana-planta, ambas em VM5. Nota-se pelos dados da tabela 9 uma redução nas porcentagens de plantas infetadas do mosaico comparando os dados apresentados na tabela 8. Entretanto, na soca, somente a progênie 46 não apresentou planta com mosaico, enquanto a progênie 48 e a testemunha 7 foram contaminadas. Mas, quando se compara cana-soca (tabela 9) com as progênies selecionadas (tabela 10) em cana-planta, ambas em VM5, observa-se que na progênie 46 aproximadamente 21% das plantas apresentaram sintoma. A progênie 48 e a testemunha 7 apresentaram menor porcentagem de plantas com mosaico, enquanto a progênie 654 aumentou a porcentagem de plantas doentes na cana-planta (tabelas 9 e 10). As demais aumentam as porcentagens de plantas com sintoma de mosaico na cana-planta.

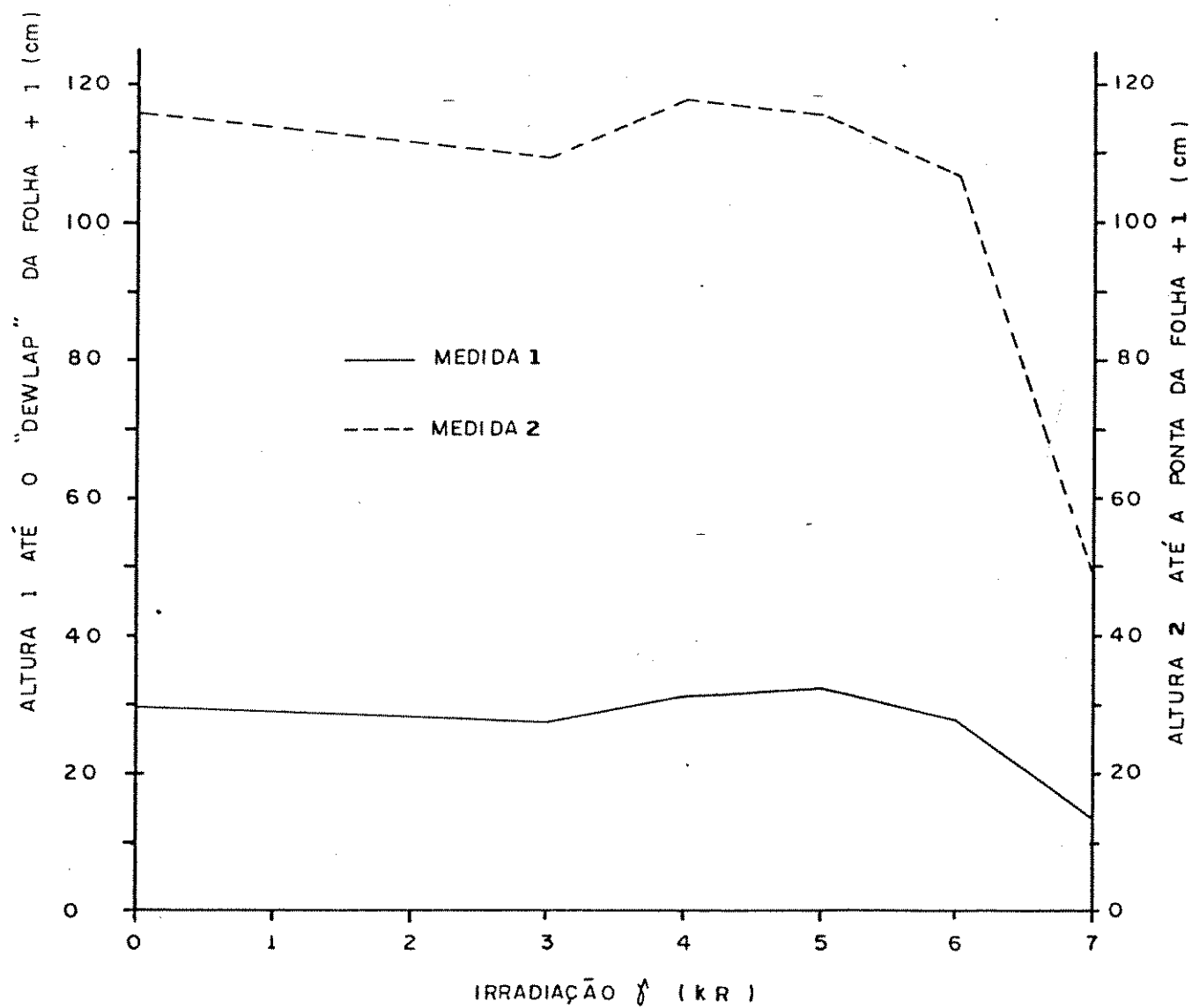
Pelos resultados expressos na tabela 12 observa-se que o campo com mudas provenientes de cana-soca apresentou porcentagens menores de plantas com sintomas de mosaico do que o campo com mudas oriundas de cana-planta (tabela

la 11); mesmo as testemunhas manifestaram esse comportamen
to.

Outro fato a ser salientado é a menor ocorrên
cia de plantas com sintoma de mosaico quando se inicia o
plantio com mudas sadias. As frequências de plantas infeta
das, como seria de esperar, são bastante maiores quando se
utiliza mudas já infetadas para se efetuar o plantio.

