

PAULO DE CAMPOS TÔRRES DE CARVALHO

ENGENHEIRO - AGRÔNOMO

**Assistente da 11.a Cadeira (Fitopatologia e
Microbiologia Agrícola) da Escola Superior
de Agricultura «Luiz de Queiroz» - U. S. P.**

**ESTUDO DAS PODRIDÕES DOS TOLETES
DE CANA-DE-AÇÚCAR**

**Tese de doutoramento apresentada à
Escola Superior de Agricultura «Luiz de
Queiroz» da Universidade de São Paulo**

**PIRACICABA - ESTADO DE SÃO PAULO
BRASIL**

1963

ESTUDO DAS PODRIDÕES DOS TOLETES
DE CANA-DE-AÇÚCAR.

por

Paulo de Campos Tôrres de Carvalho
Engenheiro-Agrônomo

Tese de doutoramento apresentada à
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz",
da Universidade de São Paulo

Piracicaba - Estado de São Paulo
BRASIL
1963

INDICE

	<u>página</u>
1.- Introdução	1
2.- Revisão bibliográfica	4
3.- Material e métodos	12
3.1.- Levantamento da incidência de microrganismos do solo sôbre os toletes de cana-de-açúcar	12
3.2.- Testes de patogenicidade	14
3.3.- Etiologia da podridão abacaxi	16
3.3.1.- Estudos de variações culturais de <u>C.paradoxa</u> ..	16
3.3.2.- Influência da temperatura sôbre <u>C.paradoxa</u> ,...	17
3.3.3.- Influência do pH sôbre <u>C.paradoxa</u>	18
3.3.4.- Influência de NPK sôbre a podridão abacaxi....	19
3.4.- Contrôle de <u>C.paradoxa</u> e outros fungos patogê- nicos do solo	21
3.4.1.- Experimentos de campo	21
3.4.2.- Experimento em casa de vegetação	25
4.- Resultados	28
4.1.- Resultados da incidência de microrganismos do solo sôbre os toletes de cana-de-açúcar	28
4.2.- Resultados dos testes de patogenicidade	31
4.3.- Etiologia da podridão abacaxi	36
4.3.1.- Descrição de <u>C.paradoxa</u>	37
4.3.2.- Lista de hospedeiros de <u>C.paradoxa</u>	39
4.3.3.- Estudo sôbre variações culturais de <u>C.paradoxa</u>	39
4.3.4.- Influência da temperatura sôbre <u>C.paradoxa</u>	45
4.3.5.- Influência do pH sôbre <u>C.paradoxa</u>	50
4.3.6.- Influência de NPK na incidência de <u>C.paradoxa</u> sôbre os toletes de cana-de-açúcar	51
4.4.- Contrôle de <u>C.paradoxa</u> e outros fungos patogêni- cos do solo	52
4.4.1.- Experimentos de campo	52
4.4.2.- Experimento em casa de vegetação	69
5.- Resumo e conclusões	82
6.- Agradecimentos	87
7.- Fotografias	88
8.- Bibliografia	91

1. INTRODUÇÃO

Para o Brasil e em particular, para o Estado de São Paulo, a cultura da cana-de-açúcar é, atualmente, uma das atividades agrícolas de maior significação econômica. Assim, todos os problemas a ela relacionados têm merecido a atenção dos nossos especialistas, visando aumentar sempre a produtividade das nossas lavouras.

Inúmeros pesquisadores têm-se dedicado ao exame dos problemas de fertilidade do solo, melhoramento das variedades, controle das pragas, tratamentos culturais, etc. Ao lado desses, todos de relevante importância, há o fitopatológico que, conjuntamente com aqueles, são fatores limitantes da produção agrícola.

A cana-de-açúcar, não obstante sua rusticidade, está sujeita a um grande número de doenças, as quais constituem um permanente problema. A história da indústria açucareira, com os seus períodos favoráveis e com as suas depressões econômicas, está intimamente ligada com a ocorrência de epifitotias, que ocasionaram a queda vertical da produção canavieira, com profundos reflexos econômicos e sociais. No quadro nº 1, abaixo, poderemos examinar algumas dessas depressões.

QUADRO Nº 1

DEPRESSÕES DA LAVOURA CANAVIEIRA

Local	Época	Causa
Mauritius	1840-1845	?
Java	1885-1895	Sereh.
Brasil (Bahia)	1860-1870	Gomose.
Brasil (Pernambuco)	1880-1890	Gomose.
Índias Ocidentais	1890-1900	Podridões do colmo.
Argentina	1916-1922	Podridões das raízes e mosaico.
Pôrto Rico e Louisiana ..	1910-1920	Podridão das raízes.
Pôrto Rico e Louisiana ..	1921-1927	Podridão das raízes, podridão vermelha e mosaico.
Brasil (São Paulo)	1920-1930	Mosaico.
Hawaií	1900-1920	Podridão das raízes.

Obs. - Os dados do quadro da página anterior foram extraídos de EDGERTON (1955) MARTIN et al. (1961), DANTAS (1956, 1958, 1960) e ARRUDA (1941).

Para uma melhor avaliação da importância econômica dessas depressões, segundo RANDES (1961), somente a ocorrida na Louisiana durante os anos de 1921 a 1927, causou prejuízos estimados em US\$ 150.000.000.

Queremos ressaltar que essas depressões foram causadas por doenças endêmicas entre nós, exceção feita ao sereh. Nas condições normais de cultivo da cana-de-açúcar, essas doenças causam prejuízos dentro de limites razoáveis. Entretanto, são doenças potencialmente perigosas que, a qualquer momento, seja por degradação das variedades cultivadas, seja pela ocorrência de fatores ambientais favoráveis, podem causar novas epifitotias, com reflexos desastrosos.

Isto exposto, verificamos que o problema das doenças da cana-de-açúcar ganha uma relevância toda especial e o seu estudo integra-se como parte essencial das pesquisas agrônômicas relacionadas com a lavoura canavieira.

Entre os problemas fitopatológicos de interesse, destaca-se o das falhas na germinação dos toletes; em quaisquer condições, para a formação de um bom canavial, o fator primeiro é um bom "stand" de germinação. Sem uma população homogênea, sadia, numerosa, passível de bom aproveitamento dos tratamentos culturais, não é possível a obtenção de um alto rendimento agrícola. Assim, em todas as regiões canavieiras do mundo, os especialistas têm-se dedicado ao seu estudo: os fisiologistas têm pesquisado as interações hormonais e as reações bioquímicas do processo germinativo, bem como aos seus fatores estimulantes ou inibidores. Os geneticistas têm-se dedicado à produção de híbridos que, entre outras características, possuem bom poder de reprodução vegetativa. Os entomologistas têm estudado as medidas de controle aos diversos insetos responsáveis pela destruição das gemas dos toletes. Finalmente, fitopatologistas têm pesquisado intensivamente a ação de microrganismos do solo, que são responsáveis por podridões nos toletes de cana-de-açúcar.

Desta forma, podemos verificar que o problema das falhas na germinação dos canaviais é assunto extremamente com-

plexo, passível de ser estudado por diferentes ramos da ciência. Não é possível pois, num estudo sôbre a má germinação dos toletes, numa atitude simplista, atribuí-lo a uma ou a algumas causas. É necessário ter-se sempre em mente que muitos fatores influem sôbre a germinação e muitas são as causas do seu insucesso. Por outro lado, dentro das nossas limitações, torna-se impossível realizar um estudo completo sôbre todos os fatores responsáveis pela má germinação.

Assim sendo, ao realizarmos o presente trabalho, limitamos as nossas pesquisas ao campo da fitopatologia, deixando de considerar as falhas na germinação, quando devida a outras causas alheias à nossa especialidade.

Desta forma, o trabalho que ora apresentamos, refere-se exclusivamente ao problema fitopatológico de falhas na germinação dos toletes de cana-de-açúcar. Ao realizá-lo, tivemos em mente, contribuir para um melhor conhecimento do problema e, dêste modo, colaborar para o progresso da agro-indústria-açucareira do Estado de São Paulo.

• • • •

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Segundo WISMER (1961), Ceratocystis paradoxa (de Seynes) Moreau, foi originalmente descrita por De Seynes em 1886, na França, sobre frutos de abacaxi; nesta oportunidade, foi classificado como Sporochisma paradoxum. Entretanto, sobre cana-de-açúcar foi observado pela primeira vez por Went, em 1893, em Java, que o classificou como Thielaviopsis ethaceticus. Foi Went que, devido ao desprendimento de odor característico dos toletes atacados, deu à doença o nome de podridão abacaxi, nome pelo qual é conhecida até hoje. Sacardo em 1892 descreve o microrganismo e o classifica como Chalara paradoxa. Em 1904, Von Hohnel, em Viena, isola Sporochisma paradoxum de coqueiros e, comparando a sua cultura com a de Thielaviopsis ethaceticus, verifica serem uma mesma espécie, que por êle é reclassificada como Thielaviopsis paradoxa (de Seynes) v. Hohn. Em 1928, Dade, na Costa do Ouro, observa a fase perfeita de T. paradoxa ocorrendo sobre cacau, reclassificando o microrganismo como Ceratostomella paradoxa (de Seynes) Dade, nome que até a presente data é aceito por grande parte dos micologistas. Entretanto, Melin & Nannfeldt, em 1934, transferem-no para o gênero Ophiostoma, classificando-o como O. paradoxum. Em 1935, Davidson o reclassifica como Endoconidiophora paradoxa. Estas duas últimas classificações não foram aceitas. Mais recentemente, Moreau, em 1952, na França, estudando o gênero Ceratostomella cria um novo gênero, Ceratocystis e nêle inclui C. paradoxa. Atualmente, numerosos autores têm preferido a nomenclatura de Moreau, enquanto que outros permanecem seguindo a de Dade.

Desde a observação da incidência de Thielaviopsis paradoxa sobre a cana-de-açúcar, tiveram início as pesquisas para o seu controle. Assim, segundo DANTAS (1956), Jansz, em 1894, obtinha sucesso com o emprego da calda bordalesa no tratamento dos toletes, e Hein, em 1899, empregando calda bordalesa e asfalto, obteve 73,5% e 56,5% respectivamente, de toletes infectados, contra 91% da testemunha.

AMES (1915) estuda o comportamento de T. paradoxa a diferentes temperaturas.

DEER (1921) em seu livro Cane Sugar, considera a podridão abacaxi como uma das doenças mais importantes, com dis-

tribuição generalizada em todo o mundo. Para o seu contrôle, baseado nos trabalhos de Howard em Barbados e Cobb no Hawaí, recomenda o tratamento dos toletes com calda bordalesa durante 1 hora.

FULTON (1922) relata a ocorrência de T. paradoxa sobre coqueiros e estuda o comportamento dos seus isolamentos com relação à temperatura.

NOWELL (1923) considera a doença generalizada nas Índias Ocidentais e Antilhas e estuda com minúcias, a etiologia de T. paradoxa e as medidas para o seu contrôle.

CIFERRI (1927) relata T. paradoxa sobre mamoeiro (Cárica papaia).

SUNDARARAMEN (1928) em Madras, verifica a incidência de T. paradoxa sobre Coccus nucifera, Areca catechu, Borassus flabellifer e outras palmáceas.

FAWCETT (1931) menciona a incidência intensa de T. paradoxa na província de Jujuí, na Argentina, causando numerosas falhas nos canaviais; menciona também as medidas de exclusão tomadas na província de Tucuman, para evitar a propagação da podridão abacaxi até os seus canaviais.

KLOTZ & FAWCETT (1931) relatam T. paradoxa sobre palmáceas na Califórnia, Arizona e Norte da África.

Segundo DANTAS (1956), Urata em 1931 instala no Hawaí um experimento, empregando pela primeira vez um fungicida mercurial orgânico, para o contrôle de T. paradoxa. O resultado obtido por Urata, segundo Dantas, abriu o segundo período da história das podridões das estacas de cana-de-açúcar, cujos característicos essenciais são a preferência pelos fungicidas orgânicos sintéticos, quase sempre derivados do mercúrio e a grande aplicação prática da técnica em muitas regiões canavieiras do globo".

AVERNA SACCA (1932), estuda a ocorrência de T. paradoxa sobre bananeira e cana-de-açúcar no Estado de São Paulo.

COOK (1932), relata que T. paradoxa é o principal agente de podridões nos toletes de cana-de-açúcar em Pôrto Rico, sendo a sua incidência maior nos meses frios e em solos mal drenados. Nos meses mais quentes, somente causa prejuízos nas regiões mais elevadas e, portanto, mais frias.

BITTANCOURT (1934) menciona a sua ocorrência no Es-

tado de São Paulo, sôbre cana-de-açúcar, nos anos de 1931 e 1932.

JOHNSON & VALLEAU (1935) trabalhando com Thielaviopsis basicola, espécie afim de T.paradoxa, observaram variações muito acentuadas nas suas culturas. Os autores obtiveram 30 culturas monospóricas, partindo de uma única cultura monospórica; essas 30 culturas diferiram entre si, aparecendo inclusive, uma cultura albina, sendo que os AA. não puderam determinar com exatidão as causas dessa variação.

CAMINHA (1936) e PICKEL (1936) relatam a ocorrência generalizada de T.paradoxa nos canaviais do Estado de Pernambuco.

RANGEL (1937) descreve e estuda a ocorrência de T. paradoxa sôbre abacaxi, no Estado do Rio de Janeiro.

MITCHELL (1937), em Queensland, isola T.paradoxa de bananeiras, abacaxizeiros e cana-de-açúcar. Por inoculações cruzadas, verifica que o isolamento obtido de bananeiras era pouco patogênico para o abacaxi e não apresentava patogenicidade de alguma para a cana. Enquanto isso, os isolamentos obtidos de cana e abacaxi foram semelhantes na sua patogenicidade, inclusive sôbre bananeiras. Baseado nesses resultados, o Autor conclui pela existência de linhagens e sugere uma nova variedade para o isolamento obtido de bananeiras, T.paradoxa var. musarum.

* MC MARTIN (1937, 1945, 1945a, 1947 e 1949), na África do Sul, realiza numerosas experiências de contrôle dos microrganismos do solo que incidem sôbre os toletes de cana-de-açúcar. Segundo o levantamento por êle efetuado, foram isolados os seguintes: Cephalosporium sacchari, Thielaviopsis paradoxa, Mellanconium sacchari, Himantia stellifera, Aspergillus sp., Penicillium sp., Rhizoctonia sp. e Pythium sp., êstes dois últimos incidindo sôbre raízes. Nos seus trabalhos sôbre o contrôle, empregou primeiramente o tratamento com fungicidas organo-mercuriais por via sêca e em seguida, por via úmida. Os resultados obtidos neste último processo foram animadores, tendo sido verificado não somente uma diminuição no número dos toletes atacados, como também um incremento na brotação dos toletes tratados. O autor concluiu que o tratamento dos toletes, além de controlar T.paradoxa e outros microrganismos do solo,

estimulava a germinação e o perfilhamento. Os trabalhos de Mc Martin foram os responsáveis pelo emprêgo em larga escala do tratamento dos toletes com fungicidas organo-mercuriais nas regiões canavieiras do globo.

