



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO
MESTRADO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO**

ELENILDO DOS SANTOS OLIVEIRA

**RESISTÊNCIA À PODRIDÃO-DO-TOPO CAUSADA POR *Fusarium sacchari* EM
GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR NA REGIÃO MEIO-NORTE DO BRASIL**

Teresina
2021

ELENILDO DOS SANTOS OLIVEIRA

**RESISTÊNCIA À PODRIDÃO-DO-TOPO CAUSADA POR *Fusarium sacchari* EM
GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR NA REGIÃO MEIO-NORTE DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento – PPGM da Universidade Federal do Piauí, na linha de pesquisa Genética e Biologia Molecular, como requisito para obtenção do título de mestre em Genética e Melhoramento

Orientador: Prof. Dr. Francisco de Alcântara Neto

**Teresina
2021**

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco
Serviço de Processamento Técnico

O48a Oliveira, Elenildo dos Santos.
Resistência à podridão-do-topo causada por *Fusarium sacchari* em genótipos de cana-de-açúcar na região Meio-Norte do Brasil / Elenildo dos Santos Oliveira. – 2021.
35 f.

Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, Teresina, 2021.
“Orientador: Prof. Dr. Francisco de Alcântara Neto”

1. Genética. 2. Cana-de-Açúcar. 3. Doença – Podridão-do-Topo. 4. Fungo - *Fusarium Sacchari*. I. Título.

CDD 574.88

ELENILDO DOS SANTOS OLIVEIRA

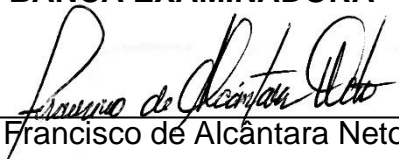
**RESISTÊNCIA À PODRIDÃO-DO-TOPO CAUSADA POR *Fusarium sacchari*
EM GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR NA REGIÃO MEIO-NORTE DO
BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento – PPGM da Universidade Federal do Piauí, na área de concentração Genética e Biologia Molecular, como requisito para obtenção do título de mestre em Genética e Melhoramento

Orientador: Prof. Dr. Francisco de Alcântara Neto

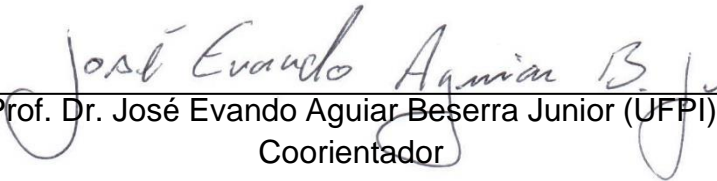
Aprovado em 27 de agosto de
2021.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Francisco de Alcântara Neto (UFPI)

Orientador




Prof. Dr. José Evando Aguiar Beserra Junior (UFPI)

Coorientador

MARUZANETE PEREIRA DE MELO

Prof. Dr. Maruzanete Pereira de Melo (UFPI)

Examinador Externo ao Programa



Prof. Dr. Alexson Filgueiras Dutra (UNESP/Jaboticabal)

Examinador Externo ao Programa

DEDICO

Aos verdadeiros protagonistas dessa história, os guerreiros que lutaram e lutam todos os dias sem armadura, nem capa para me proporcionar as condições necessárias para eu seguir meu longo caminho. Me refiro ao senhor Antônio Ediglê de Oliveira e Dona Luzia Rodrigues dos Santos: Este trabalho é para e por vocês.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (**CAPES**) – Código de Financiamento 001.

À Universidade Federal do Piauí, pela oportunidade de realização do curso de Mestrado em Genética e Melhoramento;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Francisco de Alcântara Neto, e aos meus coorientadores, Dr. José Evando Beserra Júnior e Prof^a. Dra. Beatriz Meireles Barguil, por todo conhecimento passado, orientação, profissionalismo e incentivo, que tornaram possível a conclusão desta dissertação;

Ao corpo docente do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento pela atenção e disponibilidade desde o início do curso;

Aos meus pais, o senhor Antônio Ediglê de Oliveira e a senhora Luzia Rodrigues dos Santos, obrigado por tudo.

Ao Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-açúcar (PMGCA-UFPI) pelo apoio físico e logístico durante todo o período de mestrado, através de sua estrutura e quadro de colaboradores.

Ao Sr. Idenilson Freitas Cardoso e Sra. Leudimar Aires Pereira por serem tão prestativos quando precisamos, desde das tarefas mais simples até aquelas mais complexas.

Ao professor doutor Alexson Filgueiras Dutra ao qual teve imensa contribuição para que este trabalho tenha sido conduzido da melhor forma possível, obrigado.

À doutora Enayra Silva Sousa que foi uma das componentes essenciais desse estudo, obrigado pelos ensinamentos e principalmente força de trabalho, você foi muito importante nessa jornada.

Aos dois guerreiros que me acompanharam durante grande parte dessa luta, obrigado engenheiro agrônomo Marcos Victor Nunes e Mariana Marinho dos Santos e Silva, vocês foram fenomenais e verdadeiros amigos, além de não terem ideia do quão importe foram nessa jornada.

À Sâmia dos Santos Matos que me ajudou em momentos difíceis, muito obrigado por sua amizade.

Aos colegas e amigos não mencionados aqui, mas que indiretamente me ajudaram de alguma forma, meu muito obrigado.

As condições sob as quais sou compreendido, sob as quais sou necessariamente compreendido – conheço-as muito bem. Para suportar minha seriedade, minha paixão, é necessário possuir uma integridade intelectual levada aos limites extremos. Estar acostumado a viver no cimo das montanhas – e ver a imundície política e o nacionalismo abaixo de si. Ter se tornado indiferente; nunca perguntar se a verdade será útil ou prejudicial... Possuir uma inclinação – nascida da força – para questões que ninguém possui coragem de enfrentar; ousadia para o proibido; predestinação para o labirinto. Uma experiência de sete solidões. Ouvidos novos para música nova. Olhos novos para o mais distante. Uma consciência nova para verdades que até agora permaneceram mudas. E um desejo de economia em grande estilo – acumular sua força, seu entusiasmo... Auto-reverência, amor-próprio, absoluta liberdade para consigo...Muito bem! Apenas esses são meus leitores, meus verdadeiros leitores, meus leitores predestinados: que importância tem o resto? – O resto é somente a humanidade. – É preciso tornar-se superior à humanidade em poder, em grandeza de alma – em desprezo...

FRIEDRICH NIETZSCHE

RESUMO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. híbridos) contribui significativamente para a economia agrícola do país, gerando recursos importantes com a produção de açúcar, álcool e outros derivados. A podridão-do-topo causada por *Fusarium sacchari* é uma doença emergente que tem despertado atenção nas diversas áreas canavieiras onde este fungo tem tido ocorrência, considerando que ainda há poucas informações sobre genótipos resistentes a este patógeno. Neste sentido, esse estudo teve como objetivo classificar genótipos de cana-de-açúcar quanto à resistência/suscetibilidade à *F. sacchari* nas condições de temperatura e umidade relativa da região Meio-Norte do Brasil e, posteriormente, ao longo de dois anos de cultivo sob condições semi-controladas, confirmar aqueles resistente e suscetíveis com base no índice de severidade da doença. Foi realizado inicialmente o *screening* de 16 genótipos de cana-de-açúcar submetidos à inoculação foliar com suspensão de conídios de *F. sacchari*, visando classifica-los quanto ao nível de resistência. Posteriormente, com base em oito genótipos contrastantes selecionados no primeiro ensaio, foi conduzido os ensaios com base no Índice de Severidade da Doença (ISD). Os genótipos RB867515, RB0449, RB05876, RB021754 apresentaram menores ISD, sendo classificados no ensaio I (inicial) como resistentes. Por outro lado, o ensaio I demonstrou que os genótipos RB04803, RB975952, RB036066 e RB041443 são mais suscetíveis à *F. sacchari*, apresentando maiores ISD. Considerando que os ambientes de estudo foram acometidos por altas temperaturas e baixa umidade relativa durante o período dos ensaios para validar os genótipos contrastantes, não foi possível observar expressão da doença.

Palavras-chave: Pokkah Boeng. Resistência horizontal. Severidade da doença.

ABSTRACT

Sugarcane (*Saccharum* spp. hybrids) contributes significantly to the country's agricultural economy, generating important resources with the production of sugar, alcohol and other derivatives. Pokkah Boeng caused by *Fusarium sacchari* is an emerging disease that has attracted attention in several sugarcane areas where this fungus has occurred, considering that there is still little information about resistant genotypes to this pathogen. In this sense, this study aimed to classify sugarcane genotypes in terms of resistance/susceptibility to *F. sacchari* under the conditions of temperature and relative humidity in the Mid-North region of Brazil and, subsequently, over two years of cultivation under semi-controlled conditions, confirm those resistant and susceptible based on Disease Severity Index (DSI). Initially, the screening of 16 sugarcane genotypes submitted to foliar inoculation with suspension of *F. sacchari* conidia was carried out, aiming to classify them according to their level of resistance. Subsequently, based on eight contrasting genotypes selected in the first trial, trials based on the DSI were conducted. Genotypes RB867515, RB0449, RB05876, RB021754 had lower DSI, being classified in trial I (initial) as resistant. On the other hand, trial I demonstrated that genotypes RB04803, RB975952, RB036066 and RB041443 are more susceptible to *F. sacchari*, presenting higher DSI. Considering that the study environments were affected by high temperatures and low relative humidity during the trial period to validate the contrasting genotypes, it was not possible to observe disease expression.