Os estudos, visando avaliar o potencial do uso
de radiação ionizante na indução de mutações controlando re
sistência a doenças, continuam face aos resultados obtidos.
Pela própria natureza do processo, pópulações maiores deve
rão ser utilizadas. Lembrando que este trabalho foi desenvol
vido até a sexta geração vegetativa VM6 e que as referências
encontradas na literatura são de seleções nas primeiras gera
ções vegetativas VM2 e VM3, a metodologia desenvolvida neste
trabalho sugere maior número de inoculações da doença em
gerações vegetativas avançadas e principalmente teste de
campo com inoculação natural.

Figura 7 - Altura média das progênies da variedade Co740 irradiada com cinco doses de raios gama, utilizando-se dois critérios de avaliação.



6. CONCLUSÕES

O estudo de aplicação de irradiação gama, oriunda da fonte Co^{60} , em variedade de cana-de-açúcar seguida de inoculações do vírus do mosaico nas progênies irradiadas, permitiram as seguintes conclusões:

1. A irradiação gama provoca modificações morfológicas e fisiológicas em diferentes graus, além de alterar significativamente o gradiente e a velocidade de germinação em cana-de-açúcar;

2. O controle da germinação deve ser feito pelo menos duas vezes espaçadas aproximadamente 60 dias, devido às modificações na velocidade de germinação;

3. Os dois critérios utilizados para medir a altura das plantas apresentaram resultados semelhantes nas diversas progênies correspondentes às diferentes doses de irradiação gama. Nas progênies que receberam as doses 4,0 e 5,0 kR, nota-se esta tendência de acréscimo na altura das plantas, decrescendo nas doses maiores;

4. As doses que permitiram maior número de mutações desejáveis para a variedade Co740 foram 5,0 e 6,0 kR. Para testes em larga escala foi selecionada a dose 5,5 kR;

5. A intensidade das modificações morfológicas foi proporcional à dosagem de irradiação. A letalidade maior foi observada com a dose 7,0 kR. Por outro lado, o aumento de mutações com possível interesse para o melhoramento, não segue a mesma tendência do crescimento da letalidade

de;

6. Os parâmetros morfológicos: número de internódios, diâmetro, peso e comprimento dos colmos foram mais alterados pela irradiação gama, do que os parâmetros tecnolôgicos (Brix %, Pol % Caldo, Fibra % e Pol % Cana), onde somente o teor de fibra da cana foi alterado significativamente entre alguns tratamentos;

7. Os testes de inoculação de plantas com vírus do mosaico, independentemente da irradiação, indica que o genótipo da variedade Co740 condiciona uma capacidade de recuperação dos sintomas da moléstia;

8. As plantas sem sintomas do ataque do vírus quando multiplicadas vegetativamente, apresentam menores porcentagens de plantas infetadas, quando comparadas com mudas doentes em condições naturais de contaminação. Esse comportamento parece estar relacionado com a tolerância a níveis diferenciais de infecção;

9. Em cana-soca verifica-se menores porcentagens de plantas com sintoma do que em cana-planta como resultado da capacidade de recuperação identificada na variedade Co740;

10. Apesar do campo original VM4 instalado em Bandeirantes-PR não mostrar plantas com sintoma de mosaico na progênie 46, plantas provenientes de gemas extraídas dessas parcelas apresentaram algumas plantas infetadas;

11. As avaliações de campo são fundamentais para este tipo de trabalho, porque envolve agente transmissor do vírus. Assim pode ser obtido um mutante com características pouco atrativas para o inseto transmissor.

12. Apesar das variações observadas na reação da variedade Co740, a infecção pelo vírus do mosaico, as progênies oriundas de material irradiado ocorreram em maior frequência do que na testemunha. Esse resultado indica o potencial do uso de agentes físicos ionizantes no melhoramento de plantas, visando alteração em caracteres mono ou oligogênicos;

13. A técnica de mutação induzida por exigir grandes populações poderia ser usada em combinação com o melhoramento convencional, irradiando "seedlings" obtidos sexualmente;

14. A metodologia desenvolvida para avaliação da resistência mostrou-se adequada, principalmente por terem sido usadas três técnicas de inoculação do vírus do mosaico em casa de vegetação e testes de campo com alta concentração de inóculo.

7. RESUMO

A radiação ionizante tem sido usada na indução de alterações monogênicas ou oligogênicas, principalmente em espécies que se reproduzem vegetativamente como a cana-de-açúcar e que apresentam genótipos altamente heterozigotos, preservando as características favoráveis obtidas durante muitos anos de seleção. Nesse sentido, destaca-se a indução de resistência a pragas e moléstias nas variedades comerciais.

A variedade Co740, altamente suscetível ao vírus do mosaico, foi usada para indução de irradiação gama nas doses 3,0, 4,0, 5,0, 6,0 e 7,0 kR para se determinar a dose que favorece o maior número de mutações. Como os resultados preliminares de germinação e desenvolvimento foram melhores nas progênes provenientes de 5,0 e 6,0 kR, optou-se pela dose 5,5 kR para os estudos, visando avaliar o potencial da radiação gama na indução de mutações condicionando resistência ao vírus do mosaico.