CAMPOS (1941), no Estado de Pernambuco, estudando as podridões dos toletes de cana, consegue isolar os seguintes fungos: Leptosphaeria sacchari, Ceratostomella paradoxa, Fumago sacchari, Colletotrichum falcatum e Mellanconium sacchari. Atribui as falhas na germinação principalmente às condições adversas do solo.

ORJUELA NAVARRETE (1944), Colômbia, faz um levantamento da situação fitossanitária do vale de Cúcuta, Villa del Rosario e regiões vizinhas, verificando que, sobre os toletes de cana-de-açúcar, o microrganismo isolado mais frequentemente foi Rhizoctonia sp., seguido por Ceratostomella paradoxa. Isolou também Diplodia theobromae, Mellanconium sacchari, Pythium sp., Fusarium sp. e Acrostalagmus sp. Aquêles Autor atribui as falhas observadas às más condições de plantio, preconizando além de melhores práticas agrícolas, o tratamento dos toletes por 24 a 36 horas em água de cal ou em simples imersão em calda bordalesa 4:4:50.

ARRUDA (1945, 1946) no Estado de São Paulo, acredita que a incidência de T. paradoxa está na dependência dos fatores ambientais, julgando que a doença somente assume aspectos graves quando as condições do meio são desfavoráveis à germinação da cana-de-açúcar.

SILVEIRA (1946) citando um trabalho de Rangel, afirma que "em experiências com Ceratostomella paradoxa na fase im perfeita, Thielaviopsis paradoxa, conservou esporos dêste fungo em blocos de gelo durante seis meses e os mesmos não perderam nem sofreram alterações em seu poder germinativo".

EVANS & WIEHE (1947), em Mauritius, instalam vários ensaios com diversos fungicidas mercuriais orgânicos, obtendo resultados semelhantes aos de Mc Martin, com um aumento no rendimento agrícola de quatro toneladas por acre. Segundo aquêles AA., o Aretan exerce efeito estimulante na germinação dos toletes, além de oferecer uma proteção contra T. paradoxa e outros microrganismos do solo.

WIEHE (1947), em Mauritius, determina o efeito da

umidade sôbre a incidência de C. paradoxa, que, em solos irrigados, foi de 13% enquanto que em solos não irrigados foi de 22,7%. Em outro ensaio, observou que Aretan a 1% diminuiu o ataque de 68,7% para 5,2%, além de acelerar a germinação, melhorar o desenvolvimento e estimular o perfilhamento da cana-de-açúcar. Tratando toletes com leite de cal por 24 horas, conseguiu reduzir a infecção de 53,5% para 20,2%. A cal-viva estimulou a formação de açúcar e reduziu a infecção de 68,7 para 29,7%.

O BUREAU OF SUGAR EXPERIMENT STATIONS, Queensland (1949), em seu relatório anual atribui a germinação muito boa nos canaviais do distrito de Lower Burdekin, ao contrôle de Ceratostomella paradoxa pelo emprêgo em larga escala dos fungicidas mercuriais orgânicos, sendo observado que Abavit S foi mais eficiente do que Aretan.

A HAWAIIAN SUGAR EXPERIMENT STATION (1949), em seu relatório anual menciona bons resultados, em testes de laboratório, com acetato pyridylmercurio no contrôle de Ceratostomella paradoxa.

CHU (1950), em Taiwan, observou diferentes reações de variedades de cana ao tratamento com Granosan a 0,2% durante dois minutos. A variedade Co 285 não reagiu ao tratamento enquanto que as demais reagiram eficientemente. Observou nas variedades F 108 e F 134 que os toletes tratados germinaram -- mais rapidamente que os não tratados. Entretanto, o uso de Granosan a 0,5% diminui a germinação e a 2 e 5% impedem-na completamente. Observou que o tempo de imersão dos toletes é importante: com Granosan a 0,1% o tolete necessita ficar imerso durante 2 minutos para se obter a máxima eficiência, e a 0,2%, em apenas 10 segundos, se obtém a proteção necessária, sendo que a solução pode ser re-utilizada 10 vêzes consecutivas.

VEIGA (1951), em Campos, Estado do Rio de Janeiro, repetindo os trabalhos de Mc Martin, obtém bons resultados com o emprêgo de fungicidas mercuriais orgânicos, tendo conseguido uma germinação de 45,3% com o uso de Abavit contra 14,8% da testemunha. Concluiu ainda, ao examinar os microrganismos que incidiram sôbre os toletes que, além de T. paradoxa, a simples fermentação devido à ação de leveduras, pode provocar falhas na germinação. Considerou também Colletotrichum falcatum um dos

principais agentes de podridões nos toletes.

SUBRAMANIAN & PRAKASAN (1951), em trabalhos experimentais realizados na Sugar-Cane Research Station, Anakapalli, Madras, atribui o fracasso na germinação dos toletes de cana-de-açúcar à incidência de Ceratostomella paradoxa.

STORY (1952), relata que no distrito de Mackay, em 1951, as condições climáticas desfavoráveis foram responsáveis pelo ataque em forma epifitótica, de Ceratostomella paradoxa. Na replanta dos canaviais atacados, o emprêgo de Aretan controlou a doença.

KING (1952), em Queensland, estuda os possíveis fatores responsáveis pela má germinação dos canaviais e verifica que, entre tôdas as medidas preventivas a serem tomadas, a mais interessante é o contrôle de fungos do solo pelo tratamento dos toletes. Cita o contrôle obtido contra Ceratostomella paradoxa, no distrito de Buderkin, com o emprêgo de Aretan.

ROGER (1953), estudando as principais doenças das plantas tropicais, examina a incidência de C. paradoxa sôbre cana-de-açúcar, bananeiras, cafeeiros, coqueiros, areca e tamarreira.

ROCHECOUSTE (1952), em Mauritius, com o emprêgo de Aretan e R 1442x187 a 0,1% consegue reduzir a infecção de C. paradoxa de 59% para 24%.

MUNGOMERY (1953), relata intenso ataque de Ceratostomella paradoxa, em Queensland, no ano de 1953. Esse ataque foi controlado com o emprêgo de solução mercurial a 0,015 e a 0,003%, em água quente (50°C), durante 30 minutos, em tratamento simultâneo contra o raquitismo.

A HAWAIIAN SUGAR EXPERIMENT STATION, em seu relatório para o ano de 1953, menciona o contrôle simultâneo de C. paradoxa e raquitismo com o tratamento a quente dos toletes, utilizando acetato fenil mercúrio a 52°C durante 20 minutos ou 50°C durante 30 minutos. Os resultados alcançados foram muito promissores.

WHALLEY & KENT (1953), em Queensland, realizaram uma série de análises para determinar as causas de deteriorização das soluções mercuriais empregadas no tratamento dos toletes; concluem seu trabalho fixando normas para o uso das soluções mercuriais e sua conservação.

A HAWAIIAN SUGAR EXPERIMENT (1954), em seu relatório, aconselham o uso de acetato fenil mercúrio para o controle das falhas nos canaviais provocadas por Ceratostomella paradoxa. Este tratamento, a quente ou a frio, seguido de irrigações durante 2 a 4 semanas após o plantio, resulta em significativo aumento da germinação.

A SUGAR CANE BREEDING INSTITUTE (1955), em Coimbatore, em seu relatório para os anos de 1953/54 e 1954/55, observa um efeito residual de até dois meses dos fungicidas mercuriais empregados no controle de C. paradoxa e Rhizopus nigricans.

HUGHES (1954), em Queensland, relata bons resultados no controle simultâneo de Ceratostomella paradoxa e raquitismo, com o tratamento dos toletes em solução mercurial a quente. Relata ainda a ocorrência de Verticillium sp., causando grandes prejuízos à germinação dos canaviais em South Kalkie e Bundaberg, o qual também foi controlado com o emprego dos fungicidas mercuriais.

EDGERTON (1955), publica intensivo trabalho sobre as doenças da cana-de-açúcar, entre as quais, a podridão abacaxi.

A SUGAR MANUFACTURES' ASSOCIATION OF JAMAICA, RESEARCH DEPARTMENT (1955), em seu relatório anual, descreve os métodos empregados no combate à podridão dos toletes causadas por Pythium sp. e Helminthosporium sacchari, que consistiram no emprego de Aretan ou Phygon.

MUNGOMERY (1955), em Queensland, controlou Ceratostomella paradoxa com o emprego de fungicidas mercuriais. Observou que no distrito de Bundaberg, o agente de podridão em toletes foi Verticillium sp.

DANTAS (1956, 1956a, 1956b, 1957, 1958 e 1960, 1960a), no Estado de Pernambuco, organiza um plano quadrienal para o estudo das principais doenças e pragas da cana-de-açúcar naquele Estado, sendo constituída uma Comissão a execução daquele plano. Com referência ao problema da germinação dos toletes, são instalados diversos experimentos, visando a determinação da incidência da doença, medidas de controle, etc. Nos experimentos de controle são empregados numerosos fungicidas orgânicos e organo-mercuriais, sendo que os últimos foram mais eficientes.

ANTOINE (1956, 1957), em Mauritius, realiza experi-

mentos com fungicidas orgânicos e organo-mercuriais, com melhores resultados para os últimos, os quais controlaram a incidência de Ceratostomella paradoxa.

A EXPERIMENT STATION, HAWAIIAN SUGAR PLANTERS' ASSOCIATION, no seu relatório anual de 1961, relata testes de laboratório com 25 novos produtos para o controle de Ceratocystis paradoxa; verificaram que nenhum deles foi superior ao acetato fenil mercúrio. Relatam ainda que, como muitas das novas variedades de cana em distribuição, germinam muito rapidamente, para elas não é necessário o tratamento a quente dos toletes para o controle da podridão abacaxi, podendo ser substituído pelo tratamento a frio com fungicidas organo-mercuriais.

WISMER (1961), em trabalho realizado sobre os auspícios da International Society of Sugar-Cane Technologists, efetua um amplo estudo sobre a podridão abacaxi dos toletes de cana-de-açúcar, causada por Ceratocystis paradoxa.

3. MATERIAL E MÉTODOS

No presente trabalho, executamos diversos experimentos com o emprêgo de técnicas e métodos diferentes, visando a elucidação de alguns aspectos do problema das podridões dos toletes. Assim sendo, para clareza de exposição, agrupamos os experimentos em quatro classes, que correspondem à seqüência dos trabalhos realizados. São as seguintes: levantamento da incidência de microrganismos do solo sôbre os toletes de cana-de-açúcar, testes de patogenicidade, etiologia da podridão abacaxi e contrôle de Ceratocystis paradoxa e outros fungos patogênicos do solo.

3.1 - Levantamento da incidência de microrganismos do solo sôbre os toletes de cana-de-açúcar.

3.1.1 - Material

Neste levantamento, estudamos toletes não germinados, coletados na região canavieira de Piracicaba, a qual abrange os municípios de Piracicaba, Charqueada, Rio das Pedras, Capivari, Mombuca, Pôrto Feliz, Tietê, Rio Claro, Araras, Itacemópolis, Limeira, Santa Bárbara d'Oeste, Americana, Cosmópolis e Campinas. Recebemos também algumas amostras procedentes de canaviais sites nos municípios de Bebedouro, Lençóis Paulista, Bauru e Igarapava.

Nos municípios relacionados, foram visitadas as principais usinas e alguns de seus fornecedores de maior significação. Além dessa coleta de material junto às usinas, percorremos as principais estradas rurais da zona canavieira e, nelas, coletamos material ao acaso, em talhões recém-plantados. De cada talhão foram colhidos no mínimo 5 toletes, sendo que este número era aumentado nos talhões que apresentavam uma germinação muito desigual.

3.1.2 - Métodos

Os toletes de cana-de-açúcar foram arrancados do solo, envoltos em sacos plásticos e em menos de 24 horas após a coleta, transportados para o laboratório e examinados.

No laboratório, os toletes eram lavados e desinfetados com sublimado corrosivo a 1:1.000; em seguida, eram abertos com assepsia para um exame macroscópico preliminar, quando era observada a coloração, odor, consistência dos tecidos, necroses, danos causados por insetos, estado das gemas, etc., de tudo sendo feito protocolo.

Para o isolamento do agente causal, foram empregadas as técnicas abaixo descritas:

a) cultura de tecido em meio sólido:- foram coletados fragmentos de tecido, os quais, após flambagem, foram implantados em meio de batata (200 g), dextrose (20 g) e ágar (17 g), sendo empregada a técnica usual de cultura de tecido.

As placas foram incubadas a 28°C, e os microrganismos que se desenvolveram, repicados para tubos de cultura com o mesmo meio, examinados e classificados quando possível.

O emprêgo desta técnica, não obstante a sua eficiência, foi prejudicado em parte por estarem alguns dos toletes coletados, com os seus tecidos invadidos por microrganismos saprófitas, principalmente bactérias e leveduras, o que dificultava sobremaneira os trabalhos de isolamento.

b) Câmara úmida:- em tubos de cultura colocamos vermiculite até 1/3 da sua altura e água destilada; tamponâmo-los com algodão e os esterilizamos. Retiramos, com assepsia, fragmentos grandes do parênquima dos toletes (aproximadamente 1cm), os quais foram flambados e introduzidos nos tubos.

Os tubos de cultura assim preparados, funcionavam como câmara úmida e os alimentos contidos nos toletes supriam as necessidades dos microrganismos, permitindo o seu desenvolvimento. O micélio formado, com o auxílio de fio de platina, era repicado para tubo contendo meio de batata-dextrose-ágar.

Esta técnica foi a que apresentou melhores resultados, tendo sido, em consequência, a mais empregada.

c) Cultura de tecido em água:- Visando a observação da possível ocorrência de ficomicetes aquáticos, principalmente os do gênero Pythium e Phytophthora, foi empregada também a técnica usual para o isolamento de fungos daquela classe. O fragmento de tolete, preparado do mesmo modo que nos casos anteriores, foi colocado em placa de Petri, adicionando-se água

destilada e metade de uma semente de Cannabis sativa L. Nesta técnica, o micélio se desenvolve em tórno do fragmento do tolete e, quando formado os zoosporos, êstes contaminam a meia semente que, funcionando como isca, permite o isolamento do fungo.

O micélio formado era transferido para meio sólido de maltose (5 g), peptona (1 g) e agar (5 g), para purificação. Quando a colônia apresentava um desenvolvimento vigoroso, um bloco de agar era transferido para placa de Petri, com metade de uma semente superposta e irrigado com água destilada.

O levantamento da incidência de microrganismos do solo sôbre os toletes de cana-de-açúcar, foi feito com o emprêgo isolado ou simultâneo dessas 3 técnicas acima descritas, durante os meses de março a junho, dos anos de 1961 a 1962.

3.2 - Testes de patogenicidade.

3.2.1 - Material

Com os isolamentos obtidos no levantamento que procedemos, realizamos os testes necessários para a determinação da sua patogenicidade sôbre os toletes de cana-de-açúcar.

Foram testados os seguintes microrganismos, todos isolados de toletes não germinados: Ceratocystis paradoxa, Trichoderma sp., Fusarium sp., Mellanconium sacchari, Rhizopus Nigricans, Pythium arrhenomanes, Pythium spp., Lacellinopsis sacchari, Leptodiscus sp., Penicillium sp., Mucor sp., Allomyces sp., Achlya sp., Dictyucus sp., Thraustotheca sp., Zygorhincus sp. e 10 isolamentos não identificados.