Keywords: Pokkah Boeng. Horizontal resistance. Severity of disease.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Cana-de-açúcar: importância e aspectos gerais	12
2.2 <i>Fusarium</i> spp. e a podridão-do-topo	13
2.3 Aspectos genéticos da resistência horizontal.....	15
2.4 Doenças de planta e interação com os fatores ambientais.....	16
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 Ensaio I - <i>Screening</i> para resistência à <i>Fusarium sacchari</i> em genótipos de cana-de-açúcar	19
3.2 Ensaio II – Ensaio de validação dos genótipos contrastantes.....	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1 <i>Screening</i> inicial para seleção de clones contrastantes	21
4.2 Condições ambientais e desenvolvimento da podridão-do-topo	25
4.3 Ensaio II – Ensaio de validação dos genótipos contrastantes.....	27
5 CONCLUSÃO	30
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

1 INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. híbridos) é uma cultura agrícola de fundamental importância ao desenvolvimento econômico e social do país, contribuindo com a produção de açúcar, álcool e outros derivados, além de gerar emprego e renda em diversas regiões produtoras (GILIO; MORAES, 2016).

As doenças de plantas se caracterizam como um dos principais fatores que pode limitar o desenvolvimento e a produção dos diversos cultivos agrícolas no mundo (SUNDAR et al., 2015). A podridão-do-topo ou *pokkah boeng*, causada por *Fusarium* spp. (WANG et al., 2016) tem apresentado ocorrências em diversas áreas canavieiras do mundo, em especial no Brasil e na Índia, despertando a atenção à possíveis danos à cultura em médio e longo prazo (WANG et al., 2016; ZHANG; JEYAKUMAR, 2018; COSTA et al., 2019).

Conhecida como *Pokkah Boeng* devido os aspectos morfológicos pelos quais ela primeiro foi identificada e caracterizada na ilha de Java, este termo tem origem javanesa que significa topo deformado (NORDAHLIAWATE et al., 2008). Primeiramente o agente etiológico foi identificado como sendo *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* (DUTTAMAJUMDAR, 2004). Ao longo dos anos vários agentes causais foram sendo atribuídos à doença, dentre os quais estão *F. sacchari*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans* e *F. andiyazi* relatados em várias regiões produtoras do mundo (GOVENDER et al., 2010; LIN et al., 2014). Estas espécies atualmente fazem parte de um importante grupo chamado de *Fusarium fujikuroi* Species Complex (FFSC) que abriga mais de 50 espécies filogeneticamente distintas (O'DONNELL et al. 2015).

A epidemiologia da doença possui quatro fases distintas, sendo uma fase inicial clorótica seguida da fase aguda da podridão superior e, posteriormente a fase de corte de faca e podridão-do-topo. Assim, os sintomas progridem inicialmente a partir de uma clorose na base das folhas mais novas e posterior amarelecimento sistêmico, seguido de murcha e podridão nas fases mais avançadas. As folhas apicais também podem apresentar enrugamento e torção pronunciados dependendo do grau de suscetibilidade das variedades e condições climáticas locais (WANG et al., 2017). À medida que ocorre a deposição dos esporos nas folhas na região do cartucho, ocorre a germinação e o fungo procura zonas novas, tecidos frágeis, além de invadirem os tecidos vasculares dos colmos imaturos (VISHWAKARMA et al., 2013).

A podridão-do-topo é capaz de causar reduções de 21 e 28% na produtividade e sólidos solúveis totais (Brix), respectivamente (WANG et al., 2017), podendo alcançar até 60% quando as variedades são susceptíveis e as condições ambientes são favoráveis ao fungo (GOSWAMI et al., 2013). No Brasil, alguns estudos já demonstraram a ocorrência da doença nos Estados do Piauí, Maranhão, Pernambuco, Alagoas e Minas Gerais (SILVEIRA et al., 2012; CARVALHO, 2017; COSTA, 2019). Dentre as várias espécies de *Fusarium* relatadas serem o agente etiológico da doença, *Fusarium sacchari* é a espécie prevalente (VISWANATHAN et al., 2017).

Em virtude de ser considerada uma doença emergente e, levando-se em conta que ela não se encontra totalmente disseminada e os relatos de ocorrência ainda não serem oficiais, no Brasil, ainda não existe genótipos comerciais resistentes à podridão-do-topo. No entanto, estratégias de melhoramento têm sido utilizadas para obtenção de resistência horizontal (de caráter poligênico) (NING; WANG, 2018), pois há dificuldades em controlar espécies de *Fusarium* por estratégias tradicionais, como aplicações de fungicidas sintéticos (ZHANG; JEYAKUMAR, 2018).

Nesse contexto, o presente estudo objetivou realizar um *screening* para resistência de genótipos de cana-de-açúcar à *Fusarium sacchari* e, posteriormente, avaliar o desenvolvimento da doença, em dois anos de cultivo, sob condições semi-controladas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Cana-de-açúcar: importância e aspectos gerais

A cana-de-açúcar é responsável por grande parte da produção mundial de açúcar e álcool, com significativa participação na balança comercial do Brasil (GARSMEUR et al., 2019). Cultivada em regiões tropicais e subtropicais (HUSSAIN et al., 2018), abrange em torno de 262 milhões de hectares distribuídos em mais de 90 países, com média de produtividade de 72,5 Mg ha⁻¹, sendo os maiores produtores mundiais o Brasil, Índia, China e Tailândia, respectivamente (FAO, 2018; SANTOS, BOREM, CALDAS, 2015).

A produção brasileira de açúcar e álcool, na safra 2019/20, alcançou 39 milhões de toneladas e 27 bilhões de litros de etanol, respectivamente. Desse montante, 55% da produção foi oriunda das áreas de cultivo no Estado de São Paulo (UNICA, 2020). No Piauí, segundo estimativas da CONAB (2020), a média de produtividade foi de

64,63 Mg ha⁻¹, em 20,1 mil hectares. Deste total, 50,2% da cana-de-açúcar colhida foi utilizada na produção de açúcar e 49,8% na produção de etanol, correspondendo a 83,1 mil toneladas de açúcar e 50,5 milhões de litros de etanol produzidos.

A cana-de-açúcar pertencente à família Poaceae (GARSMEUR et al., 2019) e por apresentar metabolismo fotossintético do tipo C₄, lhe é conferido maior crescimento em biomassa sob condições tropicais (NETO; GUERRA, 2019). As cultivares modernas de cana-de-açúcar são atualmente híbridos derivados de cruzamento interespecíficos entre *Saccharum officinarum* e *Saccharum spontaneum*. Como consequência evolutiva, seu genoma é considerado um dos mais complexos entre as culturas de expressão econômica devido ao alto nível de poliploidia e aneuploidia com tamanho do genoma estimado em 7.440 Mb, tornando mais difícil trabalhar, até certo ponto, com o melhoramento de algumas características mesmo com auxílio de biologia molecular moderna (THIRUGNANASAMBANDAM; HOANG; HENR, 2018).

Em termos de performance, os híbridos interespecíficos são oriundos de sucessivos retrocruzamentos que culminaram com a contribuição genômica de aproximadamente 80% da *S. officinarum*, de 10% para a *S. spontaneum* e ainda outros 10% como resultado da recombinação entre os dois genomas (D'HONT et al., 1996).

O Brasil é indiscutivelmente o principal produtor de cana-de-açúcar, cultivando uma área de aproximadamente 10 milhões de hectares, colhendo cerca de 746 milhões de toneladas, com produtividade média de 74,37 Mg ha⁻¹ (FAO, 2018; CRYSTIAN et al., 2018). Grande parte das variedades desenvolvidas no país provém da Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroenergético (RIDESA), onde suas variedades de Sigla RB são plantadas em 58,9% da área cultivada com cana no país, e doutra parte o Centro de Tecnologia Canavieira (CTC) com uma fatia menor. Estas representam os dois principais centros de desenvolvimentos de variedades de cana-de-açúcar no Brasil (CRYSTIAN et al., 2018).

2.2 *Fusarium* spp. e a podridão-do-topo

Fungos fitopatogênicos do gênero de *Fusarium* são considerados como um dos principais patógenos das culturas agrícolas, principalmente devido a ampla gama de

hospedeiros que conseguem infectar. Pertencem a divisão Ascomycota; classe Sordariomycetes; Ordem Hypocreales e família Nectriaceae (ZHANG; JEYAKUMAR, 2018). Há diversos estudos que demonstram a importância desse fungo como agente fitopatogênico (RANA; SAHGAL; JOHRI, 2017).

Dentro deste gênero, as espécies que causam a podridão-do-topo (ou Pokkah Boeng - na origem do termo javanês) em cana-de-açúcar, foi motivo de diversos estudos por ser considerada uma doença emergente nas grandes regiões produtoras, e com potencial de devastação gigantesco à cultura em médio-longo prazo (VISWANATHAN, 2017; VISWANATHAN, 2018; VISWANATHAN, 2020). Em termos epidemiológicos, os principais sintomas visuais da doença consistem em deformações na parte aérea e colmo da planta, enrolamento das folhas mais novas e mudanças morfológicas no cartucho, porém ainda não há relatos da doença no Brasil causando perdas significativas nas áreas de cultivo (COSTA et al., 2019; VISWANATHAN, 2020). Ademais, os sintomas são de fácil reconhecimento, uma vez que se nota deformações no topo e as folhas mais jovens tornam-se cloróticas. A morte celular do hospedeiro é desencadeada em condições severas propiciadas pela manutenção das condições do ambiente (JEYAKUMAR; ZHANG, 2020).

Nos últimos anos a podridão-do-topo tem se espalhado e se tornado séria ameaça às regiões produtoras de cana-de-açúcar e esse avanço é proporcionado em função do monocultivo desta cultura por seguidos anos (PORIKA et al., 2020). A doença apresenta transmissão majoritariamente pelo ar, todavia de forma secundária pode ser transmitida às plantas por sementes infectadas, implementos agrícolas, irrigação e solo. Quando as variedades de cana são suscetíveis, as perdas associadas à doença podem chegar a 60% (KARUPPAIYAN et al., 2015). A doença é causada tanto por conídios quanto pelos ascósporos (ZHANG; JEYAKUMAR, 2018), comumente nos períodos úmidos em que se tornam propícios ao desenvolvimento da doença. Não obstante, a planta pode se recuperar e, em contrapartida, ter a produtividade pouco afetada em alguns casos (JEYAKUMAR; ZHANG, 2020).