Foram irradiadas 1.573 gemas e as progênes obtidas foram inoculadas artificialmente com o vírus do mosaico em anos e gerações vegetativas diferentes (vM2 e vM4). A partir da quarta geração vegetativa (vM4) foram feitos três testes de resistência ao mosaico em condições de campo sem inoculação artificial. Seis avaliações foram feitas em quatro épocas diferentes até vM6. Duas delas foram feitas em cana-planta vM4, outras duas em vM5 (cana-planta proveniente de vM4 e soqueira vM4) e finalmente duas em vM6 cana-planta

(proveniente respectivamente de vM5 e vM4 soqueira).

As inoculações de mosaico permitiram conhecer a capacidade de recuperação da variedade Co740, pois plantas com sintomas da doença, na primeira avaliação, deixaram de manifestá-los nas avaliações subsequentes.

A inoculação artificial em casa de vegetação, apresentou maior índice de plantas infetadas do que aquela ocorrendo em condições de campo. Os três clones mais tolerantes selecionados estão sendo multiplicados para entrarem em ensaios de competição para avaliar a potencialidade de cada um em tornar-se variedade comercial.

Os dados de avaliação do efeito da irradiação indicaram maior frequência de alterações morfológicas. Alterações no teor de fibra foram observadas.

8. SUMMARY

Sugarcane clones because of the reproductive nature of the species are highly heterozygous. Consequently the breeding through the use of varietal hybridization may lead to a breakdown of the selected genotypes resulting in a wide range of undesirable recombinations.

Such characteristics require that during the breeding program efforts are directed toward preservation the favorable gene combination. For this reason the breeders have been looking for techniques which would lead to one or few genes alteration without affecting the existing commercial characteristics. In such cases artificial mutation methods may be utilized aiming at the alteration of the gene or group of them that are responsible for the undesirable characteristics.

In the present work, the variety Co740, highly susceptible to the sugarcane mosaic virus, was utilized to determine an irradiation dosis that would allow a high rate of genetic alteration without affecting significantly the favorable characteristics of the variety. Five dosis of gamma rays from a Co^{60} source (3.0, 4.0, 5.0, 6.0 and 7.0kR) were evaluated for this purpose. The results showed that 5.0 and 6.0 kR were the most suitable for the objective of this work. Consequently an intermediate dosis of 5.5 kR was utilized to irradiate 1.573 individual buds removed from the sugarcane stalks.

Mutation for resistance to the mosaic virus,

in the variety Co740, was evaluated through artificial inoculations of the virus, on seedlings from buds of the first two generations following irradiation. Three successive field tests, with natural inoculation, were also carried out, starting with the fourth vegetative generation (vM4).

The readings the inoculation were as follows: Two of them were made in plant-cane of vM4, two vM5 (plant-cane made from vM4 and ratoon of vM4) and two in vM6 (plant-cane made from vM5 and plant-cane made from the ratoon of vM4).

The results indicated the possibility of using gamma radiation for the breeding of commercial sugar cane varieties. Three clones selected out the irradiated material, are being evaluated under field conditions to establish if the favorable agronomic traits of the clone Co740 were maintained and if any other physiological alteration occurred.

9. BIBLIOGRAFIA

- ACOSTA, S. & LODOS, J. 1982. The action of gamma radiation on sugarcane as a new sterilization method. Sugar y Azucar, New York, 77:55-9.
- ANDEREZ, M. 1971. Preliminary report of studies on inducing mutations in sugarcane in Cuba with Co^{60} x source. Revista de Agricultura, Piracicaba, 4:1-4.
- BAIN, C.D. 1944. The use of abrasines for inoculating sugarcane seedlings with the mosaic virus. Phytopathology, St. Paul, 34:844-5.
- BALASUNDARAM, N. 1981. Yield and quality of induced mutants in sugarcane. Indian Journal of Agricultural Science, Krishi Bhavan, 51:1-4.
- BARNES, A.C. 1964. History and development as a world crop. In: _____. The Sugar cane. New York, Inter science Publishers. p.1-17.
- BEADLE, G.W. 1932. A gene for sticky chromosomes in Zea mays. Z. Indukt Abstamm Vererblehre, 63:195-217.
- BOWEN, H.J.M. 1965. Mutations in horticultural chrysanthemums. In: TECHNICAL MEETING ON THE USE OF INDUCED MUTATIONS IN PLANT BREEDING, Rome, 1964. Reports. Oxford, Pergammom Press. p.695-700.
- BRANDES, E.W. 1920. Artificial and transmission of sugar cane mosaic. Journal Agricultural Research, Lahore, 19: 131.
- BRANDES, E.W. 1956. Origin, dispersal and use breeding of the melanesian garden sugarcane and their deriva