Nos testes de patogenicidade usamos sempre a variedade de cana Co 419, escolhida por ser das mais cultivadas em nosso Estado.

3.2.2 - Métodos

Para a determinação da patogenicidade dos microrganismos isolados, executamos dois testes de patogenicidade, a saber: preliminar e final.

a) Teste preliminar:- logo após o isolamento do microrganismo realizamos testes preliminares para a determinação

da sua patogenicidade; em vasos de barro esterilizados, com 10 cm de diâmetro, colocamos solo preparado, na seguinte proporção: terra roxa (2 partes), areia de rio (1 parte) e estêrco curtido (1 parte), sendo a mistura homogenizada, peneirada, e a seguir, esterilizada em autoclave a 1 atm durante 2 horas.

Os toletes da variedade Co 419, com uma gema, semelhantes quanto ao tamanho e estado de maturação, foram desinfetados em sublimado corrosivo a 1:1.000 durante 5 minutos e, a seguir, lavados em água corrente.

Para o preparo do inóculo, tomamos um tubo da cultura pura do microrganismo a ser testado, adicionamos 5 ml de água estéril e preparamos uma suspensão a mais homogênea possível.

Para a inoculação, colocamos a suspensão em um vidro de relógio e nela banhámos as extremidades dos toletes, os quais foram plantados a seguir; os vasos, já prontos, foram colocados na casa de vegetação, sendo irrigados com intervalos de dois dias, garantindo assim, boas condições de umidade e temperatura para a germinação. Após 30 dias, contávamos os toletes germinados, avaliávamos o vigor dos brotos, bem como os submetíamos a um exame macroscópico, para verificação de possível ação de microrganismo.

Para o re-isolamento do microrganismo, empregamos o mesmo método utilizado quando de seu isolamento. Em muitos casos, não foi possível o re-isolamento em virtude de, sendo o microrganismo saprófita, não ter conseguido desenvolver-se nos tecidos sadios dos toletes.

Para cada microrganismo testado foram feitas 4 repetições, inclusive para a testemunha.

b) Teste final:- todos os isolamentos que no teste anterior demonstraram alguma interferência sobre o processo germinativo ou, simplesmente, foram re-isolados dos tecidos dos toletes, foram estudados conjuntamente de forma a ser possível a obtenção de dados comparativos da sua ação sobre os toletes. Queremos ressaltar que, neste caso, alguns dos microrganismos inoculados não demonstraram anteriormente, nenhuma ação patogênica sobre os toletes de cana-de-açúcar; foram incluídos neste teste apenas porque foram re-isolados dos toletes após a sua germinação.

Empregamos neste ensaio a mesma técnica que no anterior, no tocante à inoculação, preparo dos vasos e dos toletes. Quando da coleta dos resultados, os toletes e sistema radicular foram examinados macroscopicamente, sendo feito o re-isolamento do microrganismo, com o emprêgo da mesma técnica que para o seu isolamento.

Cada tratamento foi feito com 4 repetições.

3.3 - Etiologia da podridão abacaxi

Conforme verificaremos na apresentação e discussão dos resultados, entre os isolamentos obtidos, foi Ceratocystis paradoxa aquêle que apresentou maior patogenicidade sôbre os toletes de cana, demonstrando ser agente específico de podridões em toletes, impedindo a sua germinação. Baseados nesses resultados, efetuamos um estudo sôbre a etiologia da doença, procurando examinar as principais características morfo-fisiológicas do agente causal.

Os nossos estudos sôbre a etiologia do agente causal da podridão abacaxi compreendem os seguintes itens:

3.3.1 - Estudo de variações culturais de C. paradoxa.

3.3.1.1 - Material

Para o estudo de variações culturais de C. paradoxa, examinamos diversas culturas, tôdas apresentando apenas a fase imperfeita do fungo, ou seja, Thielaviopsis paradoxa (De Seynes) V. Hohn.

3.3.1.2 - Métodos

Para atendermos à finalidade proposta, empregamos duas técnicas de trabalho: obtenção de culturas monospóricas e comparações entre essas culturas.

a) Culturas monospóricas:- para a obtenção das culturas monospóricas, tomamos uma alça de cultura pura de C. paradoxa e a colocamos em tubo com 10 ml de água estéril, agitando-o até obtermos uma suspensão homogênea. Com uma pipeta capilar, retiramos uma gotícula da suspensão e a colocamos nu-

ma lâmina previamente flambada. Se no exame microscópico a gotícula apresentasse mais de um esporo, a suspensão era diluída de forma a atingir a concentração desejada, ou seja, um esporo em média, por gotícula. Obtida essa concentração, examinamos cada gotícula ao microscópio, e as que apresentavam apenas um esporo eram aspiradas com o auxílio de um tubo capilar e sementeadas em placas de Petri, com meio de batata, dextrose e ágar.

Tôdas as culturas monospóricas foram obtidas com o emprêgo desta técnica.

b) Comparações entre culturas monospóricas:- como no decorrer dos trabalhos verificamos que diversos isolamentos de C. paradoxa apresentavam algumas variações culturais, empregamos o seguinte método para um estudo comparativo dessas variações: com um isolamento de C. paradoxa proveniente do município de Santa Bárbara d'Oeste e que apresentava alta patogenicidade nos canaviais da Usina Santa Bárbara, obtivemos uma cultura monospórica com o emprêgo da técnica anteriormente descrita. Desta cultura monospórica foi feita uma nova suspensão de esporos e obtidas mais cinco culturas monospóricas.

Essas culturas foram posteriormente examinadas macro e microscòpicamente, e estudadas no seu comportamento a diferentes temperaturas, pH, etc., conforme veremos, a seguir.

3.3.2 - Influência da temperatura sôbre C. paradoxa

3.3.2.1 - Material

Para o estudo da influência da temperatura sôbre C. paradoxa, utilizamos em nossos trabalhos as cinco culturas monospóricas obtidas com o emprêgo das técnicas já descritas.

3.3.2.2 - Métodos

Nas determinações dos limites de temperatura para o crescimento de C. paradoxa, foram utilizados dois métodos distintos de trabalho: o diâmetro das colônias em meio sólido, e o pêsô do micélio sêco.

a) Diâmetro das colônias em meio sólido:- Inoculamos com culturas de C. paradoxa placas de Petri com meio de batata, dextrose e ágar. Na inoculação foi utilizado fio de pla

tina em cone, calibrado, que possibilitou uma inoculação homogênea, superpondo blocos de ágar semelhantes em tôdas as placas. O inóculo foi colocado sempre no centro da placa, sendo feito para cada cultura e temperatura, simultâneamente, quatro repetições.

As placas inoculadas foram incubadas em estufas reguladas nas temperaturas de 10, 15, 20, 25, 28, 35, e 40°C, acusando, entretanto, uma pequena variação de até 1°C, para mais ou para menos, da temperatura de regulagem.

As leituras foram feitas com uma escala graduada em milímetros e com intervalos de 6 em 6 horas. Nas leituras foram medidos os diâmetros das colônias formadas a várias temperaturas, sendo repetidas em intervalos regulares até que as colônias tomassem tôda a placa.

b) Pêso do micélio sêco:- em frascos Erlenmayer com capacidade para 200 ml, colocamos 100 ml de meio de batata -- dextrose e esterilizamos a 1 atm durante 20 minutos. Em seguida, inoculamos os frascos com fio de platina em cone, calibrado, de forma a têmos inóculos semelhantes em todos os frascos. De cada cultura e para cada temperatura, foram feitas duas repetições.

Os frascos inoculados foram incubados à temperatura de 15, 20, 25, 28, 30 e 35°C, nas mesmas estufas utilizadas para o método anterior.

Após cinco dias de incubação, o experimento foi colhido, lavando-se primeiramente o micélio com água destilada dentro do próprio frasco e, em seguida, colocando-o em vidros de relógio prèviamente tarados. O micélio foi sêco em estufas a 85°C até obtermos um pêso constante, conseguido após aproximadamente 20 horas. Em seguida, o micélio sêco foi pesado em balança de precisão até cinco miligramas.

3.3.3 - Influência do pH sôbre Ceratocystis paradoxa.

3.3.3.1 - Material

Para a determinação da influência do pH sôbre C. paradoxa, utilizamos as mesmas cinco culturas monospóricas empregadas anteriormente, nos estudos sôbre a temperatura.

No decurso dos trabalhos de determinação da influência do pH, acidentalmente, a cultura protocolada com o número I-E foi perdida; desta forma, o material que utilizamos ficou reduzido para apenas 4 culturas, ao invés das cinco programadas inicialmente.

3.3.3.2 - Método

Em frascos Erlenmayer com capacidade para 200 ml colocamos 100 ml de meio de batata-dextrose. Em seguida, foi feita a correção do pH, sendo empregado um "buffer" de fosfato de sódio (0,2M), e ácido cítrico (0,1 M), preparados de conformidade com a tabela de Mc Ilvaine, citada por VOGEL (1948). O pH foi determinado em medidor de pH Beckman, modelo H-2.

Na esterilização do meio, inoculação, incubação e coleta dos resultados, foram empregadas as mesmas técnicas que na determinação da temperatura através do peso do micélio seco, as quais estão descritas no item 3.3.2.2.

3.3.4 - Influência de NPK sobre a podridão abacaxi.

3.3.4.1 - Material

Para o estudo da possível influência do Nitrogênio, Fósforo e Potássio sobre a podridão abacaxi dos toletes de cana-de-açúcar, utilizamos as cinco culturas monospóricas já citadas anteriormente.

A variedade de cana usada foi Co 419.

As soluções nutritivas foram preparadas segundo as fórmulas de HOAGLAND & ARNON (1939), que são as seguintes:

Solução NPK

KH_2PO_4 (molar)	1 cc
KNO_3 (molar)	5 cc
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (molar)	5 cc
MgSO_4 (molar)	2 cc
Água destilada, q.s.p.	1.000 cc

Solução PK

K_2SO_4 (0,5 molar)	5 cc
$MgSO_4$ (molar)	2 cc
$Ca(H_2PO_4)$ (0,05 molar)	10 cc
$CaSO_4$ (0,01 molar)	200 cc
Água destilada, q.s.p.	1.000 cc

Solução NP

$Ca(NO_3)_2$ (molar)	5 cc
$MgSO_4$ (molar)	2 cc
$Ca(H_2PO_4)_2$ (0,05 molar)	10 cc
Água destilada, q.s.p.	1.000 cc

Solução NK

$Ca(NO_3)_2$ (molar)	5 cc
$MgSO_4$ (molar)	2 cc
KNO_3 (molar)	6 cc
Água destilada, q.s.p.	1.000 cc

3.3.4.2 - Métodos

No ensaio foram empregados vasos de barro com 17 cm de diâmetro, cheios com areia de rio, lavada e ausente de matéria orgânica. Todo o material foi esterilizado em autoclave a 1 atm durante 2 horas.

Os toletes da variedade Co 419, com uma gema, foram desinfetados em solução de sublimado corrosivo a 1:1.000, durante 5 minutos, e a seguir lavados com água corrente. Após esse tratamento, foi feita uma seleção no sentido de serem escolhidos apenas toletes uniformes quanto ao tamanho e estado de maturação das gemas. Todos os toletes empregados no ensaio estavam aparentemente em perfeitas condições de sanidade.

Para o preparo do inóculo, tomamos dois frascos Erlenmayer com 150 ml de meio de batata-dextrose, para cada uma das culturas de C. paradoxa a serem experimentadas. Cada cul-

tura foi agitada separadamente, em liquidificador, durante 5 minutos, sendo o seu volume completado com água destilada para 500 ml.

Foram feitos os seguintes tratamentos, relacionados no quadro nº 2, abaixo:

QUADRO Nº 2

Ensaio em vasos - Fatorial 5:5

Cultura	Solução (trat. nºs)				
	NPK	PK	NP	NK	água
I-A	1	6	11	16	21
I-B	2	7	12	17	22
I-C	3	8	13	18	23
I-D	4	9	14	19	24
I-E	5	10	15	20	25

Cada tratamento foi feito com duas repetições. Após o plantio, os vasos foram inoculados com 50 ml de inóculo, aplicados por irrigação. Em seguida, foi adicionada a solução nutritiva correspondente a cada tratamento; essas irrigações com solução nutritiva foram feitas diariamente, sempre até a saturação.

3.4 - Contrôle de Ceratocystis paradoxa e outros fungos patogênicos do solo.

Visando o controle de C. paradoxa e outros fungos patogênicos do solo, instalamos experimentos no campo e em casa de vegetação.

3.4.1 - Experimentos de campo.

Foram instalados dois experimentos de campo para estudo das possibilidades de controle de C. paradoxa e outros fungos do solo, através do uso de fungicidas organo-mercuriais. Nestes experimentos, quando do seu planejamento, procuramos atender a três quesitos básicos: eficiência dos fungicidas em-

pregados (a) em diferentes épocas de plantio, (b) em solo infestado de C. paradoxa e (c) em solo sem aquêle microrganismo, mas em presença de outros, que seriam parasitas fracos sôbre os toletes de cana-de-açúcar.

3.4.1.1 - Material

Nos experimentos empregamos fungicidas organo-mercuriais, escolhidos por terem sido, de conformidade com os trabalhos de MC MARTIN (1945, 1945a, 1947 e 1949), WIEHE (., 1947), STORY (1952), DANTAS (1956, 1956a, 1960), e outros, aquêles que apresentaram os melhores resultados. Os fungicidas utilizados encontram-se relacionados no quadro abaixo, sob nº 3.

QUADRO Nº 3

Fungicidas utilizados nos experimentos.

Produto comercial	Princípio ativo e %	Hg metálico (%)	dose-gem
Neantina	3,7% de cloreto etoxietil mercúrio	2,5%	1%
Biosan	3,7% de cloreto etoxietil mercúrio	2,5%	1%
Shellsan	9% de cloreto etoxietil mercúrio	6,0%	0,3%
Granosan 200	6% de etil mercúrio 2.3-dihydroxy propil mercaptide		
	1,3% de acetato etil mercúrio	4,5%	0,125%

Foram instalados dois experimentos, um na Usina Piracicaba, outro na Usina Santa Bárbara.

No experimento da Usina Piracicaba foi empregada a variedade CB 36-24, em toletes com 3 gemas, todos êles selecionados e em perfeitas condições para a germinação. O solo do local do experimento, de conformidade com exame prèvio de material doente, não estava infestado de C. paradoxa, e dêle, os isolamentos mais freqüentemente obtidos foram Fusarium spp. e Trichoderma sp. Após a instalação do experimento, todos os toletes falhados foram examinados, e nenhum dêles se

apresentou atacado por Ceratocystis paradoxa.

No experimento instalado na Usina Santa Bárbara, foi utilizada a variedade CB 41-58, em toletes de duas gemas, selecionados e em perfeitas condições para a germinação. O solo do local aonde foi instalado o experimento apresentava-se fortemente contaminado por C. paradoxa, verificado através de exame prévio de material doente. Após a instalação do experimento, todos os toletes falhados foram examinados e mostraram-se atacados por C. paradoxa.