De forma peculiar, na literatura é citada a ocorrência de diferentes espécies de *Fusarium* relacionados à podridão-do-topo, entre elas as mais comuns são *Fusarium sacchari*, *F. verticillioides* e *F. proliferatum*, destacando o primeiro o mais prevalente (WANG et al., 2017). Existe um complexo de *Fusarium* (ZHANG; JEYAKUMAR (2018), mais precisamente denominado *Fusarium fujikuroi* Species Complex (FFSC) (COSTA et al., 2019). Dentre as principais espécies relatadas na literatura, dentro do

complexo, estão *F. sacchari* e *F. andiyasi*, sendo a este primeiro atribuído também, além da podridão-do-topo, ainda murcha da cana-de-açúcar (VISWANATHAN et al., 2017) e mais recente foi feito o primeiro relato de *F. sacchari* relacionando a podridão vermelha em cana-de-açúcar no Brasil, além de ter sido mencionada outras espécies como *F. madaense* e *F. proliferatum* (COSTA et al., 2021). O complexo FFSC por sua vez, além de algumas espécies serem agentes causadores da podridão-do-topo, também causam doenças em outras gramíneas (ABD MURAD et al., 2017).

A esse respeito, pode-se citar exemplos da presença do patógeno em gramíneas como importantes como milho (SZÉCSI et al., 2013), trigo e cevada (LOFGREN et al., 2018), sorgo e milheto (VISMER et al. 2019) o que demonstra o grande potencial e importância de espécies desse complexo dentro de um contexto de segurança alimentar.

2.3 Aspectos genéticos da resistência horizontal

De forma geral, e como regra, as plantas são imunes a vasta maioria dos microrganismos patogênicos e susceptíveis a uma pequena parcela. Elas empregam, entre outros, mecanismos de resistência não-hospedeira (RNH) conferindo uma defesa robusta, duradoura e de amplo espectro (SULTAN et al., 2019). Van der Plank (1968) foi quem primeiro caracterizou esse tipo de resistência e a definiu como resistência horizontal (RH) de acordo com a especificidade da interação patógeno-hospedeiro, caracterizando-a como de natureza mais durável e herdada poligenicamente (PLANK, 1968).

A resistência não-hospedeira, geral, ou ainda resistência horizontal (RH) é a mais poderosa e durável abordagem no controle de doenças de plantas devido, principalmente, ser efetiva contra todas as raças de um patógeno e possuir caráter poligênico. Apesar de grandes avanços científicos na área, os mecanismos genéticos por trás desse tipo de resistência ainda é objeto de intensos estudos em décadas (LEE et al., 2017). Em virtude dos benefícios desejáveis com vistas a proteção de cultivos, este tipo de resistência vem ganhando interesse particular (PINOSA et al., 2013). Existe uma hipótese recente da RH na qual a associa como uma multicamada de proteção de calose, compostos de lignina, bem como peróxido de hidrogênio presentes na primeira camada da parede celular e um componente oxidativo que leva a morte celular em uma segunda camada quando do ataque de patógenos

(ZELLERHOFF et al., 2010).

O papel de efetores moleculares em RH foram estudados em plantas, sendo relatado que os componentes que auxiliam na resposta são comandados por Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs) que estão intimamente relacionadas com PRRs (Pattern-Recognition Receptors) localizadas na superfície da célula hospedeira que, em sequência, ativam PTI (Pattern-Triggered Immunity) (DALLAGNOL; FILHO, 2018; SAIJO; LOO; YASUDA, 2018; LEE et al., 2015; FRESCATADA-ROSA et al., 2015).

Estudos da interação entre espécies de fusários (*F. solani* f. sp. *Pisi* e *F. solani* f. sp. *phaseoli*) e ervilha foram realizados para observar aspectos funcionais da interação não-hospedeira em níveis citológico, bioquímico e molecular. Os autores relatam que a camada de cutícula foi o fator que possibilitou o desenvolvimento da doença, além de todos os processos associados na interação como fitoalexinas, genes relacionados a patogêneses (PR), enzimas secundárias, mudanças na cromatina, bem como alterações de ordem citológicas foram observadas (HADWIGER, 2008; ZELLERHOFF et al., 2010; ROJAS et al., 2012).

A barreira formada, principalmente, por parede celular e cutícula é a primeira linha de defesa pré-invasiva que as plantas possuem para se proteger de infecção e se mostra como um atributo de resistência não-hospedeira (RNH) (LEE et al., 2017). Os fitopatógenos que não são específicos a um determinado hospedeiro, devido essas barreiras pré-formadas, falham em infectá-lo (PINOSA et al., 2013).

2.4 Doenças de planta e interação com os fatores ambientais

Já é sabido pela comunidade científica que os diversos fatores ambientais desempenham papel crucial na expressão das doenças em plantas (POKHREL, 2021). Esse fato é baseado no conceito fitopatológico do “triângulo da doença” proposto por Gaümann em 1946, onde se destaca a influência recíproca de patógenos e plantas com o meio ambiente. Assim, para que uma doença se manifeste é necessário que o hospedeiro seja suscetível, o patógeno virulento e as condições ambientes favoráveis à infecção do patógeno (GAÜMANN, 1946). Nesta inter-relação o ambiente é o principal componente na distribuição espacial das doenças, possibilitando impedir a doença mesmo na presença do hospedeiro suscetível e patógeno virulento (VELÁSQUEZ; CASTROVERDE; SY, 2018).

Diversas variáveis ambientais estudados sob o véu da fitopatologia, como temperatura, umidade relativa, luz, disponibilidade de água, velocidade do vento, radiação, concentração de CO₂ e metano podem ter resultados favoráveis, neutros ou negativos para a doença, considerando que patógenos e plantas apresentam suas próprias condições ambientais favoráveis ao crescimento e desenvolvimento (HUA, 2013, VELÁSQUEZ; CASTROVERDE; SY, 2018). Dentre estas variáveis climáticas do ambiente, a temperatura e umidade são mais estudados devido sua interação com doenças de plantas (THO et al., 2019). Em especial, a temperatura afeta o crescimento e desenvolvimento do fungo e se torna a variável determinante para favorecer a ocorrência e desenvolvimento das doenças (COLHOUN, 1997).

Uma característica importante afetada pela temperatura se relaciona aos aspectos visuais dos sintomas onde, por exemplo, o vírus do nanismo amarelo em cevada apresenta sintomas mais precoces quando submetido a temperaturas mais elevadas (10-21 °C) em comparação às temperaturas amenas (5-16 °C) (NANCARROW, 2014). No entanto, estudo em outro local, este patógeno apresentou sintomas em temperaturas de 16 °C, enquanto que o sintoma ficou mascarado quando a temperatura alcançou os 32 °C (GILL; WESTDAL, 1996). Esse fator ambiental influencia fatores importante da patogênese, uma vez que afeta germinação dos esporos, taxa de produção de inoculo e crescimento das hifas (MOORE; SIX, 2015).

A umidade também desempenha importante papel na ocorrência da doença e, conseqüentemente, expressão visual dos sintomas. Ela está envolvida diretamente nos fatores que desencadeiam o progresso da doença, por alterar o processo de infecção, germinação dos esporos e disseminação (LI; UDDIN; KAMINSKI, 2014). Alta umidade (> 80%) é benéfica à infecção de partes aéreas de plantas para muitas doenças (RODRIGUEZ-SALAMANCA; NAEGELE; QUESADA-OCAMPO, 2018), pois favorece a infecção, sendo que na maioria das doenças fúngicas a umidade foliar (período de tempo em que a folha possui água na sua superfície) se torna crítica para o surgimento da doença. Por exemplo, a *Pseudoperonospora cubensis* em pepino precisa de um período mínimo de 4 horas para o processo de infecção ocorrer (SUN et al., 2017). Altas umidades influencia inclusive o nível de resistência, doenças causadas por *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum* tiveram sua invasão em maçã prejudicada por modificar as lenticelas (COLHOUN, 1962).

Um ensaio para demonstrar o efeito dessa variável no desenvolvimento do fungo *Magnaporthe oryzae* foi realizado, sendo inicialmente definida a umidade $\geq 92\%$

e temperatura 28 °C como ideais para o desenvolvimento do fungo. Quando a umidade, utilizando-se câmaras controlada, foi reduzida para 88% e o fungo incubado, não houve formação de apressório. A presença de conídios só foi observada com umidade relativa $\geq 92\%$ (LI; UDDIN; KAMINSKI, 2014). Esse fator ambiental afetou também o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* sp. *radicis-lycopersici*, mostrando que temperaturas de 20-30 °C favorecem seu crescimento (HIBAR et al., 2006).

Abordando alguns aspectos de condições ambientais favoráveis às espécies de *Fusarium*, alguns estudos demonstram que temperaturas entre 20-30 °C e umidade relativas entre 75-85% são condições ótimas ao desenvolvimento dos fungos destas espécies (ANURADHA et al., 2018). Outro estudo avaliando o crescimento de estirpes de *Fusarium* em meio de cultura sob diferentes temperaturas, verificou-se que o crescimento severo foi observado com temperaturas de 20 a 32 °C e umidades relativas de 70 a 80% (KUMAR et al., 2011). Ranjan et al. (2018) relatam que temperaturas amenas associadas à umidades relativas do ar e pluviosidade elevada são condições “*sine qua non*” que favorecem o desenvolvimento da podridão-do-topo (RANJAN et al., 2018).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois ensaios experimentais em condições semi-controladas de uma estufa agrícola do Programa de Melhoramento Genético da Cana-de-Açúcar (PMGCA) da Universidade Federal do Piauí, em Teresina-PI, Brasil. A altitude local é de 72 m, apresentando latitude de 5°02'34" S de latitude e longitude de 42°47'01" O.