- tives, *Saccharum officinarum* L. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY SUGARCANE TECHNOLOGISTS, 9, New Delhi 1956. Proceedings. New Delhi, T. Prasad. p. 709-750.
- BREMER, G. 1923. A cytological investigation of some species and species hybrids within the genus *Saccharum*. Genetics, 5:97-148.
- BROERTJES, C. 1972. Improvement of vegetatively propagated plants by ionizing radiation. In: MEETING INDUCE MUTATIONS AND PLANT IMPROVEMENT, Buenos Aires, 1970. Proceedings. IAEA, Vienna. p.293-9.
- COWAN, F.P. & MEINHOLD, C.B. 1962. Radiation dosimetry for Co^{60} and CS^{137} gamma ray field irradiation facilities. Radiation Botany, Elmsford, 2:241-9.
- DAL PICCOLO, C.R.; SORDI, R.A.; MATSUOKA, S. 1981. Efeito do vírus do mosaico nas variedades de cana-de-açúcar IAC 52-150 e NA56-79. Cana-planta. In: CONGRESSO NACIONAL DA STAB, 2, Rio de Janeiro. Anais. v.2. p.379-90.
- DARMODJO, S. 1977. Induction of mosaic disease resistance in sugarcane by gamma ray irradiation. Sugarcane Breeders' Newsletter, Macknade, 39:4-7.
- DEAN, J.L. 1960. A spray method for inoculating seedlings with the mosaic virus. Plant Disease Report, Washington, 44:874-6.
- DILLEWIJN van, C. 1951. Botánica de la caña de azúcar. Capítulo 7 pag. 79 a 106.
- DOBZHANSKY, T. 1951. Genetics and the origin of species. 3rd. ed. New York, Columbia University Press. 309p.
- FUJII, T. & MATSUMURA, S. 1958. Radiosensitivity in plants.

- Determination of LD-50 in cultivated plants. Japan
Journal of Genetics, 33:389-97.
- GILES, N.H. 1940. Spontaneous chromossome aberrations in
tradescantia. Genetics, 25:69-87.
- GILES, N.H. 1941. Spontaneous chromossome aberrations in
triploid tradescantia hybrids. Genetics, 26:632-49.
- HEINZ, D.J. 1973. Sugarcane improvement through induced
mutations using vegetative propagules and cell culture
techniques. In: INDUCED MUTATIONS IN VEGETATIVELY
PROPAGATED PLANTS. IAEA, Vienna. p.53-61.
- JAGATHESAN, D. & SREENIVASAN, T.V. 1973. Induced muta-
tions in sugarcane. Sugarcane Breeders' Newsletter,
Macknade, (32):23.
- JAGATHESAN, D. 1977. Induction and isolation of mutants
in sugarcane. Mutation Breeding Newsletter, (9):5-6.
- JAGATHESAN, D. & RATWAN, R. 1978. A vigorous mutant sugar
cane (*Saccharum* spp.) clone, Co527. Theoretical and
Applied Genetics, New York, 51(6):311-3.
- MANGELSDORF, A.J. 1956. Sugar cane breeding:in retrospect
and improspect. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL
SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS, 9, New Delhi, 1956.
Proceedings. p.560-75.
- MATSUOKA, S. & DODSON, A.K. 1975. Teste de infecção natu-
ral pelo vírus do mosaico da cana-de-açúcar. Brasil Açú-
careiro, Rio de Janeiro, 85:234-8.
- MATSUOKA, S. 1976. Incidência e efeito do mosaico na cul-
tura da cana-de-açúcar no Estado de São Paulo. Araras,
IAA/PLANALSUCAR, COSUL. 3lp. (Boletim Técnico, 4).
- MATZ, J. 1933. Artificial Transmission of sugarcane

- mosaic. *Journal Agricultural Research, Lahore*, 46:821-39.
- MICKE, A. 1969. Improvement of low yielding sweet clover mutants by heterosis breeding. In: *Induced mutations in Plants (Proc. Symp., Pullman)*, IAEA, Vienna, p.541-50.
- MICKE, A. 1974. Scope and aims of the co-ordinated research programme of induced mutations for disease resistance in crop plants. In: *Proc. Meeting Nov Sad*, 1974. IAEA, Vienna. p.3-7.
- MULLER, H.J. 1927. Artificial transmutation of the gene. *Science, Washington*, 66:84-8
- NAIR, M.K. 1973. Note on a induced red-rot resistant mutant of Co997 variety of sugarcane. *Indian Journal of Agricultural Science*, 43:232-324.
- NYBOM, N. & KOCH, A. 1965. Induced mutations and breeding methods in vegetatively propagated plants. In: *TECHNICAL MEETING ON THE USE OF INDUCED MUTATIONS IN PLANT BREEDING*, Rome, 1964. Report. Oxford, Pergamon Press. p.661-78.
- PANJE, R.R. & PRASAD, P.R.J. 1959. Effects of ionizing radiation on sugarcane buds. *Current Science, Bangalore*, 28:204-5.
- PRICE, S. 1957. Cytological studies in *Saccharum* and allied genera. pte. 2. Geographic distribution and chromossomes number in *S. robustus* *Cytologia*, Tokyo, 22:40-52
- PRICE, S. & WARNER, J.N. 1960. The possible use of induced mutations for sugarcane improvement. In: *CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGAR CANE*