3.4.1.2 - Métodos

Os experimentos foram instalados em parcelas subdivididas para observação do efeito de cinco tratamentos fungicidas em três épocas distintas de plantio. Temos, pois, que considerar: (a) época, (b) tratamentos, (c) delineamento e instalação e (d) coleta dos resultados.

a) época:- no plantio da cana-de-açúcar, a ser colhida com 18 meses, o período mais favorável é o de fevereiro até princípios de março, quando as condições de umidade e temperatura são propícias à uma rápida germinação. A partir de meados de março, as condições ambientes vão se tornando cada vez mais desfavoráveis à germinação, sendo que até fins de abril ainda são toleráveis, mas, de maio em diante, são completamente desfavoráveis para o plantio da cana-de-açúcar.

Assim, ao selecionarmos as diversas épocas para o plantio da cana-de-açúcar nos experimentos de campo, procuramos, em cada experimento, ter uma época favorável, uma tolerável e uma desfavorável à germinação dos toletes de cana-de-açúcar. O quadro nº 4 nos mostra as diversas épocas de plantio dos experimentos.

QUADRO Nº 4

Época de plantio dos experimentos.

Experimento	1ª época	2ª época	3ª época
Usina Piracicaba	9/3/61	7/4/61	8/5/61
Usina Sta. Bárbara	14/3/61	15/4/61	22/5/61

b) tratamentos:- foram os seguintes:

QUADRO Nº 5

Tratamentos usados nos experimentos.

Tratamento	Fungicida	Dosagem
nº 1	Contrôle	
nº 2	Neantina	1%
nº 3	Biosan	1%
nº 4	Shellsan	0,3%
nº 5	Granosan 200	0,125%

A técnica de execução dos tratamentos foi a seguinte: os toletes, após seleção, foram imersos na solução fungicida correspondente, durante um minuto, sendo colocados para secar à sombra, antes do plantio. No preparo da solução fungicida, foram tomados os cuidados necessários, sendo as mesmas preparadas em tinas de madeira e rigorosamente controladas na sua concentração. Para o preparo das soluções, foi usada água pura, de nascente.

c) delineamento e instalação:- cada experimento apresentou as seguintes características no seu delineamento: cinco tratamentos em três épocas distintas, distribuídos em quatro parcelas, uma para cada repetição. Cada parcela com três blocos de forma a permitir o plantio em três épocas sucessivas. Cada bloco, por sua vez, era formado por cinco canteiros, um para cada tratamento.

Cada canteiro era formado por cinco ruas de cana, medindo 10 metros de comprimento por 1,50 metros de espaçamento. As duas ruas externas de cada canteiro eram de borda dura. Entre os blocos foi deixado um vão livre de 1 metro.

Para a instalação do experimento, o terreno recebeu aração cruzada, seguida de gradagem pesada e sulcamento, sendo tôdas as operações tratorizadas. Para o plantio da segunda e terceira épocas, houve necessidade de reavivamento

dos sulcos, o que foi feito manualmente.

No plantio foi feita adubação com os níveis 5-10-5 de NPK, sendo o adubo distribuído uniformemente nos sulcos e os toletes colocados diretamente sôbre o adubo. A cobertura dos toletes foi manual.

No experimento da Usina Piracicaba foram plantados toletes de três gemas, num total de 15 toletes por sulco, e no da Usina Santa Bárbara foram plantados toletes de duas gemas, totalizando 20 toletes por sulco.

d) Coleta dos resultados: - nos dois experimentos, foi feita através de contagens do "stand" de germinação, aos 30, 60 e 90 dias após o plantio. Nesta contagem, as ruas de bordadura foram desprezadas; destas ruas, os toletes não germinados foram arrancados simultâneamente com as contagens, para exame em laboratório, sendo empregadas as técnicas descritas no item 3.1.2. Após 90 dias, todos os toletes não germinados foram arrancados e examinados.

No experimento da Usina Santa Bárbara, aonde o solo se apresentava infestado de C. paradoxa, o experimento foi colhido com 18 meses após o primeiro plantio. Na colheita do experimento foram observadas as precauções de praxe.

Não foi feita a colheita das canas maduras do experimento instalado no Usina Piracicaba.

3.4.2 - Experimento em casa de vegetação.

3.4.2.1 - Material

No presente experimento foi empregada uma cultura pura de C. paradoxa, isolada de tolete não germinado, proveniente do experimento instalado na Usina Santa Bárbara, município de Santa Bárbara d'Oeste.

A variedade de cana-de-açúcar foi Co 419.

Para o contrôle da podridão abacaxi, foram usados os mesmos fungicidas e nas mesmas dosagens que no experimento de campo, conforme se encontra descrito no item 3.4.1.1.

3.4.2.2 - Métodos

O solo foi preparado na proporção de 2:1:1 de ter-

ra-roxa, estêrco curtido e areia, respectivamente, sendo a seguir homogenizado, peneirado e esterilizado em autoclave, a uma atmosfera durante duas horas.

Em seguida, o solo foi repartido em duas porções, uma das quais foi inoculada e a outra mantida estéril.

A técnica de inoculação foi a seguinte: 10 frascos Erlenmayer com 250 ml de meio de batata-dextrose foram inoculados com C. paradoxa. As culturas foram mantidas por três dias à temperatura de 28°C. Essas culturas tiveram um desenvolvimento vigoroso, formando um micélio sobrenadante, abundante, com grande número de micro e macroconídios. Essas culturas foram trituradas no liquidificador durante cinco minutos, diluídas em 500 ml de água destilada para cada cinco frascos, sendo o volume completado para 4.000 ml.

O solo a ser inoculado foi dividido em 10 partes, cada uma com aproximadamente 0,08 metros cúbicos. Para cada parte de solo utilizamos 400 ml de inóculo, diluído em 1.600 ml de água destilada, o que significa que cada porção de 0,08 m³ de solo foi irrigada com uma solução de dois litros de inóculo.

As 10 partes de solo foram bem misturadas, sendo a operação repetida três vezes para garantir uma perfeita homogeneização. O solo inoculado foi coberto com plástico e mantido em repouso durante três dias. Na ocasião do plantio, o solo foi novamente homogenizado e, em seguida, colocado nas caixas.

No experimento foram utilizadas caixas de pinho, novas, com as dimensões de 40x50x20 centímetros.

A porção de solo que permaneceu estéril foi homogeneizada, e com ela enchidas as caixas correspondentes.

As caixas com solo estéril e inoculado foram colocadas em casa de vegetação, tendo sido dispostas por sorteio. As caixas foram colocadas afastadas umas das outras, para diminuir o risco de contaminação daquelas com solo estéril.

Cada caixa recebeu três toletes da variedade Co 419, com duas gemas cada um. Os toletes foram igualados quanto à maturação das gemas, grossura e localização no colmo. A ponta e o pé de cada colmo foram eliminadas. Entre os toletes,

houve apenas uma pequena variação no seu comprimento, devido à diferença de tamanho dos entrenós.

Tanto para as caixas com solo estéril como para as de solo inoculado, foram feitos os mesmos tratamentos que para os experimentos de campo, com quatro repetições cada. A única diferença foi que, neste caso, os toletes antes de serem imersos na solução fungicida, foram lavados em água corrente.

O controle do experimento foi feito diariamente, com a contagem de todas as gemas que germinaram. A colheita foi feita após três meses, quando foram colhidos todos os colmos de cada caixa, inclusive com as suas folhas e palhas, sendo os mesmos pesados em balança de precisão.

• • • •

4 - RESULTADOS

Os resultados do presente trabalho, para maior clareza de exposição, serão apresentados e discutidos separadamente, dentro das quatro classes, que correspondem à seqüência seguida no seu desenvolvimento. São as seguintes: levantamento da incidência de microrganismos do solo sôbre os toletes de cana-de-açúcar, testes de patogenicidade, etiologia da podridão abacaxi e contrôle de Ceratocystis paradoxa e outros fungos patogênicos do solo.

4.1 - Resultados do levantamento da incidência de microrganismos do solo sôbre os toletes de cana-de-açúcar.

4.1.1 - Apresentação

Foram examinadas 391 amostras, sendo que para cada tolete, os isolamentos foram repetidos, no mínimo, duas vezes.

Com o emprêgo das técnicas descritas no item 3.1.2, foram obtidas culturas puras dos isolamentos adiante relacionados. Ressaltamos, que o levantamento foi qualitativo, sendo determinados apenas alguns fungos associados aos toletes apodrecidos; a freqüência dêsses isolamentos não foi estabelecida, pois, para isso, haveria a necessidade de adoção de outras técnicas de amostragem, inviáveis para as nossas condições de trabalho.

Os microrganismos isolados, foram os seguintes:

a) frequentemente isolados:- Ceratocystis paradoxa-Trichoderma sp., Fusarium spp., Mellanconium sacchari, Rhizopus nigricans, Pythium arrhenomanes e Pythium spp.;

b) ocasionalmente isolados:- Lacellinopsis sacchari, Leptodiscus sp., Penicillium sp., Rhizoctonia sp., Mucor sp., Zygorhincus sp., Allomyces sp., Achlya sp., Dychthiucus sp., Thraustotheca sp. e mais 10 isolamentos não identificados.

4.1.2 - Discussão

Nos resultados obtidos no presente levantamento, chamou-nos a atenção o fato de encontrarmos associados aos toletes doentes, um número relativamente grande de fungos, entre os quais, nem todos poderiam ser responsabilizados como agentes de podridões. Este fato, entretanto, é perfeitamente compreensível, se considerarmos que os toletes, com um parênquima rico em açúcares, constituem-se, no solo, em excelente meio para cultivo dos diferentes microrganismos. Além disso, com o corte das suas extremidades, há a destruição dos seus elementos externos de proteção, com a conseqüente penetração dos mais variados microrganismos.

Êsses isolamentos, como veremos adiante, na sua maior parte são saprófitas, destituídos de qualquer ação patogênica, não interferindo de modo algum, no processo germinativo. Ao lado dêsses saprófitas, isolamos patógenos, cujo comportamento será discutido posteriormente.

Na literatura, encontramos algumas referências sobre o assunto. MC MARTIN (1937), na África do Sul, constatou que os toletes, antes da sua germinação, estão sujeitos ao ataque de numerosos fungos do solo, entre os quais: Cephalosporium sacchari, Thielaviopsis paradoxa, Mellanconium sacchari, Himantia stellifera, Aspergillus sp., Penicillium sp., -- Rhizoctonia sp. e Pythium sp., sendo que êstes dois últimos, incidindo preferencialmente sobre as raízes. Observou ainda, que as condições ambientes são muito importantes para a maior ou menor gravidade de ataque dêsses fungos.

COOK (1939), nas Antilhas, entre as várias causas da má germinação dos toletes, cita vários fungos que os atacam e destroem, sendo os mais importantes: Thielaviopsis paradoxa, Marasmius sacchari, Colletotrichum falcatum, Mellanconium sacchari e Ceratostomella adiposum.

CAMPOS (1941), em Pernambuco, obteve alguns isolamentos de toletes atacados e que, em testes de patogenicidade, causaram sintomas de podridão. São os seguintes: Leptosphaeria sacchari, Ceratostomella paradoxa, Fumago sacchari, Colletotrichum falcatum e Mellanconium sacchari.

ORJUELA NAVERRETE (1944), na Colombia, estudou as

podridões dos toletes, isolando diferentes microrganismos, sendo mais comuns Rhizoctonia sp. e Ceratostomella paradoxa. Foram também isolados os seguintes: Diplodia theobromae, Mellanconium sacchari, Pythium sp., Fusarium sp. e Acrostalagmus sp.

VEIGA (1947), no Estado do Rio, isola de toletes não germinados, com frequência, Colletotrichum falcatum, e RANGEL (1951), em seus estudos, verifica a incidência de Thielaviopsis paradoxa e de "um fermento que foi considerado responsável pela deteriorização dos roletes plantados".

A SUGAR CANE BREEDING INSTITUTE, Coimbatore, em seu relatório anual para 1953/54 e 1954/55, acusa a incidência de Ceratostomella paradoxa e Rhizopus nigricans, mencionando os produtos usados para o seu controle.

HUGHES (1954), em Queensland, menciona a ocorrência de Ceratostomella paradoxa e um Verticillium sp., ainda não relatado, que causou grandes prejuízos em canaviais daquela região.

A SUGAR MANUFACTURERS' ASSOCIATION OF JAMAICA RESEARCH DEPARTMENT, em seu relatório anual (1955), descreve os métodos de controle para as podridões causadas por Pythium spp. e Helminthosporium sacchari.

MUNGOMERY (1955), em Queensland, observa novamente a ocorrência de Ceratostomella paradoxa e Verticillium sp., causando podridões nos toletes.

EDGERTON (1955) menciona os principais fungos capazes de produzirem podridões nos colmos de cana-de-açúcar, que são os seguintes: Colletotrichum falcatum, Mellanconium sacchari, Ceratostomella paradoxa, Cytospora sacchari, Gnomonia iliaui, Giberella fujikuroi, Phytophthora erythroseptica, Ceratostomella adiposum, Diplodia theobromae, Nigrospora orizae, Plasmodiophora vascularum e Ligniera vascularum. Devemos ressaltar, que nem todos êsses microrganismos causam podridões específicas nos toletes, impedindo a sua germinação; segundo aquêle Autor, os microrganismos citados atacam os colmos de cana-de-açúcar, indistintamente. Alguns dêles, entretanto, atacam preferencialmente os toletes, enquanto que outros, normalmente incidem sôbre os colmos.

DANTAS (1956), em Pernambuco, menciona que "foram assinaladas muitos outros fungos, dentre os quais cumpre ressaltar Colletotrichum falcatum Went, Cephalosporium sacchari, Butler, Cytospora sacchari Butler, Saccharomyces sp. e mais frequentemente, Phytophthora sps."

Como podemos verificar, os diferentes Autores apontam um grande número de agentes de podridões nos toletes de cana-de-açúcar. Dentre êles, Ceratocystis paradoxa é o citado mais frequentemente, seguido por Colletotrichum falcatum e Mellanconium sacchari, principalmente; outros, são citados esporadicamente. Este fato, nos mostra a complexidade do problema das podridões dos toletes de cana-de-açúcar, pois, já, existem classificados mais de uma dezena de microrganismos -- que, de acôrdo com as condições ambientes, podem provocar falhas na germinação dos canaviais. Foi em razão desta complexidade que iniciamos os nossos estudos pelo levantamento qualitativo dos microrganismos associados aos toletes, pois, é necessidade absoluta, o conhecimento prévio do agente causal da doença, para podermos estudá-la. E, conforme veremos a seguir, entre os microrganismos isolados, poucos foram patogênicos.

Um fato que deve ser ressaltado: no levantamento a que procedemos, não isolamos Colletotrichum falcatum, associado a toletes não germinados, embora a sua ocorrência seja frequente nos nossos canaviais. Isto nos faz supor que as variedades híbridas atualmente em cultivo, oferecem uma resistência satisfatória à podridão vermelha.

Entre os isolamentos, chamou-nos a atenção a frequência elevada de Ceratocystis paradoxa, Trichoderma sp. e Fusarium sp.

4.2 - Resultados dos testes de patogenicidade.