O primeiro ensaio foi conduzido no período de 06 de junho à 17 de outubro de 2020, visando o *screening* para resistência à *F. sacchari* de genótipos de cana-de-açúcar. O segundo ensaio foi implantado no período de outono-inverno (01 de maio à 19 de agosto de 2021) com base na triagem resultante do ensaio inicial, definindo-se os genótipos contrastantes para resistência e suscetibilidade à *F. sacchari*, agente etiológico da podridão-do-topo em cana-de-açúcar.

Os registros das médias de temperatura (máxima, média e mínima) e de umidade relativa do ar foram realizados diariamente, durante o período dos ensaios, com base nas leituras registradas por um termo-higrômetro instalado dentro da estufa

agrícola.

3.1 Ensaio I - *Screening* para resistência à *Fusarium sacchari* em genótipos de cana-de-açúcar

Foi realizado um *screening* em 16 genótipos de cana-de-açúcar (Tabela 1) visando a identificar genótipos resistentes e suscetíveis à podridão-do-topo causada por *F. sacchari*. O experimento foi conduzido no delineamento de blocos casualizados com 32 tratamentos e quatro repetições, sendo os tratamentos representados pelos genótipos de cana-de-açúcar submetidos à inoculação foliar com suspensão de conídios de *F. sacchari*, e as plantas testemunhas dos respectivos genótipos receberam, na região meristemática, apenas água esterilizada.

Tabela 1. Relação dos genótipos de cana-de-açúcar, e respectivas codificações, utilizados no *screening* para resistência à podridão-do-topo causada por *F. sacchari*

Código	Genótipo	Código	Genótipo
G01	RB04803	G09	RB05876
G02	RB015935	G10	RB863129
G03	RB867515	G11	RB021754
G04	RB0449	G12	RB041443
G05	RB975952	G13	RB0442
G06	RB05642	G14	RB036066
G07	SP933094	G15	RB977540
G08	RB027040	G16	RB92579

Previamente à implantação do ensaio, amostras de solo foram coletadas na área do PMGCA/UFPI e encaminhadas para às análises químicas visando verificar a fertilidade e a necessidade de correção, obtendo os seguintes parâmetros: pH (H₂O): 5,88; P: 0,59 mg dm⁻³; Ca: 1,33 cmolc dm⁻³; Mg: 0,78 cmolc dm⁻³; K: 0,03 cmolc dm⁻³; Al: 0,15 cmolc dm⁻³; H + Al: 1,13 cmolc dm⁻³; soma de bases: 2,14 cmolc dm⁻³; CTC: 3,17 cmolc dm⁻³; saturação por base: 67,55%.

O ensaio foi implantado em vasos de polietileno com capacidade de 3,5 L, contendo rebolos, de aproximadamente 6 cm de comprimento, com 1 (uma) gema viável. Os rebolos foram tratados com Trifloxistrobina[®] a 10% da formulação comercial e, em seguida, semeados a 2 cm de profundidade de forma a deixar apenas um rebolo

por vaso. A adubação de base foi realizada com 150 mg dm⁻³ de nitrogênio (N), fósforo (P) e potássio (K), utilizando-se como fonte o sulfato de amônio, superfosfato simples e cloreto de potássio, respectivamente.

Para o preparo da suspensão de esporos, o fungo foi cultivado em meio de cultura do tipo Batata-Dextrose-Ágar (B.D.A) e incubado em B.O.D com fotoperíodo de 12 h e temperatura de 25 ± 2 °C por 7 dias. Aos 90 dias após o plantio, à exceção das testemunhas representando cada um dos genótipos inoculados apenas com água estéril, as plantas foram inoculadas com suspensão de esporos de *F. sacchari* na concentração de 1,0 x 10⁶ na altura do cartucho, com o auxílio de uma seringa estéril de insulina 1mL (100UI) com agulha fixa do tipo 8, adaptado conforme protocolo de Wang et al. (2017). As plantas testemunhas receberam apenas água estéril. Em cada planta foi aplicado 100 µL de suspensão. O isolado COUFPI 65, previamente identificado por Carvalho et al. (2017), utilizado neste ensaio encontra-se preservado na Coleção de Fungos Fitopatogênicos do Laboratório de Fitopatologia do Departamento de Fitotecnia/CCA-UFPI.

A avaliação foi realizada aos 30 dias após a inoculação, utilizando-se uma escala diagramática para classificação dos genótipos quanto a resistência e suscetibilidade descrita por WANG et al. (2016). De acordo com estes autores, os índices de severidade da doença (ISD) varia de zero (0) a cinco (5), sendo estabelecido as referidas notas da seguinte forma: nota 0 - Altamente resistente (AR), como sendo definido os com ISD ≤ 1,0; nota 1 - Resistente (R), com ISD de 1,1 a 5,0; nota 2 - moderadamente resistente (MR), com ISD de 5,1 a 10,0; nota 3 - moderadamente susceptível (MS), com ISD entre 10,1 a 15,0; nota 4- susceptível (S) com ISD entre 15,1 e 20,0; e nota 5 - altamente susceptível (AS), considerando ISD ≥ 20,1.

O ISD foi obtido conforme a fórmula $ISD = \sum (n_i \times v_i) / N \times 100\%$, onde, n se refere ao número de colmos avaliados com nota, v é a nota, e N é o número total de canas observadas. As avaliações foram efetuadas aos 14, 21 e 30 dias após a inoculação, sendo escolhido o intervalo com melhor representatividade quanto ao desenvolvimento da doença.

3.2 Ensaio II – Ensaio de validação dos genótipos contrastantes

Para a validação da sintomatologia e expressão da doença obtida no primeiro

ensaio contendo os 16 clones, oito genótipos contrastantes escolhidos com base nos quatro menores e quatro maiores índices de severidade da doença (ISD), foram submetidos à nova avaliação no período de maio a agosto de 2021. O segundo ensaio tinha por intuito testar se os clones expressariam a doença com a mesma magnitude que as observadas no primeiro ensaio, visando validar o comportamento quanto a suscetibilidade e resistência a podridão-do-topo.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 *Screening* inicial para seleção de clones contrastantes

Após o *screening* inicial, foi constatado que nenhum dos materiais foi considerado suscetível. Ambos ficaram na faixa entre resistente e altamente resistente. Dentre estes, baseados no ISD, foi possível identificar e selecionar oito clones com níveis de resistência diferentes quanto a resistência a *F. sacchari*, isto é, quatro com maiores ISD, portanto apresentando menor nível de resistência (RB04803, RB975952, RB041443, RB036066) e quatro apresentando maiores níveis de resistência (RB867515, RB0449, RB05876, RB021754) com ISD zero e 0,25 para o RB0449 (Tabela 2). O diagnóstico, de acordo com a escala proposta por Wang et al. (2016) levou-se em conta os ISD (índice de severidade da doença) após 30 dias de realizada a inoculação na região meristemáticas das folhas dos genótipos.

Tabela 2 - Genótipos de cana-de-açúcar selecionados no primeiro experimento com base no índice de severidade da doença (ISD)

Genótipo	ISD	Categoria	Genótipo	ISD	Categoria
RB04803	1,75**	R	RB05876	0,00	AR*
RB015935	1,75	R	RB863129	0,75	AR
RB867515	0,00*	AR	RB021754	0,00	AR*
RB0449	0,25*	AR	RB041443	1,25	R**
RB975952	2,50**	R	RB0442	GP	-
RB05642	0,67	AR	RB036066	1,25	R**
SP933094	1,33	R	RB977540	0,50	AR
RB027040	0,33	AR	RB92579	0,33	AR

*Genótipos selecionados com maior nível de resistência; ** Genótipos selecionados com menores níveis de resistência; GP (genótipo perdido).

Os sintomas foliares da podridão-do-topo se apresentaram mais evidentes aos 14 dias após inoculação (DAI). Após 48h da inoculação, pequenos halos necróticos foram observados no ponto de inóculo (Figura 1A-E) e sintomas iniciais típicos da fase clorótica da doença como, por exemplo, a base foliar central clorótica, bem como enrolamento e enrugamento foliar foram observados. Costa et al. (2019) relatam sintomas semelhantes observados após realizada a inoculação, sendo verificado a presença de listas negras avermelhadas, clorose e necroses nos pontos onde foram realizados os inóculos, bem como enrolamento e redução da área foliar, podridão-do-topo e do colmo.

É possível observar (Figura 1G-H) que os sintomas progrediram para lesões na forma de lentes e estrias avermelhadas na nervura central da folha. Em sintomas mais avançados, aos 14 dias após a inoculação, as folhas centrais ficaram com danos por todo o limbo foliar, apresentando fissuras e lesões no tecido foliar. Neste ponto, vale enfatizar os estágios anteriores às lesões do limbo. A partir dos pontos necrosados partem cordões de infecção, tanto em posições ascendentes quanto descendente. Ao se dirigir às zonas de crescimento, o fungo causa danos que chegam à morte da parte aérea. Assim, conforme pode ser observado na Figura 1H, I quando o avanço da doença culmina na morte da folha central de algumas plantas, conforme ocorrido no G10.

Os sintomas observados no presente estudo são bastante comuns em condições propícias ao desenvolvimento do fungo (ZHANG; JEYAKUMAR, 2018), ou seja, com temperaturas variando de 20-30 °C e umidade relativa do ar em torno de 75 a 85% (ANURADHA et al., 2018), muito embora nossas condições de estudo esta variável não ter sido satisfeita. Isso pode explicar, em parte, a observação de sintomas mais agressivos em plantas isoladas.

Devemos pontuar que, embora a nebulização por meio de sprinklers fosse realizada a cada duas horas, essas condições não eram mantidas de forma contínua, isso pode ser mais um fator que contribuiu de forma negativa a não homogeneidade dos sintomas em todas as plantas. O ataque em partes do topo da planta é observado primeiramente na base das folhas mais novas que se tornam clorótica, ao passo que ataques mais severos mostra o topo deformado e, inclusive, chegando até ao colmo, assim como demonstrado (Figura 1J, L) quando as variedades são consideradas suscetíveis. Enfatiza-se também que as lesões em forma de escada (*Ladder-like*) nas

folhas, frequentemente com extremidades negras, rompem-se dilacerando a folha e segue na direção descendente pelo cartucho, chegando até a parte terminal que culmina com a podridão-do-topo.