- TECHNOLOGISTS, 10, Honolulu, 1959. Proceedings. Amsterdam, Elsevier. p.782-91.
- QUESADA, O. 1977. Determination of the optimum dosis of gamma radiation to apply on three cane varieties (*Saccharum officinarum*, variedades PR980, PR62-258, CP 52-42, germination). Agroconocimiento, Santo Domingo, 2:25-6.
- RAO, T.J.; SRINIVASAN, K.V.; ALEXANDER, K.C. 1966. A red-rot resistant of sugarcane induced by gamma irradiation. Proc. Acad. Sci., 64:224-30.
- RAO, P.S. 1973a. Preliminary yield data of radiation induced mutants in sugarcane. Sugarcane Breeders' Newsletter, Macknade, 32:23.
- RAO, P.S. 1973b. Performance of two sugarcane mutants in the preliminary yield trails. Sugarcane Breeders' Newsletter, Macknade, 32:24-25.
- ROACH, B.T. 1974. Quantitative effects of radiation-induced mutation in sugarcane. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS, 15, Durban, 1974. Proceedings. Durban Hayne & Gbson. p.138-144.
- SANKARANARAYANAN, P. & BABU, C.N. 1970. Effects of chronic gamma irradiation in sugarcane varieties. Indian Journal Heredity, 2(2):97-102.
- SEARS, E.R. 1956. The transfer of leaf-rust resistance from *Aegilops umbellulata* to wheat. Simp. Biol. 9:1-21.
- SIDDIQUI, S.H.; MUGEEB, K.A.; KEERIO, G.R. 1976. Gamma irradiation effects on sugarcane (*Saccharum* spp.) clone Co547. Environ. Exp. Bot., 16:65-8.
- SIGURBJORNSSON, B.; MICKE, A. 1974. Philosophy and

- accomplishments of mutation breeding (Proc. Meeting Bari, 1972) IAEA, Vienna, p.303-343.
- SIGURBJORNSSON, B. 1975. Induced mutations in plants. Sci. Amer. 224:86-95.
- SINGH, S. 1970. Chronic gamma irradiation-induced resistance to red-rot disease in sugarcane variety 997. Sugarcane Pathology Newsletter, 5:24
- SPARROW, A.H. & SINGLETON, W.R. 1953. The use of cobalt as a source of gamma rays and some effects of chronic irradiation on growing plants. American Naturalist, 87:29-48.
- STEVENSON, G.C. 1957. The british west indies central sugarcane breeding station. In: Proc. Brit. W. Indies Sugar Technology. p.24-33.
- STEVENSON, G.C. 1965. Genetics and breeding of sugarcane. London, Longman. 284p.
- TOKESHI, H. 1980. Doenças da cana-de-açúcar. In: GALLI, F. COORD. Manual de Fitopatologia. Piracicaba, Ceres. V.2, cap.2, p.141-206.
- TYSDAL, H.W. 1956. Promising new procedures in sugarcane breeding. In: CONGRESS OF THE INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS, 9, New Delhi. 1956. Proceedings. New Delhi, T. Prasad, p.618-31.
- URADHYA, M.D. & PUROHIT, A.N. 1973. Mutation induction and screening procedure for physiological efficiency in potato. In: MEETING INDUCED MUTATIONS IN VEGETATIVELY PROPAGATED PLANTS, 1972. Proceedings. FAO/IAEA, Vienna. p.61-6.
- URATA, R. & HEINZ, D.J. 1972. Gamma irradiation induced

mutations in sugarcane. In: CONGRESS OF THE INTERNA
TIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS, 14, New
Orleans, 1971. Proceedings. Baton Rouge, Franklin
Press. p.402-7.

VIEIRA, M.A.S. *et alii*. 1981. Melhoramento da cana-de-açú
car. Araras. IAA/PLANALSUCAR. COSUL. 19p. (Curso In
tensivo em cana-de-açúcar. Araras, 1981)

VIGAYALAKS HIMI, U. & RAO, J.T. 1960. Effect of gamma ray
on germination and growth in some species and hybrid of
saccharum. Current Science, Bangalore, 10:397-8.

WALKER, D.I.T. & SISODIA, N.S. 1969. Induction of a non
flowering mutant in sugarcane (*Saccharum* spp.) Crop.
Science, Madison, 9:551-2.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Frequência de touceiras que continham os números de colmos indicados a fornecerem as 6 gemas para o teste de suscetibilidade ao vírus do Mosaico*

Nº de colmos por touceiras	Doses de irradiação (kR)					
	4,0	5,0	5,5	6,0	7,0	0,0
1	0	0	11	3	0	0
2	1	1	38	1	0	0
3	2	1	67	2	1	0
4	2	1	131	1	1	3
5	2	0	137	3	2	2
≥ 6	14	25	430	16	3	7
Total	21	28	814	26	7	12

* O número de gemas para cada dose é obtido multiplicando-se o total por 6. Quando havia 6 colmos/touceira, cada colmo forneceu uma gema.