O exame dos isolamentos feitos nos mostra que existem numerosos fungos incidindo sobre os toletes de cana-de-açúcar. Assim, uma vez não germinado o tolete, seja pela ação parasitária de algum fungo, seja devido a causas de outra natureza, êle se transforma em meio adequado para o desen

volvimento de microrganismos do solo. Dessa forma, o isolamento de qualquer deles associado a toletes falhados, ainda que freqüente, não nos permite associar a doença ao microrganismo. Para tal, é necessário testar a sua patogenicidade, de forma a esclarecer, com exatidão, a sua interferência no processo germinativo.

4.2.1 - Apresentação

Todos os isolamentos, exceção feita ao de Rhizoctonia sp., cuja cultura foi perdida acidentalmente, foram submetidos a um teste de patogenicidade preliminar e, com aqueles que provocaram alguma alteração nos tecidos dos toletes, executamos um segundo teste final. Nestes testes, seguimos sempre as técnicas já descritas.

a) Teste preliminar:- nos testes preliminares, classificamos os microrganismos em dois grupos, a saber: grupo I aonde estão incluídos todos os isolamentos que provocaram alterações nos tecidos dos toletes; muitos deles não causaram dano aparente nos toletes, nem impediram a sua germinação. Grupo II aonde estão incluídos os microrganismos que foram incapazes de se desenvolverem nos tecidos sadios dos toletes.

Grupo I:- Ceratocystis paradoxa, Trichoderma sp., Fusarium spp., Mellanconium sacchari, Pythium arrhenomanes, Rhizopus nigricans, Lacellinopsis sacchari, Penicillium sp., Mucor sp., e isolamentos não identificados nºs 2a, 8, 12, 13, 23a, 29, 31, 46a e 67a.

Grupo II:- Pythium spp., Leptodiscus sp., Dictiuchus sp., Zygorhincus sp., Allomyces sp., Achlya sp. e Thraustotheca sp.

b) teste final:- com os isolamentos classificados pelos testes anteriores no grupo I, realizamos um teste de patogenicidade final, através do qual procuramos obter elementos sobre a ação patogênica ou não de cada microrganismo.

Os resultados obtidos estão expostos no quadro nº6.

QUADRO Nº 6

Resultados do teste de patogenicidade final.

Microrganismo	toletes germinados	toletes falhados
<u>Ceratocystis paradoxa</u>	---	4
<u>Fusarium</u> sp.(6a)	4	---
<u>Fusarium</u> sp. (7a)	3	1
<u>Fusarium</u> sp. (30)	4	---
<u>Fusarium</u> sp. (39)	3	1
<u>Fusarium</u> sp. (39a)	3	1
<u>Fusarium</u> sp. (44)	2	2
<u>Fusarium</u> sp. (44a)	4	---
<u>Trichoderma</u> sp.	4	---
<u>Mellanconium sacchari</u>	2	2
<u>Pythium arrhenomanes</u>	3	1
<u>Rhizopus nigricans</u>	4	---
<u>Lacellinopsis sacchari</u> ...	4	---
<u>Penicillium</u> sp.	4	---
<u>Mucor</u> sp.	4	---
Não identificado (2a)	4	---
Idem (8)	4	---
Idem, (12)	4	---
Idem, (13)	4	---
Idem, (23a)	4	---
Idem, (29)	4	---
Idem, (31)	4	---
Idem, (46a)	4	---
Idem, (67a)	4	---

Obs: número entre parênteses refere-se ao número de protocolo da cultura.

4.2.2 - Discussão

Examinando-se os resultados dos testes de patogenicidade, verificamos que poucos isolamentos apresentaram ação patogênica sobre os toletes de cana-de-açúcar. A maior parte dos isolamentos não provocou distúrbio fisiológico algum.

Baseados nos resultados obtidos, podemos, para maior clareza de exposição, agrupar os isolamentos em quatro classes, a seguir:

Classe A

Patógeno forte, impedindo a germinação.

Ceratocystis paradoxa.

Classe B

Patógenos fracos, retardando ou impedindo parcialmente a germinação.

Fusarium spp. (7a, 39, 39a e 44), Mellanconium -- sacchari e Pythium arrhenomanès.

Classe C

Fungos capazes de se desenvolverem no parênquima celular dos toletes, sem afetarem o processo germinativo.

Fusarium spp.(6a, 30 e 44a), Penicillium sp., Trichoderma sp., Rhizopus nigricans, Mucor sp., Lacellinopsis sacchari, e isolamentos não identificados nºs 8, 13, 29, 31 e 67a).

Classe D

Fungos incapazes de se desenvolverem nos tecidos saudáveis dos toletes de cana-de-açúcar.

Pythium sp., Leptodiscus sp., Dictyonema sp., Zygorhynchus sp., Allomyces sp., Achlya sp., Thraustotheca sp., e isolamentos não identificados nºs 2a, 12, 23a e 46a.

É evidente que, sob o ponto de vista fitopatológico, somente apresentam interesse os fungos das classes A e B, notadamente os da classe A. Nesta classe, encontramos apenas um representante, Ceratocystis paradoxa. Este fungo, entre todos os isolamentos, foi o que apresentou maior patogenicidade, pois, nos testes que realizamos, todos os toletes inoculados não germinaram, apodrecendo completamente em poucos dias. Enquanto isso, os fungos pertencentes à classe B provocaram número variável de falhas, existindo sempre alguns toletes que resistiam ao seu ataque e germinavam sem maiores consequências.

Podemos citar, como exemplo típico para a classe B, o caso de Pythium arrhenomanes, que apresenta alta patogenicidade sobre as raízes de cana-de-açúcar, quando destrói completamente o sistema radicular, provocando um subdesenvolvimento característico na planta. Entretanto, sobre os toletes de cana-de-açúcar, a sua ação é restrita, provocando falhas em certos casos e em outros, não afetando a germinação. O seu ataque, via de regra, é posterior à germinação, incidindo sobre o sistema radicular. Os outros representante da classe B, ocasionalmente podem causar falhas na germinação, com frequência bastante variável. Acreditamos que, para os fungos desta classe, as condições ambientes exercem grande influência na intensidade de ataque e, quando elas são favoráveis à cana-de-açúcar, dificilmente poderiam causar prejuízos à sua germinação.

Entre os representantes da classe C, queremos destacar Trichoderma sp. que, entre todos os isolamentos, foi o mais frequente. Entretanto, nos testes que realizamos, não demonstrou qualquer patogenicidade sobre os toletes em germinação. Trinta dias após a inoculação, os toletes tinham germinado normalmente, apresentando sempre um bom desenvolvimento. Examinando-se o parênquima celular, êle encontrava-se tomado pelo fungo, com alterações na sua coloração, mas sem perder sua consistência ou apresentar qualquer sintoma de podridão. Durante os nossos trabalhos, não pudemos determinar com exatidão, nenhuma interferência de Trichoderma sp. no processo germinativo dos toletes de cana-de-açúcar. Entretanto, na literatura sobre o assunto (Le BEAU, 1939, JOHNSON, 1954), en-

contramos referências a êle, nas quais é mencionado como microrganismo antagônico a Pythium spp. Nestas condições, a frequência de Trichoderma sp. nos solos das regiões canavieiras poderia, inclusive, ser benéfica à germinação dos canaviais, pois, inibiria o crescimento de microrganismo parasita dos toletes de cana-de-açúcar. Entre nós, não encontramos referências na literatura que consultamos.

Os isolamentos da classe D, aparentemente, não apresentam o menor interêsse para os nossos trabalhos.

Queremos ressaltar o fato de que, ao agruparmos os isolamentos em classes, concluindo pela alta patogenicidade de C.paradoxa, seguido de Fusarium sp., Mellanconium sacchari e Pythium arrhenomanes, baseamo-nos exclusivamente nos resultados que alcançamos no levantamento e testes de patogenicidade. Não queremos excluir a possibilidade da existência de outros patógenos e, se não examinamos o comportamento de outros fungos, como por exemplo, Colletotrichum falcatum, Marasmius sp., etc., que são mencionados na literatura como agentes de podridões em toletes, foi exclusivamente porque, no levantamento a que procedemos, êles não foram isolados.

4.3 - Etiologia da podridão abacaxi.

De conformidade com o exposto nos capítulos anteriores, verificamos que, entre os agentes de podridões nos toletes de cana-de-açúcar, Ceratocystis paradoxa foi o mais patogênico, tendo sido, além disso, um dos isolamentos mais frequentes.

Justifica-se, pois, um estudo amplo da podridão abacaxi causada por C.paradoxa, a qual, pelo que constatamos, é a principal responsável por falhas na germinação dos canaviais no Estado de São Paulo.

Para maior clareza, antes da apresentação e discussão dos resultados dos nossos trabalhos sôbre a etiologia da podridão abacaxi, teceremos algumas considerações dos nossos estudos sôbre o seu agente causal, Ceratocystis paradoxa (De Seynes) Moreau.

4.3.1 - Descrição

Fase perfeita: Ceratocystis paradoxa (De Seynes)
Moreau.

Fase imperfeita: Thielaviopsis paradoxa (De Seynes)
v. Hohn

Sinonímia: Sporochisma paradoxum De Seynes.
Chalara paradoxa (De Seynes) Sacc.
Thielaviopsis ethaceticus Went.
Ceratostomella paradoxa (De Seynes) Dade.
Ophiostoma paradoxum (De Seynes) Melin
& Nann.
Endoconidiophora paradoxa (De Seynes)
Davidson.

A fase imperfeita de C. paradoxa, que é a mais comum e a melhor estudada, foi a única que observamos durante os nossos estudos. Apresenta hifas cilíndricas, ramificadas e ligeiramente pardacentas, medindo entre 3,5 a 7 micros de diâmetro.

Os microconídios são produzidos em conidióforos erectos com aproximadamente 100 micros de comprimento, e apresentando a célula basal curta e a terminal longa. Os microconídios são endógenos, cilíndricos e hialinos. WISMER (1961) menciona a ocorrência rara de microconídios pardacentos, o que não observamos em nossas culturas. No que concerne às dimensões dos microconídios, os autores variam, conforme podemos verificar no quadro nº 7, aonde incluímos as dimensões encontradas nas nossas culturas.

QUADRO Nº 7

Dimensões dos microconídios de C. paradoxa.

<u>Autor</u>	<u>Dimensoes em micros.</u>
AVERNA SACCA (1931)	13-18 x 8-12,9
COOK (1939)	5-15 x 3-7
EDGERTON (1955)	10-15 x 3,5-5
CARVALHO (1963)	4,2-17 x 2,3-5,2

Os macroconídios são produzidos em conidióforos laterais, curtos, geralmente perpendiculares à hifa, medindo entre 8 e 20 micros de comprimento por 4 micros de diâmetro. Os macroconídios são ovalados, piriformes, elípticos, sub-esféricos, às vezes truncados, raramente esféricos. Geralmente são pigmentados, pardo-escuros, raramente pardo-claros ou hialinos. Segundo observamos, a pigmentação pode variar, existindo culturas com tendência a produzirem macroconídios hialinos ou levemente pardacentos. WISMER (1961) menciona coloração verde-oliva para parda, o que nunca observamos. As dimensões dos macroconídios apresentam limites amplos, havendo divergências entre os diversos autores, conforme nos mostra o quadro nº 8, aonde estão incluídas as nossas próprias medições.

QUADRO Nº 8

Dimensões dos macroconídios de C. paradoxa

Autor	Dimensoes em micros
AVERNA SACCA (1931)	44-92,5 x 7,4-12
COOK (1939)	11-17 x 7-15
EDGERTON (1955)	16-19 x 10-12
CARVALHO (1963)	6,5-36,5 x 4,4-14
média	13,9 x 8,15

Segundo EDGERTON (1955) e WISMER (1961), a fase perfeita foi descrita por Dade, em 1928, na Costa do Ouro, sobre cacau. C. paradoxa apresenta peritécio gregário, com corpo esférico e rostro longo. O corpo é hialino ou ligeiramente pigmentado, estando geralmente imerso no substrato e medindo entre 200 a 350 micros de diâmetro. O rostro é pardo-escuro, medindo entre 800 a 1.200 micros de comprimento por 30 a 40 micros de diâmetro. As ascas são clavadas e medem 25 x 10 micros. Os ascosporos geralmente são mais convêxos de um lado e medem 7-10 x 2,5-4 micros.

C. paradoxa é parasita facultativo, com uma extensa lista de hospedeiros, podendo viver livremente no solo como saprófita.

4.3.2 - Relação de hospedeiros de C.paradoxa.

Segundo WISMER (1961), é a seguinte a relação de hospedeiros de C.paradoxa: Saccharum officinarum, Musa parasidiaca, Carica papaya, Theobroma cacao, Coffea arabica, Curcubita maschata, Zea mays, Ananas sativus, Areca catechu, Cocos Nucifera, Barassus flabellifer, Elaeis guineensis, Erythea edulis, Phoenix canariensis, Rhapis sp., Phoenix dactylifera, Roystonea regia, e Washingtonia filifera.

No Brasil, de acordo com a literatura ao nosso alcance, somente foi relatada sobre bananeira (Musa parasidiaca), abacaxi (Ananas sativus), cana-de-açúcar (Saccharum spp.) e coqueiros.

4.3.3 - Estudos sobre variações culturais de C.paradoxa.

Os nossos estudos sobre variações culturais de C.paradoxa basearam-se nas observações feitas em cinco culturas monospóricas, obtidas de uma única cultura, também monospórica. O exame comparativo dessas culturas, aliado à observações sobre o comportamento fisiológico das mesmas, nos permitiu a verificação de algumas variações culturais acentuadas.

Visando melhor exposição, iremos analisar separadamente, as principais observações feitas.

4.3.3.1 - Variações morfológicas.

No exame microscópico das culturas estudadas, pudemos constatar variações na formação dos conídios, nas suas dimensões e pigmentação.

a) Formação de conídios:- normalmente, as culturas de C.paradoxa esporulam com facilidade, formando primeiramente os microconídios e, em seguida, os macroconídios. Nas culturas examinadas, a cultura I-B diferiu das demais, devido à sua tendência de produzir principalmente macroconídios, sendo irregular a formação dos microconídios, os quais, nas mesmas condições, às vezes eram produzidos, e em outras, não. Nas outras culturas, em quaisquer meios de cultivo ou condições experimentais, sempre houve a formação de numerosos microconídios.

b) Dimensões dos conídios:- observamos também uma pequena variação nas dimensões dos conídios, expressas nos quadros nºs 9 e 10.

QUADRO Nº 9
Dimensões dos macroconídios de C.paradoxa
(em micros)

Cultura	Média	Limites
I	12,3 x 7,0	7,6-15,5 x 4,4-9,7
I-A	14,0 x 7,0	8,6-29,4 x 4,6-10,0
I-B	13,9 x 9,5	8,4-17,8 x 4,4-14,0
I-C	12,5 x 7,4	7,5-19,5 x 4,8-13,4
I-D	17,8 x 9,6	11,0-36,5 x 7,1-13,5
I-E	13,0 x 8,4	6,5-22,7 x 6,3-12,4

QUADRO Nº 10
Dimensões dos microconídios de C.paradoxa
(em micros)

Culturas	Médias	Limites
I	8,5 x 3,4	6,3-13,2 x 2,5-5,3
I-A	8,3 x 3,6	4,2-12,2 x 2,3-5,0
I-B	8,0 x 3,5	4,1-11,0 x 2,3-5,1
I-C	7,7 x 3,4	5,0-12,2 x 2,3-5,0
I-D	8,5 x 3,3	4,8-11,1 x 2,5-5,3
I-E	9,4 x 3,8	5,3-17,0 x 2,3-5,3

c) Pigmentação dos conídios:- normalmente os microconídios são hialinos e os macroconídios pigmentados, raramente hialinos. Essa pigmentação dos macroconídios empresta à cultura "in vitro", uma coloração parda-escura, quase negra. Uma das culturas estudadas, a cultura I-D, apresentou a tendência de produção de macroconídios hialinos, raramente pigmentados. Esta tendência fazia com que a cultura, macroscopicamente, apresentasse coloração cinza-clara, escurecendo após várias semanas.