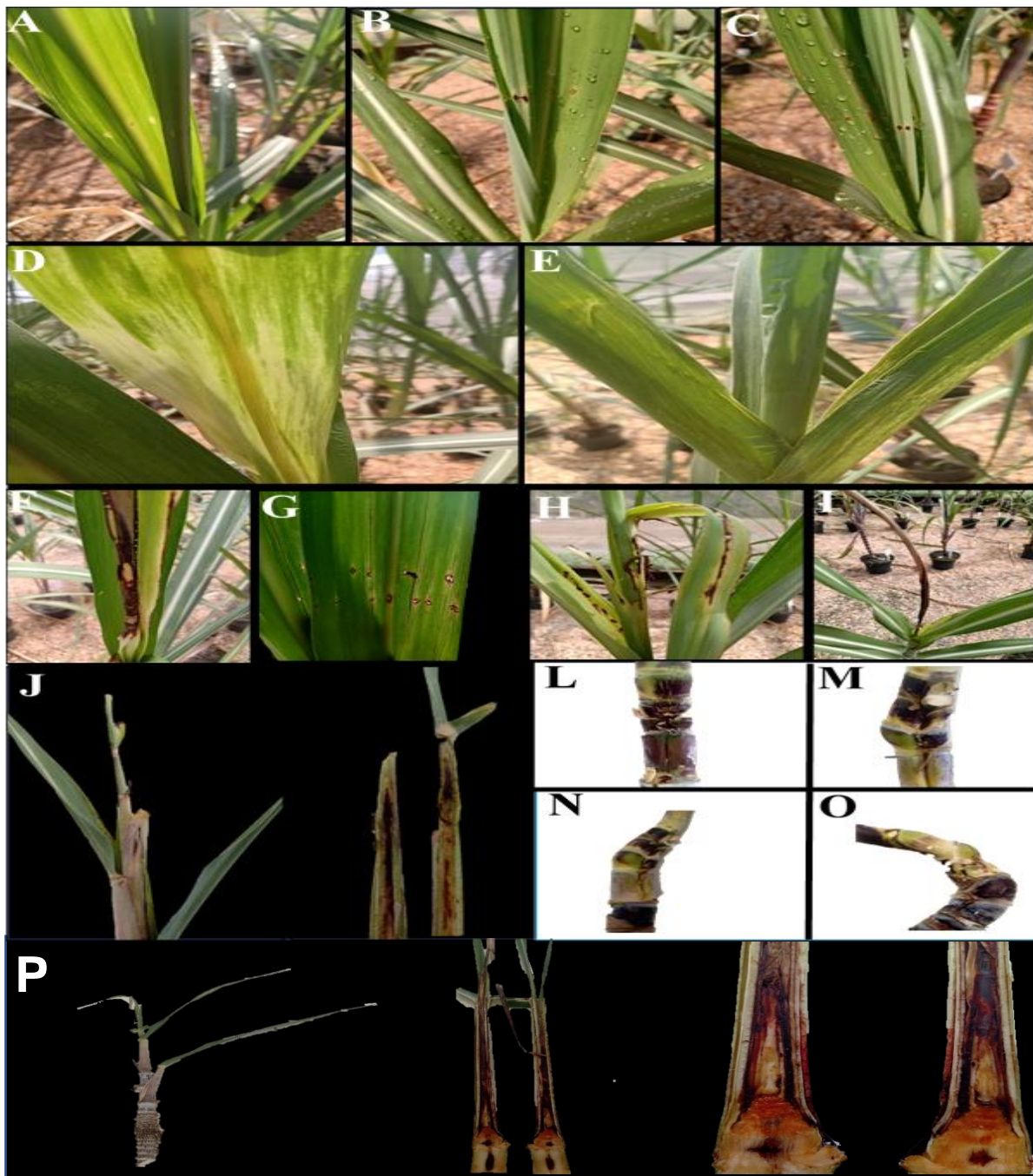


Figura 1 - Estágios da podridão-do-topo ao longo da condução do experimento. A-E: sintomas iniciais para os genótipos G15, G7 e G16; base clorótica e enrugamento com leve torção para G7 e G5, respectivos, F-I: morte da folha central do G10, G-H: progressão até a dilaceração da lâmina foliar, J: vista externa e corte transversal de G10, L-M: knife-cut para G03 E G05, N-O: knife-cut com colmos retorcidos para G05, P:corte transversal G12.

Vários aspectos devem ser mencionados a este respeito no que concerne aos sintomas iniciais observados ao longo do experimento e a seleção quanto aos níveis de resistência. Apesar de algumas categorias apresentarem mesmo LSD, o critério de escolha, como exemplo, entre G1 e G2, foi a observação de algumas plantas com sintomas mais severos e que, portanto, possuíam uma ligeira vantagem.

Na Figura 1J, os sintomas visualizados após o corte em transversal de algumas plantas podem ser observados. Pode ser notado intensa necrose nos vasos do xilema e provável morte da gema apical. A lesão progride em direção descendente com menor grau. É possível observar também a descoloração avermelhada nos tecidos internos causadas por isolados de *F. proliferatum* e *F. subglutinans* (KHANI et al., 2013). Além da morte, os danos causados nos colmos e tecidos, a infecção aparentemente é sistêmica, similar ao presente ensaio (VISWANATHAN et al., 2017).

Algo bastante importante deve ser salientado com relação aos sintomas externos, diagnose foliar, e a observância da severidade dentro da planta. Muitas das vezes, apesar de visualmente a planta não exibir sintomas severos na parte externa, o mesmo não ocorre quando se faz o corte dos colmos e observa o tecido interno. O que torna essa escala por vezes não condizente com a verdadeira natureza da resistência à primeira vista. Na Figura 1P é possível observar que apesar de aparentemente o fungo não ter causado sintomas severos externamente, dentro do colmo a severidade pode ser maior.

Os danos conhecidos por corte de faca (tradução livre do inglês *knife-cut*) mostram (Figura 1L-O) o potencial de perdas que podem ser atingidos, em termos produtivos, que é provocado em casos agudos da severidade da podridão-do-topo. Apesar do G3 ter sido considerado altamente resistente, uma planta apresentou sintomas considerados distintos das demais (Figura 1L). O mesmo acontece com o G5 na figura 3M, mais uma vez cabe salientar que esse fator extremo pode ter sido causado por variações inerentes a forma de inoculação.

Os sintomas de topo malformado nos colmos são bastante peculiares e comuns à doença e foi primeiro relatado por Edgerton (1955), e posteriormente por Martin et al. (1961). Já a lesão conhecida como *knife-cut* é considerada uma das mais severas dentro das fases agudas da doença. Há menção a existência de quatro diferentes fases, sendo elas: clorótica, aguda, *knife-cut* e podridão-do-topo (VISWANATHAN et al., 2017). O que demonstra o potencial dessa doença quando

em condições propícias, embora tenham sido registrados aqui em plantas isoladas. Govender et al. (2010) também registaram características semelhantes no colmo causada por uma distorção, assim como as apresentadas (Figura 1L-O) em nosso estudo. Essa característica é causada por fitormônios liberados em resposta ao ataque do fungo, que tenta desencadear uma resposta através da liberação de etileno e sobretudo auxinas, principal reguladora do crescimento e desenvolvimento das plantas. Todavia possui também um importante papel na interação patógeno-planta (DI; TAKKEN; TINTOR, 2016; ZAMIOUDIS et al., 2013). Além da indução à produção dos fitormônios mencionados em resposta ao ataque, é relatado que espécies do complexo FFC como o *F. mangiferae* e *F. proliferatum* causa deformação em mangueiras pela liberação de giberelinas e auxinas, em acordo, portanto, com a exposição supramencionada (NIEHAUS et al., 2016).

4.2 Condições ambientais e desenvolvimento da podridão-do-topo

Sob circunstâncias de campo, as condições ideais para *F. sacchari* desenvolver sua máxima expressão são temperaturas alcançando 20-30 °C e umidade relativa do ar de 75 a 85% (ANURADHA et al., 2018). As características no que tange a podridão-do-topo são bastante variadas sob estas condições e podem divergir das lesões gerais observadas, porém como regra o resultado final é a deformação e morte do topo e colmo (VISHWAKARMA et al., 2013). Isso pode ser confirmada facilmente em campo nos períodos de grande precipitação e temperaturas amenas.

Na usina da qual é oriundo o material utilizado nessa pesquisa, é possível observar sintomas típicos da podridão-do-topo em plantas nos meses de dezembro a março quando as condições de umidade (período chuvoso) são favoráveis ao desenvolvimento da doença. Em contrapartida, o mesmo não é observado quando se visita o campo nos períodos secos de junho a novembro, uma vez que o clima se caracteriza pelas altas temperaturas associadas à baixas umidades relativas do ar. Isso não significa que a doença não esteja ali presente, mas encontra-se em período de latência, sendo, portanto, uma fonte passiva de inóculo. E isso retrata bem os resultados, isto é, a não expressão da doença sob as condições ambientes destes estudos, mesmo com o patógeno detectado por meio dos postulados de Koch realizado ao término do experimento.

De fato, as doenças de plantas são profundamente influenciadas pelas condições ambientais as quais estas são submetidas, mesmo um fitopatógeno virulento não consegue infectar um hospedeiro suscetível quando as condições são, até certo grau, desfavoráveis a este (VELÁSQUEZ; CASTROVERDE; SY, 2018). Não existe interação isolada entre patógeno e hospedeiro. A premissa bastante difundida pelo meio científico relacionado ao “triângulo da doença” exemplifica as condições necessárias a expressão de uma doença qualquer. Para a doença ocorrer um patógeno virulento, um hospedeiro suscetível e condições ambientais propícias são requeridas. A inexistência de condições favoráveis para qualquer um desses fatores culmina com a falha em causar doença (AGRIOS, 2005; STEVENS, 1960).