Tabela 2 - Dados de avaliações de germinação após irradiação de mini-toletes de cana-de-açúcar com as doses indicadas de Co^{60} (irradiação gama)

Dose kR	1ª avaliação		2ª avaliação		Total
	germinadas	não germinadas	germinadas	não germinadas	
0,0*	22	26	23	25	48
3,0	19	29	21	27	48
4,0	18	41	21	38	59
5,0	23	17	29	11	40
6,0	21	47	31	37	68
7,0	09	39	17	31	48
Total	112	199	142	169	311

* testemunha, gemas não irradiadas

$$\chi^2 = 18,04$$

T1

$$< 0,005$$

$$\chi^2 = 16,22$$

T2

$$< 0,010$$

Tabela 3 - Medidas da altura das plantas em cm, utilizando-se dois critérios: medida 1 (do solo até o "dewlap" da folha + 1) e medida 2 (do solo até a ponta da folha + 1)

Medida 1		Medida 2		Medida 1		Medida 2	
Repetições	cm	Repetições	cm	Repetições	cm	Repetições	cm
IRR 3,0	26	99	IRR 4,0	25	95	IRR 5,0	29
	29	120		32	123		34
	34	124		31	122		25
	23	95		32	116		32
	33	124		23	89		46
	33	126		28	109		33
	25	100		35	130		31
	17	108		34	129		39
	29	88		28	116		37
	30	114		38	130		40
	29	116		27	116		28
	32	110		32	120		32
	08	80		38	138		29
	36	132		35	129		22
	30	115		29	110		32
	31	127		32	122		34
	24	117		32	118		31
	24	95		26	107		30
	28	109		29	112		32
	24	86		34	127		26
$\bar{x}$		109	$\bar{x}$		118	$\bar{x}$	
$\log \bar{x}$		2,03	$\log \bar{x}$		2,07	$\log \bar{x}$	

27

1,42

32

1,50

115

2,06

Repetições		Medida 1		Medida 2		Repetições		Medida 1		Medida 2		Repetições		Medida 1		Medida 2	
		cm		cm				cm		cm				cm		cm	
IRR 6,0	1	26		117		IRR 7,0	1	05		07		IRR 0,0	1	35		138	
	2	24		93			2	06		09			2	29		117	
	3	17		103			3	25		107			3	32		105	
	4	28		110			4	09		32			4	30		122	
	5	26		100			5	02		08			5	21		85	
	6	33		115			6	06		20			6	34		140	
	7	27		100			7	15		52			7	29		120	
	8	30		120			8	06		22			8	28		106	
	9	28		115			9	24		90			9	28		107	
	10	30		110			10	24		86			10	36		127	
	11	26		104			11	07		29			11	28		120	
	12	30		113			12	10		34			12	30		124	
	13	28		99			13	07		28			13	27		114	
	14	26		101			14	38		117			14	25		100	
	15	23		94			15	25		102			15	38		133	
	16	36		126			16	07		30			16	28		118	
	17	26		93			17	-		-			17	38		135	
	18	26		98			18	-		-			18	22		99	
	19	27		110			19	-		-			19	22		102	
	20	34		116			20	-		-			20	29		111	
$\bar{x}$		28		107		$\bar{x}$		14		48		$\bar{x}$		29		116	
$\log \bar{x}$		1,43		2,03		$\log \bar{x}$		1,01		1,53		$\log \bar{x}$		1,46		2,06	

Tabela 4 - Resultados da análise estatística com dados de quatro características morfológicas em cana-planta vM2 obtidas na progênie selecionada da variedade Co740 irradiada com cinco doses de raios gama

Causas de variação	GL	Quadrados médios			
		Nº de internódios	Diâmetro do colmo	Peso do colmo	Comprimento do colmo
Tratamentos	6	28,6362*	1,0449**	1,0041**	0,7702**
Resíduo	176	9,9836	0,0817	0,1047	0,0754

CV = 13,21% CV = 10,44% CV = 21,94% CV = 11,23%

Trat.	Nº	Rep.	Nº de internódios	Diâmetro do colmo	Peso do colmo	Comprimento do colmo
			($\bar{m}$)	($\bar{m}$)	($\bar{m}$)	($\bar{m}$)
7,0kR	01	23	23	2,95	1,67	2,28
6,0kR	02	31	24	2,94	1,77	2,37
5,0kR	03	43	25	2,45	1,32	2,69
5,0kR	04	20	23	2,83	1,53	2,33
6,0kR	05	44	24	2,69	1,31	2,50
5,0kR	06	11	24	2,79	1,38	2,23
0,0kR	07	11	22	2,82	1,48	2,26
$\Delta(23,31)^+$			3	0,24	0,27	0,23
$\Delta(23,43)$			2	0,22	0,25	0,21
$\Delta(23,20)$			3	0,26	0,30	0,25
$\Delta(23,44)$			2	0,22	0,25	0,21
$\Delta(23,11)$			4	0,31	0,35	0,30
$\Delta(31,43)$			2	0,20	0,23	0,19
$\Delta(31,20)$			3	0,25	0,28	0,24
$\Delta(31,44)$			2	0,20	0,23	0,19
$\Delta(31,11)$			3	0,30	0,34	0,29
$\Delta(43,20)$			3	0,23	0,26	0,22
$\Delta(43,44)$			2	0,18	0,21	0,17
$\Delta(43,11)$			3	0,29	0,33	0,28
$\Delta(20,44)$			3	0,23	0,26	0,22
$\Delta(20,11)$			4	0,32	0,36	0,31
$\Delta(44,11)$			3	0,29	0,32	0,28
$\Delta(11)$			4	0,36	0,41	0,35

+ Os números referem-se aos diferentes números de repetições.