4.3.3.2 - Variações fisiológicas.

As culturas estudadas também diferiram no seu comportamento fisiológico, principalmente quanto ao vigor, substrato, temperatura e pH.

a) Vigor:- quando cultivada em meio sólido, a cultura I-D teve um desenvolvimento menos vigoroso que as demais. No quadro nº 11 relacionamos o diâmetro das colônias de C. paradoxa, em meio de batata, dextrose e agar, à temperatura de 28°C. Pelo exame dos dados apresentados, pode-se verificar que a cultura I-D, entre tôdas, foi a de menor desenvolvimento.

QUADRO Nº 11

Vigor das culturas de C. paradoxa
(diâmetro das colônias em mm.)

cultura	numero de horas			
	24	32	40	64
I-A	40,0	59,6	84,6	90,0
I-B	40,4	58,6	81,8	90,0
I-C	33,8	51,4	76,4	90,0
I-D	29,2	42,0	56,6	87,2
I-E	35,0	56,0	81,6	90,0

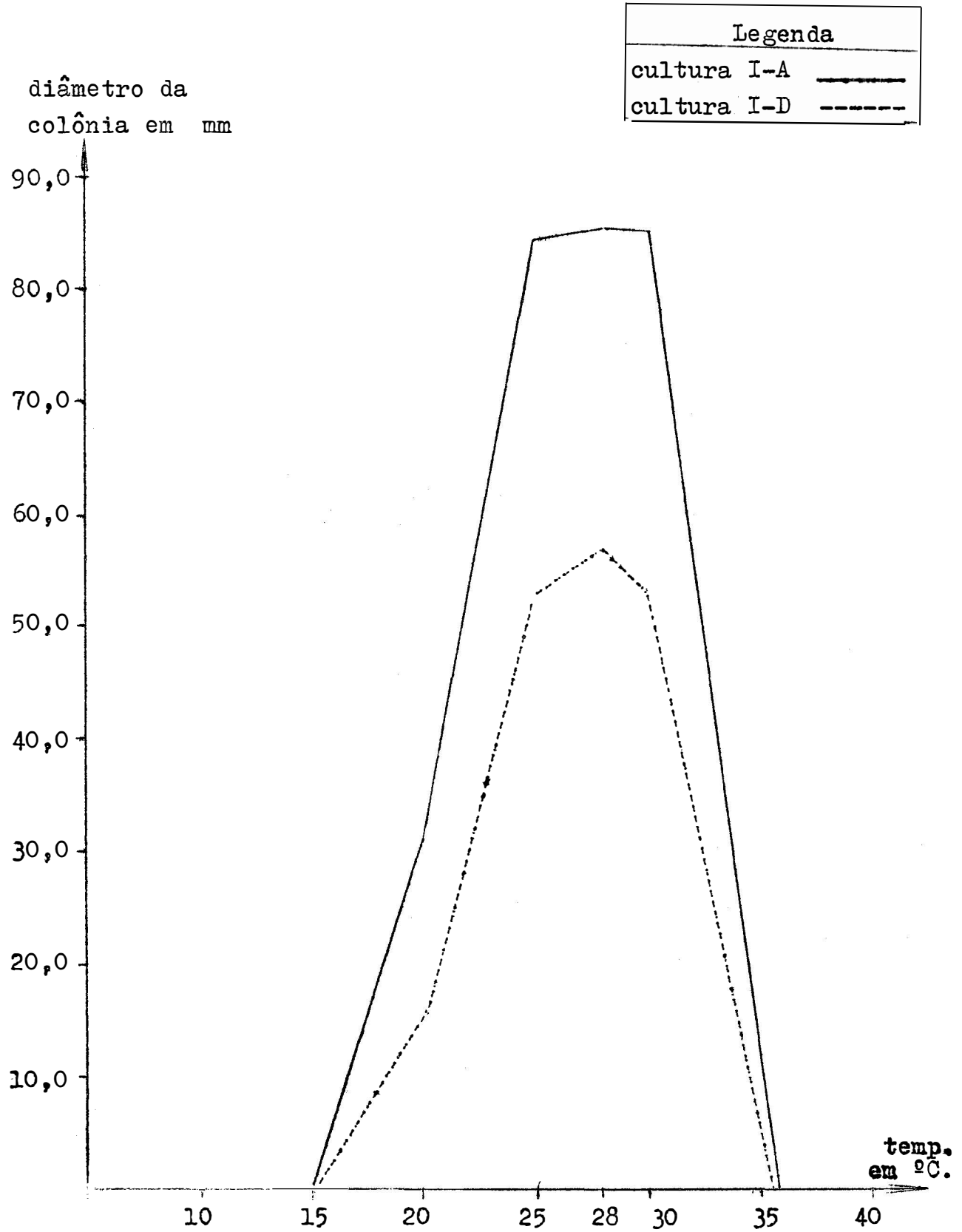
Obs:- os dados referem-se à média de 5 repetições.

b) Substrato:- de um modo geral, os isolamentos de C. paradoxa crescem rápida e vigorosamente em meio de cultura sólido ou líquido, indistintamente. Pudemos observar, entretanto, que uma das culturas estudadas, a cultura I-D, apresentou um desenvolvimento mais vigoroso em meio líquido do que em meio sólido. Enquanto que em meio sólido esta cultura tinha tendência à formação de macroconídios hialinos, em meio líquido produziu macroconídios pigmentados, em todos os aspectos semelhantes aos das demais culturas. Além disso, o seu desenvolvimento, lento em meio sólido, foi rápido em meio líquido, embora sempre inferior às demais culturas.

c) Temperatura e pH:- com relação à influência da temperatura e do pH sobre as diversas culturas, observamos tam

GRÁFICO Nº 1

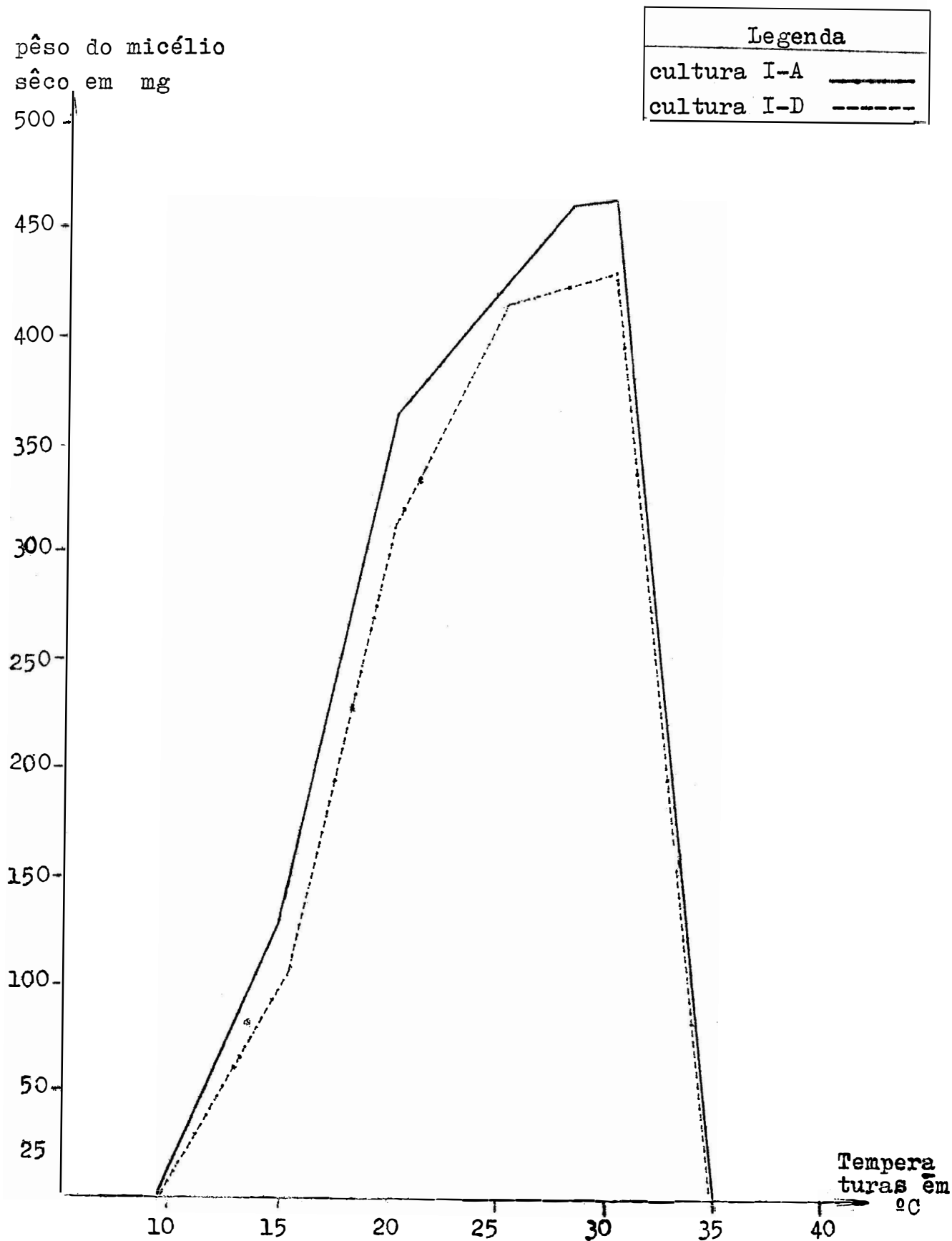
Vigor de culturas de Ceratocystis paradoxa



Curvas de crescimento das culturas I-A e I-D, em diferentes temperaturas, em meio de batata, dextrose e agar. Leitura feita com 40 horas.

GRÁFICO Nº 2

Vigor de culturas de Ceratocystis paradoxa



Curvas de crescimento das culturas I-A e I-D, em diferentes temperaturas e em meio líquido.

bém um comportamento diferente entre elas. Este assunto, mais adiante, será tratado com maiores detalhes.

d) Patogenicidade:- nos estudos que procedemos a respeito, não observamos diferenças quanto à patogenicidade entre as diversas culturas, pois, tôdas elas mostraram-se bastante patogênicas aos toletes de cana-de-açúcar em germinação.

4.3.3.2 - Discussão

Com relação às variações culturais de Ceratocystis paradoxa, encontramos na literatura algumas referências sôbre o assunto. JOHNSON & VALLEAU (1935), trabalhando com Thielaviopsis basicola, espécie afim de T. paradoxa, observaram variações nas suas culturas. Os autores, partindo de uma única cultura monospórica, obtiveram 30 culturas monospóricas, as quais apresentaram numerosas variações, aparecendo inclusive, uma cultura albina. Segundo aquêles autores, "The cause of cultural variations of imperfect fungi is unknown and will be difficult of solution until more is known of their nuclear constitution. There seems to be some genetic significance to the changes observed, although they occur in what now appears to be random manner".

MITCHELL (1937), em isolamentos de T. paradoxa obtidos sôbre bananeira, abacaxi e cana-de-açúcar, estudou variações de T. paradoxa. Por inoculações cruzadas, verificou que o isolamento obtido de bananeira era pouco patogênico para o abacaxi e cana-de-açúcar, enquanto que os isolamentos obtidos dessas espécies eram semelhantes na sua patogenicidade, inclusive sôbre bananeira. Observou também variações morfológicas nas culturas estudadas. Baseado nestes resultados, o autor propôs uma nova variedade para o isolamento obtido sôbre bananeira, T. paradoxa var. musarum.

EDGERTON (1955) menciona a existência de trabalhos sôbre a **ocorrência** de linhagens de T. paradoxa. Ressalva, entretanto, que na sua opinião, os trabalhos não foram conclusivos.

Embora os trabalhos experimentais em laboratório, que realizamos, tenham mostrado que C. paradoxa apresenta variações culturais intensas, realmente, com os elementos que dispomos, é

b) Pêso do micélio sêco:- os resultados alcançados com o emprêgo desta técnica, estão apresentados no quadro nº.. 17, abaixo:

QUADRO Nº 17

Pêso do micélio sêco a diferentes temperaturas.
(pêso expresso em mg)

Culturas	T e m p e r a t u r a s					
	15°C	20°C	25°C	28°C	30°C	35°C
I-A	130	362	422	460	465	45
I-B	150	300	325	382	422	35
I-C	90	357	432	440	465	40
I-D	100	310	420	425	437	60
I-E	97	400	450	452	432	10

4.3.4.2 - Discussão

O conhecimento da influência da temperatura sôbre o crescimento de C.paradoxa tem sido objeto de estudo por parte de vários autores, pois, é um dos fatores mais significativos na incidência da podridão abacaxi.

Assim, na literatura sôbre o assunto encontramos diversos trabalhos de determinação das temperaturas de crescimento de C.paradoxa. Os resultados pelos diversos autores, encontram-se resumidos no quadro 18; neste quadro, para maior clareza, enquadrámos também os resultados que obtivemos.

Pelo exame do quadro nº 18, verificamos que os diversos autores obtiveram, em diferentes épocas e locais, resultados diferentes nas determinações a que procederam. Não obstante essas diferenças, podemos verificar que, via de regra, as temperaturas máxima e mínima estão em tórno de 10 e 35°C, com o ótimo oscilando entre 25 e 30°C, números que correspondem aos que determinamos em nossos trabalhos.

QUADRO Nº 18

Temperaturas de crescimento de C. paradoxa

Autor e local	Temperatura (°C)		
	mínima	ótima	máxima
AMES (1915), USA	10	30	36
FULTON (1922), USA	10	25	--
KLOTZ & FAWCETT (1931), USA	--	24-27,5	32
MITCHELL (1937), Queensland			
isolamento sôbre <u>Musa</u> sp. ..	--	24-26	--
idem, sôbre <u>Musa</u> sp.	--	32-34	--
idem, sôbre <u>Ananas sativus</u> ..	--	29-30	--
idem, sôbre <u>Saccharum</u> sp. ., .	--	34-36	--
Kiryu em 1939, Formosa	13	25-31	34
Chi em 1949, Formosa	10	28	34
CARVALHO (1963), Brasil	10	25-30	35

Obs.- Kiryu em 1939 e Chi em 1949, segundo WISMER (1961).

Um fato que queremos ressaltar, é a existência de diferenças no comportamento com relação à temperatura, entre os vários isolamentos. Isto explicaria, não somente as divergências entre os vários autores, como também os resultados ligeiramente divergentes encontrados nos nossos trabalhos, não apenas entre as várias culturas, como principalmente, de acordo com o método empregado.