De forma geral, a temperatura é um fator de extrema importância para o desenvolvimento da doença e distribuição de um patógeno, uma vez que seu desenvolvimento como esporulação e crescimento são máximas em condições que alcançam de 20-30 °C tanto em *in vivo* quanto *in vitro*. Nesse sentido, temperaturas consideradas mínimas, ótimas e máximas para o crescimento de espécies de *Fusarium* são 10-15°C, 30°C e 35-40°C, de forma respectiva. A forma severa da doença ocorre entre 20-32 °C e umidade relativa de 70-80% (VISHWAKARMA et al., 2013), dentro disso as melhores condições para o crescimento de espécies de *Fusarium* são aquelas de 20-30 °C e umidade 75-85% (KUMAR et al., 2011).

Em nosso estudo, devido as condições intrínsecas do semiárido brasileiro na maior parte do ano, em especial as condições do Meio-Norte do Brasil, mais especificamente em Teresina, notam-se que as médias de temperatura (Figura 2) aqui relatadas estão acima das consideradas ótimas para o fungo (20-30 °C). Nos meses de junho e julho não diferem muito, apresentando pouca variação no que se refere a temperatura média. Entretanto, no mês de agosto é observado médias de temperatura acima aos meses anteriores, alcançando temperaturas máximas próximas dos 40 °C. Assim, levando-se em conta as condições ideais abordadas (20-30 °C e umidade entre 75-85%), não há possibilidade do fungo expressar a doença nessas condições. Vale ressaltar que a umidade relativa no mesmo período ficou abaixo de 25%, comprometendo o desenvolvimento de espécies de *Fusarium* relacionadas à podridão-do-topo.

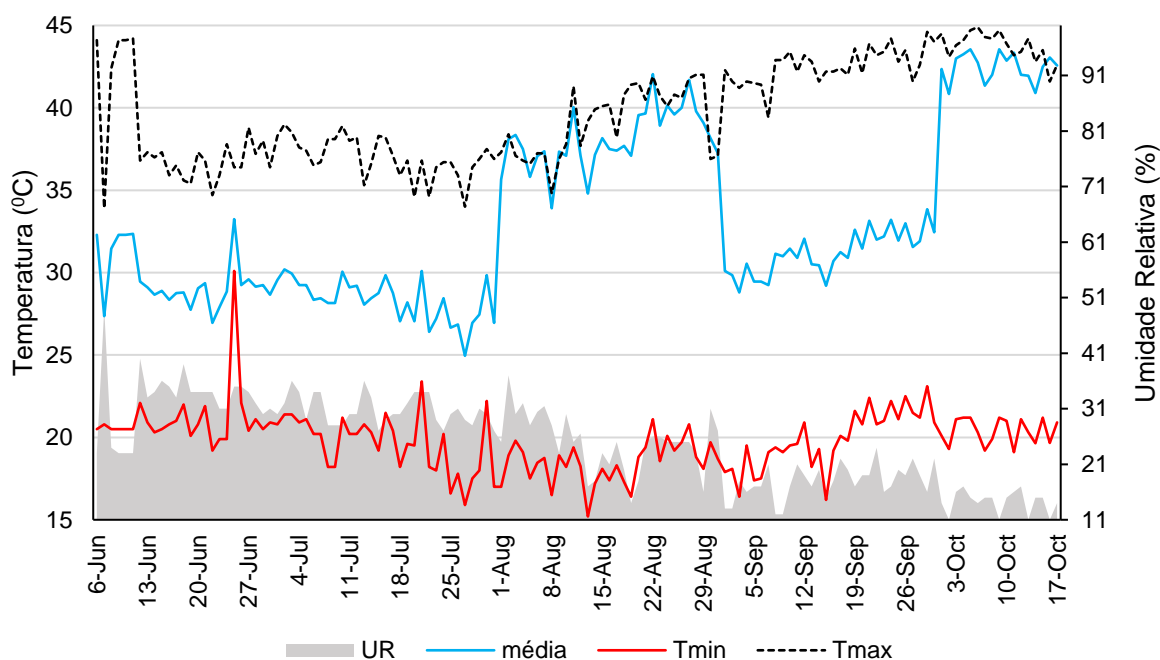


Figura 2 – Dados de temperaturas médias, mínimas, máximas e umidade relativa mínima (eixo secundário) durante os meses de condução do ensaio em 2020.

4.3 Ensaio II – Ensaio de validação dos genótipos contrastantes

As condições ambientais do segundo ensaio (Figura 3) demonstram que a variação da temperatura média até o final de julho é decrescente. Comportamento similar é observado para a umidade relativa do ar, que permanece reduzindo até 19 de agosto. Por outro lado, a temperatura média a partir de agosto começa a se elevar abruptamente, alcançando até o final do ensaio média de temperatura próximo aos 40 graus. Levando em conta que esse período era crítico, tendo em vista que era o estágio pós-inoculação, esse aumento repentino foi preponderante para inviabilizar a manifestação da doença. Outro agravante, é que a umidade relativa registrada em agosto foi a mais baixa para todo o período de condução do experimento, chegando a 16% na primeira semana de agosto. Tais condições podem ter sido essencial para explicar a não expressão da doença.

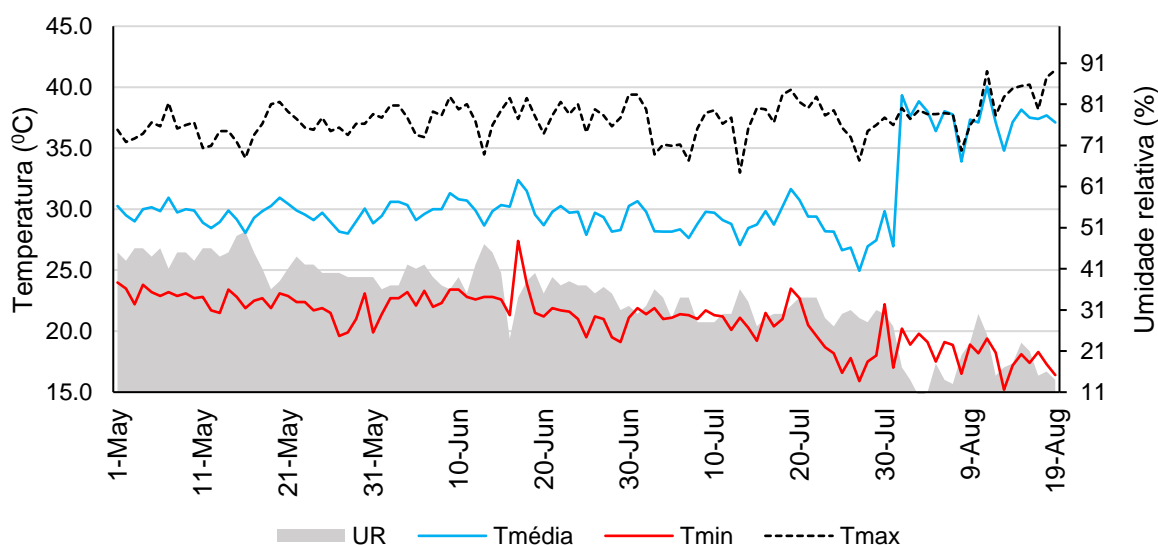


Figura 3 – Dados de temperaturas médias, mínimas, máximas e umidade relativa mínima (eixo secundário) para os meses de condução do ensaio em 2021.

Durante o período entre a inoculação e avaliação dos sintomas (final do mês de julho até a primeira quinzena do mês de agosto) as máximas de temperatura atingiram médias que variaram de 37 a 40 °C. Observa-se que são temperaturas que se encontram dentro das faixas máximas de tolerância do *Fusarium* sp (MOHSEN; JANABI; JEBOR, 2016), já demonstrado que para *F. mangiferae* as condições limites de temperatura encontram-se nas faixas de 20-30 °C e umidade relativa de 60-65%. Por outro lado, nenhum desenvolvimento foi observado para temperaturas acima de 40°C (NAGARAJA et al., 2011; VISHWAKARMA et al., 2013), valendo ressaltar que as condições ideais de 20-30 °C e umidade relativa acima de 75% relatados em outros estudos (KUMAR et al., 2011). Isto pode ser observado na Figura 4, onde após realizada a inoculação nas plantas de cana-de-açúcar os sintomas iniciais apareceram isoladamente, porém sem haver progressão da doença. Após 20 dias da inoculação do fungo, plantas que aos 14 dias exibiam sintoma inicial da doença, conseguiram se recuperar totalmente.

Como observado na Figura 4, algumas plantas, assim como ocorreu no primeiro experimento, apresentaram algum nível de expressão da doença. Entretanto, em virtude das condições de elevada temperatura e baixa umidade relativa do ar (Figura 3), a progressão dos sintomas foi suprimida.