Tabela 5 - Resultados da análise estatística com dados de quatro parâmetros tecnológicos obtidos na progênie selecionada da variedade Co740 irradiada.

Causas de variação	GL	Quadrados médios			
		Brix % caldo	Pol % caldo	Pol % cana	Fibra %
Tratamentos	5	0,9802	1,0876	0,6274	3,2394*
Resíduos	12	0,3987	0,6305	0,4612	0,6445

CV=3,48%

CV=5,22%

CV=5,03%

CV=7,21%

Trat.	Nº	Rep.	Brix % caldo	Pol % caldo	Pol % cana	Fibra %
			($\bar{m}$)	($\bar{m}$)	($\bar{m}$)	($\bar{m}$)
7,0kR	01	2	18,60	15,84	13,94	11,94 b
6,0kR	02	3	18,53	15,75	13,96	11,33 ab
5,0kR	03	4	17,75	14,86	13,08	11,98 b
5,0kR	04	2	19,10	16,11	14,19	11,88 b
6,0kR	05	4	17,53	14,63	13,24	9,50 a
0,0kR	06	3	18,00	14,89	13,25	10,95 ab
S2	($\bar{m}$)		0,4465	0,5615	0,4802	0,5677
S3	($\bar{m}$)		0,3646	0,4585	0,3920	0,4635
S4	($\bar{m}$)		0,3158	0,3970	0,3396	0,4014
S	(2;3)	($\bar{m}$)	0,4076	0,5125	0,4384	0,5183
S	(2;4)	($\bar{m}$)	0,3867	0,4863	0,4159	0,4015
S	(3;4)	($\bar{m}$)	0,3410	0,4288	0,3667	0,4336
$\Delta 2$			2,12	2,67	2,28	2,70
$\Delta 3$			1,73	2,18	1,86	2,20
$\Delta 4$			1,50	1,89	1,61	1,91
$\Delta (2;3)$			1,94	2,43	2,08	2,46
$\Delta (2;4)$			1,84	2,31	1,98	1,91
$\Delta (3;4)$			1,62	2,04	1,74	2,06

Tabela 6 - Avaliação de plantas na progênie da variedade Co740 com dose 5,5 kR, inoculadas com vírus do mosaico em casa de vegetação - vM2, que não apresentaram os sintomas da moléstia

1ª avaliação: 27/12/79 - 2ª avaliação: 05/05/80

Progênie	1ª	2ª	Progênie	1ª	2ª
Nº	avaliação	avaliação	Nº	avaliação	avaliação
+ 6*	1	1	154	1	1
+ 7*	0	1	157*	0	1
+ 8*	0	2	165*	0	1
+12*	1	1	174	1	1
18	1	1	175*	0	1
23	1	1	185*	0	1
24	1	1	186	1	2
26	1	1	199*	0	1
31	1	1	202	1	0
34	1	0	216	1	0
35*	0	1	224	1	0
43	1	1	245*	0	1
46	1	1	258*	1	2
47	1	1	261	1	0
48	1	1	272	1	0
52	1	1	281	2	0
57*	0	1	294	1	0
82	1	1	297	1	0
90	2	1	391*	0	1
93	1	0	415*	0	1
101*	0	1	425*	0	1
114*	0	1	443*	0	1
117	1	0	445	1	1
125*	0	1	447	1	0
146*	0	1	453	1	0
147	1	0	472	1	0
150*	0	1	492*	0	2

continuação: tabela 6

Progênie	1ª	2ª	Progênie	1ª	2ª
Nº	avaliação	avaliação	Nº	avaliação	avaliação
532	1	0	663*	0	1
557*	0	1	670*	0	1
565	1	1	672*	0	1
580*	0	1	679*	0	1
586*	0	1	693*	0	1
599*	0	1	711	1	1
610*	0	1	715*	0	1
611*	0	1	723	1	0
614*	0	2	734	1	0
617	1	1	751*	0	1
627*	0	1	753*	0	1
629*	0	1	756*	0	1
651*	0	2	767	1	0
652*	0	2	769	1	1
654*	1	1	812*	0	1
655*	0	1			

+ testemunhas touceiras não irradiadas

* progênies cujas plantas foram reinoculadas por suspeitar a ocorrência de escape na primeira inoculação: as plantas pequenas foram reinoculadas por fricção e as plantas grandes por punctura de agulha.

Tabela 7 - Avaliação de plantas na progênie da variedade Co740 com dose 5,5 kR, inoculadas com vírus do mosaico em casa de vegetação - vM4, que não apresentaram os sintomas da molêstia.

1ª avaliação: 05/11/81 - 2ª avaliação: 04/12/81

Progênie Nº	1ª avaliação	2ª avaliação	Progênie Nº	1ª avaliação	2ª avaliação
+7	3	0	245	2	0
+12*	3	2	415	1	1
18	4	4	443*	10	6
23*	4	4	445	3	3
24	3	2	492*	5	4
26	0	0	557	5	5
43	1	0	586	1	1
46*	2	2	610	3	3
48*	4	1	614	1	1
52	6	4	651	1	1
57	1	1	651	2	2
101	2	2	652	2	2
114	5	0	654	8	4
150	3	1	655	4	4
157	1	0	670*	1	1
174	3	3	672*	2	1
186*	3	3	679	0	0
186*	3	1	711	1	0
199*	6	5	715	1	1

+ testemunhas touceiras não irradiadas

* progênies cujas plantas foram reinoculadas por suspeitar a ocorrência de escape na primeira inoculação: as plantas pequenas foram reinoculadas por fricção e as plantas grandes por punctura de agulha.