Este comportamento fisiológico diferente, que se refletiria não apenas com relação à temperatura, mas provavelmente, com relação a outras condições ambientais, poderiam ter grande significação na incidência da podridão abacaxi dos toletes de cana-de-açúcar. Se realmente existem linhagens de comportamento diverso com relação à temperatura e demais condições ambientais, poderíamos supor um comportamento análogo no campo, quando teríamos uma maior amplitude de variação climática, favorável à incidência de C. paradoxa sôbre os toletes de cana.

4.3.5 - Influência do pH sôbre C.paradoxa.

4.3.5.1 - Apresentação

Os resultados obtidos na determinação da influência do pH sôbre o crescimento de C.paradoxa, estão relacionados no quadro nº 19.

QUADRO Nº 19

Influência do pH sôbre C.paradoxa
(expresso em mg)

Cultura	2,2	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0
I-A	65	270	315	325	270	150	15	tr.
I-B	40	270	310	315	320	200	20	tr.
I-C	30	240	290	310	310	270	15	tr.
I-D	tr.	275	310	305	300	280	10	tr.

Obs.- a cultura I-E foi perdida acidentalmente.

4.3.5.2 - Discussão

Na literatura que consultamos, encontramos algumas referências a trabalhos análogos. Segundo WISMER (1961), Kiryu em 1939, em Formosa, verificou o crescimento de C.paradoxa em pH entre 1,7 a 11, com um ótimo entre 5,5 e 6,3; e, segundo o mesmo autor, Chi, em 1949, também em Formosa, determinou os limites de pH entre 3 e 9, com um ótimo entre 5 e 7.

Nas nossas determinações, C.paradoxa cresceu entre os limites de 2,2 a 9, com um bom desenvolvimento entre 3 e 7. O ótimo situou-se entre 4,0 e 6,0, na dependência da cultura examinada. Via de regra, o ótimo de pH estêve entre 5,0 e 6,0.

As mesmas considerações da temperatura sôbre C.paradoxa, podem ser aplicadas com relação à influência do pH. Os resultados obtidos fazem prever um comportamento fisiológico - diferente entre os diversos isolamentos, que reagiriam de um modo diverso aos estímulos ambientais.

4.3.6 - Influência de NPK na incidência de *C. paradoxa* sobre os toletes de cana-de-açúcar.

4.3.6.1 - Apresentação

A coleta dos resultados deste ensaio foi feita 15 dias após a sua instalação.

De acordo com os resultados obtidos, verificamos o seguinte: todos os toletes plantados em areia estéril, não inoculada, germinaram independentemente da solução nutritiva com que foram tratados. Já aqueles plantados em areia inoculada com *C. paradoxa*, falharam em sua totalidade, independentemente da cultura com que foram inoculados e dos diversos tratamentos feitos com as soluções nutritivas. Tivemos assim, 100% de germinação nas testemunhas e 100 de falhas entre os vasos inoculados, quaisquer que fossem os tratamentos com nitrogênio, fósforo e potássio.

4.3.6.2 - Discussão

O exame dos resultados do ensaio foram conclusivos de que, nas condições da experiência, a presença ou não de nitrogênio, fósforo e potássio, aplicados isolada ou simultaneamente, não influem na incidência da podridão abacaxi dos toletes de cana-de-açúcar.

Acreditamos que esses resultados podem ser explicados, provavelmente, pelo fato dos toletes conterem todos os elementos necessários ao bom desenvolvimento do fungo e em quantidade tal, que não seja necessária a utilização dos alimentos em solução no solo. Os esporos de *C. paradoxa* permaneceriam livres no solo, e quando as condições ambientes fossem favoráveis germinariam, e em presença dos toletes, o micélio nêle penetraria através das suas extremidades e se desenvolveria independentemente das substâncias nutritivas solutas no solo.

Uma outra observação importante, é que não houve diferença, quanto à patogenicidade, entre as diversas culturas, todas apresentando um comportamento semelhante.

4.4 - Contrôle de Ceratocystis paradoxa e outros fungos patogênicos do solo.

4.4.1 - Experimentos de campo.

4.4.1.1 - Apresentação

Conforme o exposto, foram instalados dois experimentos de campo, um na Usina Santa Bárbara e outro na Usina Piracicaba; para maior clareza na exposição, êsses experimentos serão apresentados separadamente.

4.4.1.1.1 - Experimento instalado na Usina Santa Bárbara.

Neste experimento, a coleta dos resultados foi feita em duas oportunidades: a primeira, com 90 dias após o plantio, quando foi feita a contagem dos brotos, a fim de se conhecer a germinação dos toletes, e a segunda, com o canavial já formado, a fim de se conhecer os dados de produção.

a) Brotação dos toletes de cana:- os resultados obtidos estão expostos no quadro nº 20.

QUADRO Nº 20

Brotação dos toletes de cana-de-açúcar.

Tratamentos	Numero de brotos		
	1ª época	2ª época	3ª época
Testemunha	279	207	51
Neantina	775	342	101
Biosan	794	333	77
Shellsan	874	338	86
Granosan 200	803	304	64

Análise estatística

O experimento foi feito em parcelas subdivididas, com três épocas e cinco tratamentos.

Os dados foram transformados, para efeito de análise, tomando-se as raízes quadradas dos mesmos. Os resultados obtidos pela análise da variância, constam do quadro nº 21.

QUADRO Nº 21
Análise da variância

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Blocos	3	1,9828	0,6609
Épocas	2	766,1552	383,0776 * *
Resíduo (a)	6	5,0973	0,8496
Parcelas	(11)	(773,2353	
Tratamentos	4	83,0449	20,7612 * *
Trat. x épocas	8	46,9490	5,8686 * *
Resíduo (b)	36	9,1985	0,2555
Total	59	912,4277	

Houve um efeito significativo ao nível de 1% de probabilidade para épocas e tratamentos, e para a interação tratamentos x épocas.

A seguir, foram desmembrados os graus de liberdade de tratamentos e da interação tratamentos x épocas, conforme o esquema abaixo:

QUADRO Nº 22

	G.L.
Testemunha v. fungicidas	1
Entre fungicidas	3
Test. v. fungic. x épocas	2
Entre fungicidas x épocas	6

A nova análise da variância consta do quadro nº 23, a seguir:

QUADRO Nº 23

Análise de variância

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Blocos	3	1,9828	0,6609
Épocas	2	766,1552	383,0776 * *
Resíduo (a)	6	5,0973	0,8496
Parcelas	(11)	(773,2353)	
Test. v. fungic.	1	80,9101	80,9101 * *
Entre fungicidas	3	2,1348	0,7116
Test.v.fung.x ép.	2	44,6643	22,3322 * *
Entre fung. x ép.	6	2,2847	0,3808
Resíduo	36	9,1985	0,2555
Total	59	912,4277	

Houve um efeito significativo, ao nível de 1% de probabilidade para épocas, testemunha v. fungicidas, e para a interação testemunha v. fungicidas x épocas.

As médias com os dados transformados, tôdas com um erro padrão de 0,27, foram as seguintes:

Testemunha	=	6,35
Neantina	=	9,38
Biosan	=	9,18
Shellsan	=	9,51
Granosan 200	=	8,95

As médias dos dados originais (calculadas a partir das médias transformadas), foram:

Testemunha	=	40,32
Neantina	=	87,98
Biosan	=	84,27
Shellsan	=	90,44
Granosan 200	=	80,10

A diferença mínima significativa, calculada pelo tes

te de Tukey, para as médias transformadas dos fungicidas (excluindo-se a testemunha), foi de $\Delta = 0,57$. Os coeficientes de variação foram:

C.V. (parcelas) = 10,62%

C.V. (subparcelas) = 5,82%

b) Produção de canas:- os resultados obtidos na colheita das canas, estão expostos no quadro nº 24, abaixo:

QUADRO Nº 24

Produção de canas

(expressa em número de canas e peso em quilos)

Tratamentos	1ª época		2ª época		3ª época	
	nº	pêso	nº	pêso	nº	pêso
Testemunha	1.028	1.231	927	828	623	495
Neantina	1.371	1.650	1.073	1.180	743	665
Biosan	1.359	1.634	1.020	1.113	669	557
Shellsan	1.439	1.689	1.073	1.180	753	602
Granosan 200	1.408	1.615	972	948	679	487

Análise estatística

Foi feita a análise da variância, seguindo-se também o esquema das parcelas subdivididas, com o seguinte resultado:

QUADRO Nº 25

Análise da variância

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Blocos	3	106,621	35,540
Épocas	2	629,212	314,606* *
Resíduo (a)	6	12.529	2.088
Parcelas	(11)	(748,362)	
Tratamentos	4	46.177	11,544* *
Trat. x épocas	8	14.473	1.809
Resíduo (b)	36	42.460	1.179
Total	59	851.472	

Houve um efeito significativo para épocas e para tratamentos, ao nível de 1% de probabilidade.

A seguir, desmembramos os graus de liberdade de tratamentos, conforme o esquema abaixo:

QUADRO Nº 26

	G.L.
Testemunha x fungicidas ...	1
Entre fungicidas	3

QUADRO Nº 27

Análise da variância

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Blocos	3	106,621	35,540
Épocas	2	629,212	314,606 * *
Resíduo (a)	6	12,529	2,088
Parcelas	(11)	(748,362)	
Testem. v. fungicidas	1	37,450	37,450 * *
Entre fungicidas	3	8,727	2,909
Tratam. x épocas	8	14,473	1,808
Resíduo (b)	36	42,460	1,179
Total	59		

Com o desmembramento dos graus de liberdade, vemos que houve o efeito significativo, ao nível de 1% de probabilidade para o contraste testemunha v. fungicidas.

As médias, todas com um erro padrão de 9,91 kg, foram as seguintes:

Testemunha = 212,83 kg
 Biosan = 291,25 kg
 Neantina = 275,33 kg

Shellsan = 280,42 kg

Granosan 200 = 254,17 kg

A diferença mínima significativa, calculada pelo método de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para as médias dos fungicidas (excluindo-se a testemunha) foi de $\Delta = 37,76$

Os coeficientes de variação foram:

C.V. (parcelas) = 17,39%

C.V. (subparcelas) = 13,06%

c) Pêso unitário médio das canas:- os resultados obtidos estão expostos no quadro nº 28.

QUADRO Nº 28

Pêso unitário médio das canas.
(expresso em kg)

Tratamentos	1ª época	2ª época	3ª época
Testemunha	1,197	0,893	0,794
Neantina	1,203	1,099	0,895
Biosan	1,202	1,091	0,832
Shellsan	1,173	1,099	0,799
Granosan 200	1,147	0,975	0,717

Análise estatística.

A análise da variância, segundo o esquema de parcelas subdivididas, foi o seguinte:

QUADRO Nº 29

Análise de variância

C.variação	G.L.	S.Q.	
Blocos	3	0,7785	0,2595 *
Épocas	2	1,5017	0,7508 * *
Resíduo (a)	6	0,2840	0,0473
Parcelas	(11)	(2,5642)	
Tratamentos	4	0,1372	0,0343 *
Tratamentos x épocas	8	0,0640	0,0080
Resíduo (b)	36	0,3407	0,0095
Total	59	3,1061	

Houve um efeito significativo ao nível de 5% de probabilidade para tratamentos e ao nível de 1% para épocas.

Em seguida, foram desmembrados os graus de liberdade de de tratamentos, como se seguem:

QUADRO Nº 30

	G.L.
Testemunha v. fungicidas	1
Entre fungicidas	3

A nova análise da variância está exposta no quadro nº 31.

QUADRO Nº 31

Análise da variância

C.variação	G.L.	S.Q.	Q.M..
Blocos	3	0,7785	0,2595 *
Épocas	2	1,5017	0,7508 * *
Resíduo (a)	6	0,2840	0,0473
Parcelas	(11)	(2,5642)	
Testem. v. fungic.	1	0,0260	0,0260
Entre fungicidas	3	0,1111	0,0370 *
Tratam. e épocas	8	0,0640	0,0080
Resíduo (b)	36	0,3407	0,0095
Total	59		

Com o desmembramento dos graus de liberdade, observa-se um efeito significativo ao nível de 5% de probabilidade entre fungicidas.

As médias, tôdas com um erro padrão de 0,03 kg, foram as seguintes:

Testemunha = 0,95 kg
Neantina = 1,06 kg
Biosan = 1,04 kg
Shellsan = 0,98 kg
Granosan 200 = 0,94 kg

A diferença mínima significativa, calculada pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, foi de $\Delta = 0,12$.

Os coeficientes de variação foram:

C.V. (parcelas) = 21,97%

C.V. (subparcelas) = 10,83%

4.4.1.1.2 - Experimento instalado na Usina Piracicaba.

Neste experimento foram coletados apenas os dados de brotação dos toletes de cana-de-açúcar, visando o conhecimento da sua germinação. A contagem dos brotos foi feita com 90 dias após o plantio.

Os resultados obtidos estão expostos no quadro nº..

32.

QUADRO Nº 32

Brotação dos toletes de cana-de-açúcar

Tratamentos	número de brotos	
	1ª época	2ª época
Testemunha	240	360
Neantina	396	620
Biosan	578	600
Shellsan	334	489
Granosan 200	288	380

Obs:- O plantio correspondente à 2ª época foi considerado perdido, em virtude da germinação ter sido extremamente baixa.

Análise estatística

Foram analisadas somente a 1ª e 3ª épocas, por perda da 2ª; o esquema seguido foi o de parcelas subdivididas.

Os dados foram transformados para efeito de análise, tomando-se as raízes quadradas dos dados originais.

A análise de variância está exposta no quadro nº 33.

QUADRO Nº 33

Análise da variância

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Blocos	3	6,2234	2,0745
Épocas	1	24,7433	24,7433 * *
Resíduo (a)	3	0,5573	0,1858
Parcelas	(7)	(31,5240)	
Tratamentos	4	66,2619	16,5655 * *
Tratam. x épocas	4	5,4538	1,3634
Resíduo (b)	24	40,8369	1,7015
Total	39	144,0766	

Houve um efeito significativo ao nível de 1% de probabilidade para épocas e tratamentos.

Foram desmembrados os graus de liberdade de tratamentos, conforme o esquema constante no quadro nº 34.

QUADRO Nº 34

G.L.	
Testemunha v. fungicidas	
Entre fungicidas	3

A nova análise da variância foi:

QUADRO Nº 35

Análise de variância

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Blocos	3	6,2234	2,0745
Épocas	1	24,7433	24,7433 * *
Resíduo (a)	3	0,5573	0,1858
Parcelas	(7)	(31,5240)	
Testem. v. fungicidas	1	25,2810	25,2810 * *
Entre fungicidas	3	40,9809	13,6603 * *
Tratam. x épocas	4	5,4538	1,3634
Resíduo (b)	24	40,8369	1,7015
Total	39		

Houve um efeito significativo ao nível de 1% de probabilidade para testemunha v. fungicidas e entre fungicidas.

As médias transformadas dos tratamentos, tôdas com um erro padrão de 0,46, foram as seguintes:

Testemunha	=	8,58
Neantina	=	11,14
Biosan	=	12,06
Shellsan	=	10,02
Granosan 200	=	9,06

As médias dos dados originais, calculadas a partir das médias transformadas, foram:

Testemunha	=	73,62
Neantina	=	124,10
Biosan	=	145,44
Shellsan	=	100,40
Granosan 200	=	82,08

A diferença mínima significativa, calculada pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade para as quatro

médias dos fungicidas (excluindo-se a testemunha), $f_{0.1} = 1,79$.