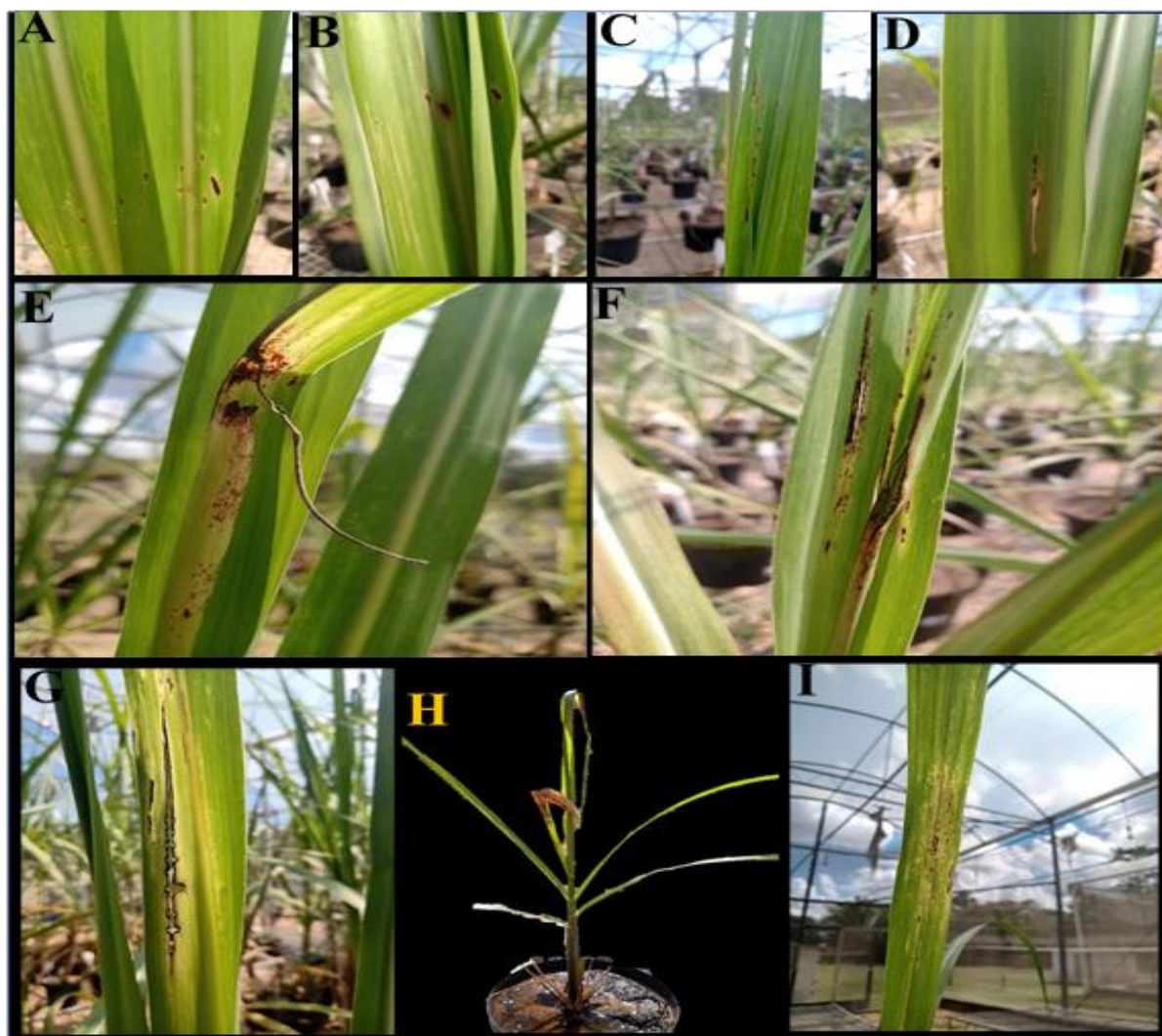


Figura 4 – Estágio iniciais e final dos genótipos selecionados na primeira fase e submetidos a um novo experimento nas mesmas condições no ano seguinte. Em A-D em respectivos: genótipos G12, G11, G09, G05 com sintomas iniciais aos 14 dias, E -G, sintomas aos 21: G12, G14, H e I:G12, G04, G05.

Avaliando índices de severidade da ramulose em algodão, Monteiro et al. (2009) observaram que o gradiente de temperatura e umidade apresentaram estreita relação com os ISD, considerando as faixas ideais destes fatores ao fungo. Em estudo conduzido por Vloutoglou e Kalogerakis (2000), relacionando horas de molhamento foliar com a severidade de progressão da pinta-preta em tomateiros, ficou demonstrado a influência do tempo de molhamento foliar com a severidade da doença. Assim, a não expressão de *F. sacchari* no presente estudo é justificada pelas condições ambientais não adequadas ao crescimento do fungo. Na Figura 4H pode ser observa a única planta que apresentou sintomas de podridão-do-topo. Os genótipos das Figuras E e F, embora tenham expressados alguma severidade em

dado momento, aos poucos a progressão da doença não evoluiu.

É preciso pontuar que o tipo de inoculação usado, talvez não seja o mais adequado para avaliações com plantas mais velhas devido ao crescimento muito acelerado da parte aérea, a lignificação dos tecidos e com isso o ponto de inóculo (feito no cartucho) rapidamente se afasta da zona do ponto de crescimento. À medida que folha expande os sintomas ficam localizados nos extremos do limbo foliar sem progressão, caso as condições ambientais desfavoráveis (20-30 °C e UR de 75-80%) sejam mantidas.

5 CONCLUSÃO

A expressão da podridão-do-topo não evolui quando o agente etiológico é inoculado em plantas de cana-de-açúcar nas condições ambientes descritas neste estudo.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABD MURAD, N. B. Genetic diversity and pathogenicity of *Fusarium* species associated with fruit rot disease in banana across Peninsular Malaysia. **Journal of Applied Microbiology**, v. 123, n. 6, p. 1533-1546, 2017.

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. San Diego: Academic Press. 5 ed. 2005. 922 p

ANURADHA et al. Incidence of pokkah boeng disease on sugarcane clones and varieties in Punjab. **Agriculture Research Journal**, v. 55, n. 4, p. 754-756, 2018.

CARVALHO, M. R. V. Compatibilidade sexual de populações de *Fusarium sacchari* espécies de *Fusarium* envolvidas na podridão do topo em cana-de-açúcar. 2017. 67p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Piauí, Teresina – PI, 2017.

COLHOUN, J. Effects of environmental factors on plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, v. 11, n. 1, p. 343-364, 1973.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar. **Boletim Técnico Conab**, Brasília, v. 7, n. 2, p. 1-64, 2020.

CONAB. **Séries Históricas de Área Plantada, Produtividade e Produção, relativas às Safras 2005/06 a 2016/17 de Cana-de-Açúcar**. Brasília :Companhia Nacional de Abastecimento, 2020.
Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&Pagina_objcmsconteudos=2#A_objcms>. Acesso em: 13 de out. de 2020.

COSTA, M. M. et al. Identification and pathogenicity of *Fusarium* species associated with Pokkah boeng of sugarcane in Brazil. **Plant Pathology**, v. 68, p.1350-1360, 2019.

CYSTIAN, D. et al. Genetic diversity trends in sugarcane germplasm: Analysis in the germplasm bank of the RB varieties. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 18, p. 426-431, 2018.

DI, X.; TAKKEN, F.L.W.; TINTOR, N. How phytohormones shape interactions between plants and the soil-borne fungus *Fusarium oxysporum*. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, n. 170, p. 1- 9, 2016.

D'HONT, A. et al. Characterization of the double genome structure of modern sugarcane cultivars (*Saccharum* spp.) by molecular cytogenetics. **Molecular and General Genetics**, v. 250, p. 405-413, 1996.

DUTTAMAJUMDAR, S.K. Bacterial diseases of sugarcane in India: a bird's eye view. In: RAO, G.P.; SAUMTALLY, A.S; ROTT, P. (Eds.) **Sugarcane pathology: bacterial and nematodes diseases**, Science Publishers. p. 15-50, 2014.

EDGERTON, C. W. **Sugarcane and Its Diseases**. Baton Rouge LA, Louisiana Univ. Press, 1955, 301p.

FLOR, H.H. inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini*. **Phytopathology**, n. 32, p. 653–669, 1942.

Food and Agricultural Organization of the United Nations 2018. FAO. Disponível em: <http://faostat.fao.org/default.aspx> >. Acesso em: 06 de out. de 2020.

GARSMEUR, O. et al. A mosaic monoploid reference sequence for the highly complex genome of sugarcane. **Nature Communications**, v.9, n. 2638, 2018.

GÄUMANN, E. 1946. Principle of Plant Infection. 1st edition. Verlag Birkhäuser Basel, 1946. p. 611.

GILL, C.C.; WESTDAL, P.H. Effect of temperature on symptom expression of barley infected with aster yellows or barley yellow dwarf viruses. **Journal of Phytopathology**, v.56, n.3, p. 369-370, 1966.

GILIO, L.; MORAES, M.A.F.D. Sugarcane industry's socioeconomic impact in São Paulo, Brazil: A spatial dynamic panel approach. **Energy Economics**, v. 58, p. 27–37, 2016.

GOVENDER, P.; MCFARLANE, S.; RUTHERFORD, R. *Fusarium* species causing pokkah boeng and their effect on *Eldana saccharina* Walker (Lepidoptera: *Pyralidae*). **Proceedings of the South African Sugar Technologists Association**, v. 83, p. 267–70, 2010.

GOSWAMI, D. et al. Rhamnolipid biosurfactant against *Fusarium sacchari*—the causal organism of pokkah boeng disease of sugarcane. **Journal of Basic Microbiology**, v. 54, p. 548-57, 2013.

HIBAR, K. et al. Temperature effect on mycelial growth and on disease incidence of *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. **Plant Pathology Journal**, v.5, p. 233-238, 2006.

HUA, J. Modulation of plant immunity by light, circadian rhythm, and temperature. **Current Opinion Plant Biology**, v. 16, n. 4, p. 406–413, 2013.

HUSSAIN, S. et al. Sugarcane production under changing climate Effects of environmental vulnerabilities on sugarcane diseases, insects and weeds. In S. Hussain (Ed.), **Climate change and agriculture**. Intech Open: UK., 2018. p.137-157.

JEYAKUMAR, J.J; ZHANG, M. Symptoms and their Assessment of Sugarcane Pokkah Boeng. **International Journal of Environmental & Agriculture Research**, v.6, n. 12, p. 50-54, 2020.

KARUPPAIYAN R. et al. The incidence of Pokkah boeng in indigenous and exotic sugarcane (*Saccharum officinarum*) clones. **Indian Journal of Agricultural Science**. v.85, n.4, p.596-601, 2015.