Tabela 8 - Resultados de avaliações de Mosaico em condições de campo (inoculação natural) vM4

1ª avaliação: 08/01/82 - 2ª avaliação: 28/05/82

Progenie	Nº total de touceiras	Nº de touceiras com MOS		
		1ª avaliação	2ª avaliação	% inf. na 2ª avaliação
+7	10	0	0	0
+8	8	5	8	100
+12	7	3	7	100
18	6	4	6	100
23	7	1	7	100
24	7	2	4	57
26	7	2	5	71,4
43	5	4	5	100
46	5	0	0	0
48	8	0	0	0
52	7	4	7	100
57	7	2	2	28,6
101	8	2	8	100
114	8	0	3	37,5
150	7	2	7	100
157	9	1	1	11,1
174	6	3	6	100
186	7	5	7	100
199	6	6	5	83,3
245	8	4	8	100
415	7	1	6	85,7
443	6	0	6	100
445	6	3	6	100
492	5	1	2	40
557	7	1	7	100
586	5	4	5	100
610	7	3	7	100
614	6	5	6	100
651	7	3	7	100
652	7	3	6	85,7
654	6	0	1	16,7

continua:-

Continuação: Tabela 8

Progênie	Nº total de touceiras	Nº de touceiras com MOS		
		1. ^a avaliação	2. ^a avaliação	% inf. na 2. ^a avaliação
655	6	6	6	100
670	7	1	2	28,6
672	6	2	6	100
679	5	4	5	100
693	6	4	6	100
711	7	2	7	100
715	5	2	4	80
Co740*	7	6	7	100
Co740	6	3	6	100

+ Testemunha touceira não irradiada

* Colmo com sintoma no plantio

Tabela 9 - Resultados de avaliação de Mosaico em condições de campo (inoculação natural) vM5 soca

Avaliação: 11/01/83

Progenie	Touceiras		% infecção
	Total	C/Mosaico	
+ 7	10	3	30,0
+ 8	8	7	85,0
+ 12	14	14	100
18	9	8	88,8
23	6	5	83,3
24	8	8	100
26	6	6	100
43	9	5	55,5
46	8	0	0
48	8	4	50,0
52	10	9	90,0
57	8	1	12,5
101	11	7	63,6
114	9	4	44,4
150	8	8	100
157	7	7	100
174	8	8	100
186	9	8	88,8
199	15	9	60,0
245	8	7	86,6
415	9	7	77,7
443	6	4	66,6
445	9	9	100
492	8	5	62,5
557	9	7	77,7
586	10	9	90,0
610	10	10	100
614	6	6	100
651	10	7	70,0
652	5	4	80,0
654	7	2	28,5
655	13	9	69,2
670	10	3	30,0

continuação: tabela 9

Progênie	Touceiras		% infecção
	Total	C/Mosaico	
672	11	6	54,5
679	5	5	100
693	8	8	100
711	9	3	33,3
715	7	6	85,7
Co740*	6	6	100
Co740	9	7	77,7

+ Testemunha touceira não irradiada

* Colmo com sintoma no plantio

Tabela 10 - Resultados de avaliação de Mosaico em condições de campo (inoculação natural) VM5 - planta

Avaliação: 11/01/83

Progênie	Touceiras		% infecção
	Total	C/Mosaico	
+ 7	104	24	23,07
46	61	13	21,31
48	113	19	16,81
57	43	29	67,44
114	43	21	48,83
157	43	35	81,39
492	35	25	71,42
654	24	7	29,16
670	46	27	58,69
Co740 *	81	23	28,39
Co740	102	31	30,39

+ Testemunha touceira não irradiada

* Colmo com sintoma no plantio

Tabela 11 - Resultados de avaliação de Mosaico em condições de campo vM6*.

Avaliação: 11/10/83

TRATAMENTO	TOUCEIRAS		% INFECÇÃO
	TOTAL	C/MOSAICO	
Co740 MOSAICO	1.565	1.175	75,08
Co740 SADIA	500	126	25,20
0,0 Ck 7	791	233	29,46
5,5 kR 46	382	155	40,58
5,5 kR 654	326	92	28,22
5,5 kR 670	820	261	31,83

* Proveniente de cana-planta

Tabela 12 - Resultados de avaliação de Mosaico em condições de campo vM6*.

Avaliação: 11/10/83

TRATAMENTO	TOUCEIRAS		% INFECÇÃO
	TOTAL	C/MOSAICO	
Co740 MOSAICO	308	169	54,87
Co740 SADIA	105	9	8,57
0,0 CK 7	87	12	13,79
5,5 kR 46	215	21	9,77
5,5 kR 654	98	14	14,29
5,5 kR 670	96	10	10,42

* Proveniente de cana-soca