KHANI, K.T. et al. Pathogenicity of *Fusarium proliferatum*, a new causal agent of pokkah boeng in sugarcane. **Proceedings of the International Society Sugarcane Technology**, v. 23, p.1–5, 2013.

KUMAR, P. et al. Mapping of *F. moniliforme* var. *subglutinans* from normal and malformed panicles and malformed seedlings of mango by recovery method. **Plant Archives**, v. 11, p. 567-569, 2011.

LEE, H.-A. et al. Current understanding of plant nonhost resistance. **Molecular Plant-Microbe Interaction**, v. 30, p. 5-15, 2017.

LI, X.; KAPOS, P.; ZHANG, Y. NLRs in plants. **Current Opinion in Immunology**, v. 32, p. 114-121, 2015.

LI, Y.; UDDIN, W.; KAMINSKI, J.E. Effects of relative humidity on infection, colonization and conidiation of *Magnaporthe oryzae* on perennial ryegrass. **Plant Pathology**, v. 63, n. 3, p. 590-597, 2014.

LIN, Z. et al., 2014. Species-specific detection and identification of *Fusarium* species complex, the causal agent of sugarcane pokkah boeng in China. **Plos One**, v. 9, p. 104-195, 2014.

LOFGREN, L.A. et al. *Fusarium graminearum*: pathogen or endophyte of North American grasses? **New Pathologists**, v. 217, n.3, p. 1203-1212, 2018.

MARTIN, J. P. et al. **Pokkah boeng In Sugarcane Diseases of the World**. Vol. 1, Elsevier Publ. Co. New York, p. 247-57, 1961.

MONTEIRO, J.E.B.A et al. Development of ramulosis disease of cotton under controlled environment and field conditions. **Phytopathology**, v. 99, n. 6, p. :659-65, 2009.

MOORE, M.L.; SIX, D.L. Effects of temperature on growth, sporulation, and competition of mountain pine beetle fungal symbionts. **Microbial Ecology**, v. 70, n. 2, p.336-47, 2015.

MOUSSA, T.A.A. et al. Two new species of the *Fusarium fujikuroi* species complex isolated from the natural environment. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 110, p. 819–832, 2017.

NANCARROW, N. et al. The effect of elevated temperature on Barley yellow dwarf virus-PAV in wheat. **Virus Research**. v.186, n. 24, p. 97-103, 2014.

NETO, M.AM.; GUERRA, M.P. A new method for determination of the photosynthetic pathway in grasses. **Photosynthesis Research**, v. 142, p. 51-56, 2019.

NING, Y.; WANG, G.L. Breeding plant broad-spectrum resistance without yield penalties. **PNAS**, v. 115, n. 12, p. 2859-2861, 2018.

NIEHAUS, E.M. et al. Comparative "Omics" of the *Fusarium fujikuroi* Species Complex highlights differences in genetic potential and metabolite synthesis. **Genome Biology Evolution**, v. 8, n. 11, p. 3574-3599, 2016.

NORDAHLIAWATE, M.S.S. et al. Distribution, morphological characterization and pathogenicity of *Fusarium sacchari* associated with pokkah boeng disease of sugarcane in Peninsular Malaysia. **Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science**, v. 31, p. 279–86, 2008.

O'DONNELL, K. Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. **Proceedings of National Academy of Science**. v. 95, p. 2044-2049, 1998.

PINOSA, F. et al. Arabidopsis phospholipase is involved in basal defense and nonhost resistance to powdery mildew fungi. **Plant Physiology**, v. 163, p. 896-906, 2013.

PLANK, J.E. VAN DER. Disease resistance in plants. Academic Press, New York, 1968. p. 206.

POKHREL, B. Effects of environmental factors on crop diseases development. **Journal of Plant Pathology & Microbiology**, v.12, n.553, p. 1-5, 2021.

PORIKA, J. et al. Evaluation of promising sugarcane clones in plant cane against natural infection of pokkah boeng disease. **Current Journal of Applied Science and Technology**. v. 39, n. 21, p. 129-134, 2020.

RANA, A.; SAHGAL, M.; JOHRI, B.N. *Fusarium oxysporum*: genomics, diversity and plant-host interaction. In: SATYANARAYANAL, T.; DESHMUKH, S.K.; JOHRI, B.N. *Developments in Fungal Biology and Applied Mycology*, **Springer-Singapore**, p. 159-199, 2017. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-10-4768-8_10

RANJAN, A. et al. Impact of weather factors on Pokkah boeng disease of sugarcane. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 7, n. 5, p. 2278-2280, 2018.

ROJAS, C. M., Glycolate oxidase modulates reactive oxygen species-mediated signal transduction during nonhost resistance in *Nicotiana bethamiana* and *Arabidopsis*. **Plant Cell**, v. 24, p. 336–352, 2012.

RODRIGUEZ-SALAMANCA, L.M.; NAEGELE, R.P.; QUESADA-OCAMPO, L.M. Inoculation Method, Temperature, and Relative Humidity Affect Leaf and Neck Anthracnose, a New Onion Disease in Michigan. **The American Phytopathological Society**, v. 19, n. 1, p. 64-68, 2018.

SAIJO, Y; LOO, E.P.; YASUDA, S. Pattern recognition receptors and signaling in plant–microbe interaction. **The Plant Journal**, v. 93, p. 592–613, 2018.

SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. Sugarcane: agricultural production, bioenergy, and ethanol. USA: **Elsevier**, 2015. 493 p.

SOUZA, C.C.; OLIVEIRA, F.A.; SILVA, I.F.; AMORIM NETO, M.S. Avaliação de métodos de determinação de água disponível e manejo da irrigação em terra roxa sob cultivo de algodoeiro herbáceo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 3, p. 338-342, 2000.

SULTAN, E. et al. Involvement of nonhost resistance genes in disease resistance plausible for future crop improvement. **Peer Journal**, v. 7, p. 1-43, 2019.

STEVENS, RB. Cultural practices in disease control. In: HORSFALL, J.G., editor. *Plant Pathology: An advanced treatise*, v.3: **The diseases population epidemics and control**. London: Academic Press Inc; 1960. p. 357-429.

SUN, S. et al. Effects of temperature and moisture on sporulation and infection by *pseudoperonospora cubensis*. **Plant Disease**, v.101, n. 4, p. 562-567, 2017.

SUNDAR, A. R. et al. Disease resistance in sugarcane: an overview. **Scientia Agraria Paranaenses**, v. 14, n. 4, p. 200 - 212, 2015.

SZÉCSI, A. et al. Poaceae: a rich source of endophytic fusaria. **Acta Phytopathologica et Entomologica**, v. 48, n. 1, p. 19–32, 2013.
DOI:10.1556/APhyt.48.2013.1.2

THIRUGNANASAMBANDAM, P.P.; HOANG, N.V.; HENR, R.J. The challenge of analyzing the sugarcane genome. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, n. 616, p. 1-18, 2018.

THO, K.E. et al. Effects of temperature, relative humidity, and plant age on bacterial disease of onion plants. **Plant Health Progress**, v. 20, n.4, p.200-206, 2019.

UNICA. **Observatório da cana**. 2020. Disponível em: <http://www.unicadata.com.br/> . Acesso em: 13 de out. de 2020.

VELÁSQUEZ, A.C. et al. Plant and pathogen warfare under changing climate conditions. **Current Biology**, v. 28, n.10, p. 619-634, 2018.

VISHWAKARMA, S.K. et al. Pokkah boeng: an emerging disease of sugarcane. **Plant Pathology & Microbiology**, v. 4. n.170, p. 1-5, 2013.

VISWANATHAN, R. Changing scenario of sugarcane diseases in India Since introduction of hybrid cane varieties: path travelled for a century. **Journal of Sugarcane Research**, v. 8, n.1, p.177–211, 2018.

VISWANATHAN, R. et al. Epidemiology of fusarium diseases in sugarcane: a new discovery of same *fusarium sacchari* causing two distinct diseases, wilt and pokkah boeng. **Sugar Technology**, n. 19, v.6, p. 638-646, 2017.

VISWANATHAN, R. Fusarium diseases affecting sugarcane production in India. **Indian Phytopathology**, v. 73, p. 415–424, 2020.

VLOUTOGLOU, I; KALOGERAKIS, S.N. Effects of inoculum concentration, wetness duration and plant age on development of early blight (*Alternaria solani*) and on shedding of leaves in tomato plants. **Plant Pathology**, v. 49, n. 3, p. 339-45, 2000.

WANG, Z. P. et al. Establishment of resistance evaluation system in the field for sugarcane Pokkah Boeng. **Journal of South China Agricultural University**, v. 37, n. 3, p. 67-72, 2016.

WANG, Z.P. Artificial Inoculation Method of Pokkah Boeng Disease of Sugarcane and Screening of Resistant Germplasm Resources in Subtropical China. **Sugar Tech**, n. 19, v. 3, p. 283–292, 2017.

LI, Y.; UDDIN, W.; KAMINSKI, J.E. Effects of relative humidity on infection, colonization and conidiation of *Magnaporthe oryzae* on perennial ryegrass. **Plant pathology**, v. 63, n. 3, p. 590-597, 2014.

ZAMIOUDIS, C. et al. Unraveling root developmental programs initiated by beneficial *Pseudomonas* spp. bacteria. **Plant Physiology**, v. 162, n. 1, p. 304-18, 2013.

ZELLERHOFF, N. et al. Nonhost resistance of barley to different fungal pathogens is associated with largely distinct, quantitative transcriptional responses. **Plant Physiology**, v. 152, p. 2053–2066, 2010.

ZHANG, M.; JEYAKUMAR, J.M.J. Fusarium Species Complex Causing Pokkah Boeng in China. In: ASKUN, T. Fusarium - plant diseases, pathogen diversity, genetic diversity, resistance and molecular markers. **Intechopen**, Budapest, p.140-154, 2018.