Os coeficientes de variação foram:

C.V. (parcelas) = 4,23%

C.V. (subparcelas) = 12,8%

4.4.1.2 - Discussão

A idéia do contrôle da podridão-abacaxi causada por Ceratocystis paradoxa através do tratamento dos toletes, é bastante antiga. Desde a descrição da doença, numerosos trabalhos foram feitos, com a utilização dos mais diversos produtos. Segundo DANTAS (1956), o asfalto e a calda bordalesa foram empregados com relativo sucesso, mas, o tratamento dos toletes somente se tornou prática corrente com o advento dos fungicidas mercuriais orgânicos, utilizados pela primeira vez por Urata em 1931, no Hawai. Urata, entretanto, empregou o tratamento por via sêca que, não obstante sua eficiência, apresentava inconvenientes na sua aplicação. Foram os trabalhos de MC MARTIN (1936, 1937, 1945, 1945a, 1947 e 1949), quando foram empregados fungicidas organo-mercuriais solúveis, que tornaram a prática de tratamento dos toletes de uso corrente e disseminado por quase tôdas as regiões canavieiras do globo.

As pesquisas de MC MARTIN tornaram-se clássicas, tendo aquêle autor concluído, após vários anos de trabalho, que o emprêgo dos fungicidas mercuriais orgânicos ofereciam um meio satisfatório de contrôle da podridão abacaxi; observou também uma aceleração na germinação dos toletes e estímulo na perfilhação e desenvolvimento das touceiras. Nos seus trabalhos foram utilizados mais de uma dezena de produtos, obtendo resultados altamente significativos, como os que resumimos na página seguinte.

QUADRO Nº 36

Experimento instalado por MC MARTIN (1949)
em Mount Edgecombe Experiment Station.

Fungicida	% contrôle	nº brotos
Phygon a 0,5%	63	678
Aretan a 0,5%	57	560
Dowcide H a 0,5%	55	470
Hortosan DP a 0,21%.,	55	904
Abavit S a 0,5%	51	604
R 1334 x 14 a 1%	48	774
Verdasan a 0,2%	39	466
Agrosan GN a 1%	35	532
Testemunha	6	44

Este experimento, entre os muitos instalados por MC MARTIN, tornou aceito por todos o efeito estimulante dos fungicidas mercuriais orgânicos, paralelamente à sua ação de controle da podridão abacaxi, embora MC MARTIN o mencionasse com reservas.

VAN DILLEWJIN (1952) realça a ação estimulante dos tratamentos com fungicidas mercuriais orgânicos sobre a germinação dos toletes.

Experimentos correlatos aos citados foram instalados em tôdas as regiões canavieiras do globo, sendo o assunto estudado por diversos pesquisadores, entre os quais destacamos EVANS & WIEHE (1947) que obtiveram um aumento da produção de cana-de-açúcar de quatro toneladas por acre. CHU (1950), STORY (1952), MUNGOMERY (1953), HUGHES (1954), ANTOINE (1956), entre muitos outros, obtiveram resultados significativos, confirmando os de Mc Martin.

No Brasil, foi VEIGA (1948) quem estudou o assunto pela primeira vez no Estado do Rio de Janeiro, obtendo 408 brotos nos toletes tratados com Abavit contra 134 brotos no lote testemunha.

DANTAS (1956, 1956a, 1957 e 1958), no Estado de Per

nambuco, instala uma série de experimentos, obtendo resultados altamente significativos.

SOUZA (1960) no Estado do Rio de Janeiro, obtém resultados similares ao de VEIGA (1948), com o uso de Shellsan.

Na literatura ao nosso alcance, não encontramos referências a trabalhos similares realizados no Estado de São Paulo.

Os resultados que obtivemos, foram semelhantes aos encontrados na literatura sobre o assunto. Para maior clareza, iremos examiná-los separadamente.

a) Brotação dos toletes de cana:- nos dois experimentos, os resultados obtidos foram significativos para épocas e tratamentos.

No experimento instalado na Usina Santa Bárbara, este resultado tem particular interesse porque, em todas as épocas, inclusive na favorável ao plantio, o tratamento fungicida apresentou resultados altamente significativos. Ainda mais, justamente na primeira época é que os resultados entre os toletes tratados com fungicidas contra testemunha foram mais expressivos.

Este fato, ou seja, a reação positiva ao tratamento fungicida, nas três épocas de plantio, diverge das observações de ARRUDA (1946) que afirma "Como fator de apodrecimento dos toletes, debaixo da terra, ocorre nas mesmas condições expostas para a podridão vermelha, ou nas plantações tardias, isto é, de meados de Março em diante, quando a falta de chuvas e as temperaturas mais baixas retardam a germinação e favorecem o desenvolvimento do parasita."

Quanto à eficiência dos diversos produtos utilizados, não houve diferença significativa entre eles, embora os resultados obtidos com Granosan 200 fôssem inferiores aos demais.

No experimento instalado na Usina Piracicaba, os resultados obtidos apresentam algumas divergências, se comparados com o experimento anterior, no que diz respeito à eficiência dos fungicidas, que pode ser resumida:

Biosan não difere estatisticamente de Neantina.

Neantina não difere estatisticamente de Shellsan.
Shellsan não difere estatisticamente de Granosan 200
Granosan 200 não difere estatisticamente da teste--
munha.

Biosan e Neantina diferem estatisticamente da tes--
temunha.

Nas duas épocas de plantio, houve eficiência dos fungicidas; queremos ressaltar o fato de que, justamente a terceira época, a menos favorável, foi a que apresentou a melhor brotação.

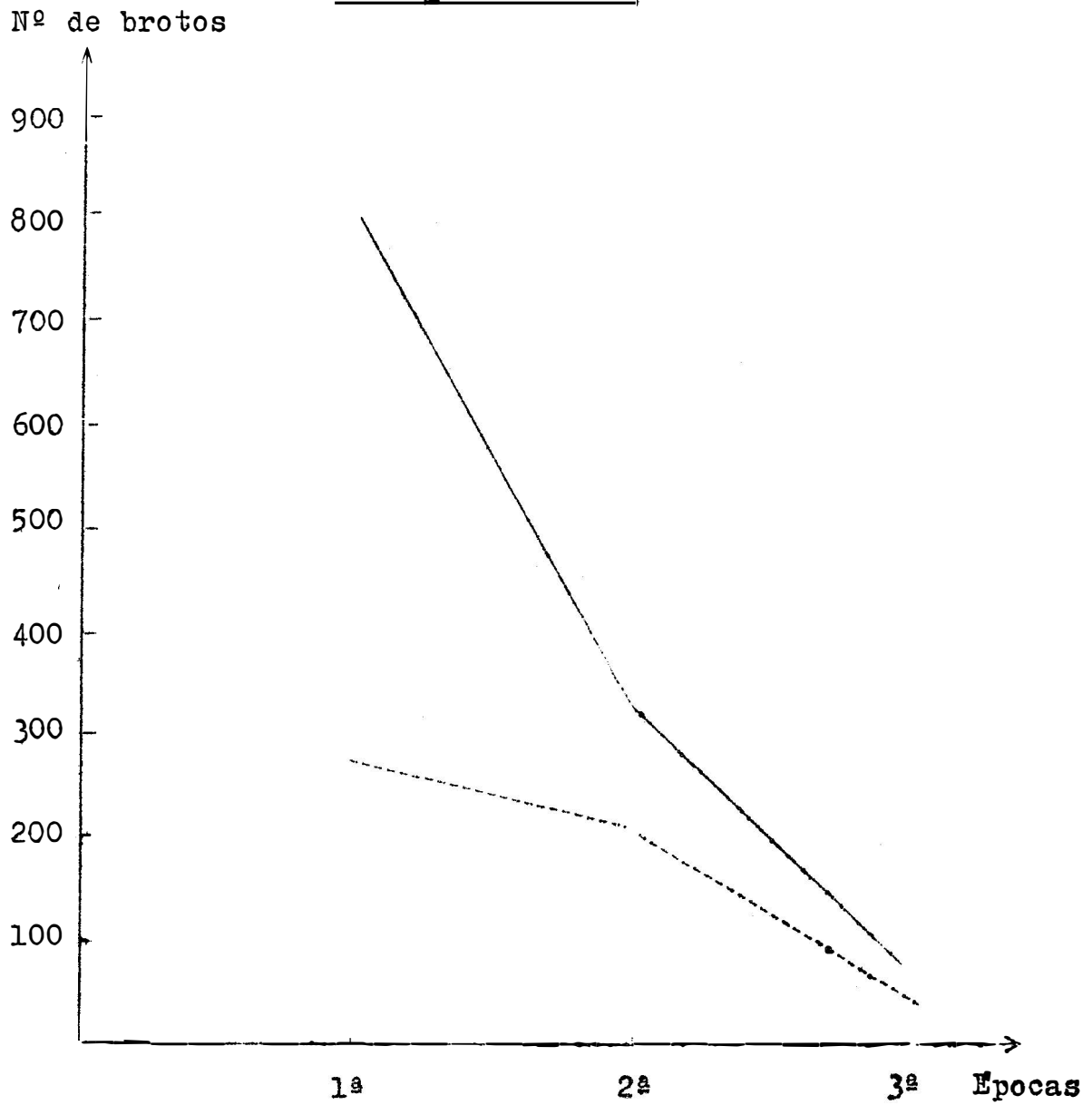
Os resultados obtidos no experimento da Usina Piraicaba, aonde os fungicidas, de um modo geral, apresentaram uma eficiência menor do que no outro experimento, são explicáveis pelo fato do solo não estar contaminado por Ceratocystis paradoxa, o principal agente das podridões dos toletes de cana-de-açúcar. Os resultados obtidos tem o seu valor, principalmente pelo fato de mostrarem que o tratamento dos toletes é uma prática agrícola favorável, mesmo na ausência de C. paradoxa, pois, o simples controle de parasitas fracos do solo, redundam em benefício para a germinação dos canaviais.

Pelo exame dos dados de brotação obtidos nestes dois experimentos, poderíamos ser levados a concordar com a assertiva geralmente aceita, de que os fungicidas mercuriais-orgânicos estimulam a germinação e o perfilhamento das canas. Entretanto, como iremos verificar quando do estudo do experimento em casa de vegetação, não podemos concordar com tal.

b) Produção de canas:- comparando-se os dados obtidos na colheita das canas com aqueles da contagem do número de brotos, verificamos que os resultados são correlatos. Este fato é importante, pois na literatura consultada e citada anteriormente, quase a totalidade dos experimentos baseou-se, exclusivamente, na contagem do número de brotos, partindo do princípio que, uma diferença no "stand" de germinação aos 90 dias, seria mantida até a coleta final das canas. Os dados que obtivemos, comprovaram a procedência desta afirmação.

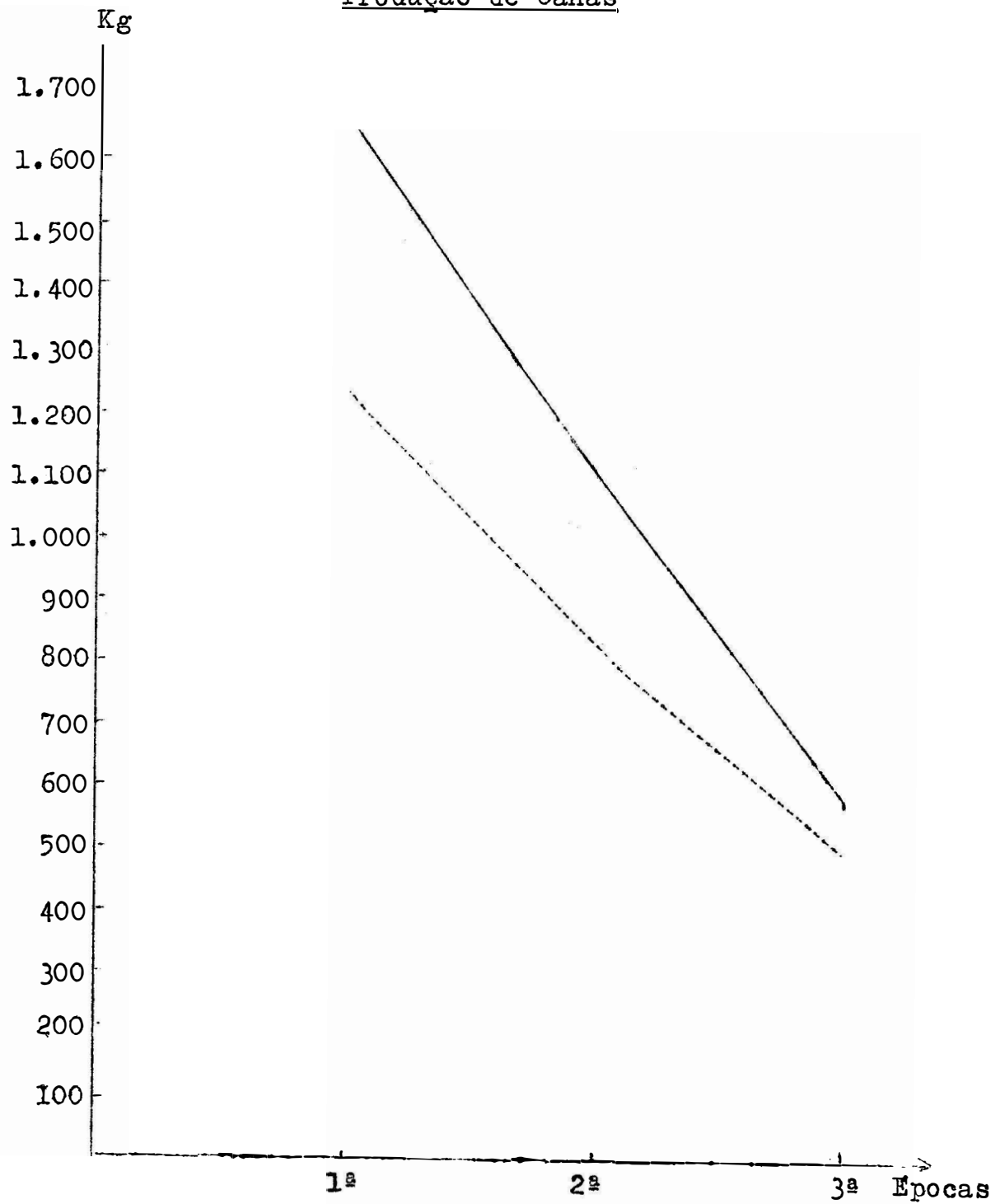
Na produção de canas do experimento instalado na Usina Santa Bárbara, houve uma resposta significativa para épocas e tratamentos.

GRÁFICO Nº 3
Experimento Instalado na Usina Sta. Bárbara
Brotação de Canas



Legenda	
—	Média dos Fungicidas
- - - -	Testemunha

GRÁFICO Nº 4
Experimento Instalado na Usina Sta. Bárbara
Produção de Canas



Legenda	
Média dos Fungicidas	—————
Testemunha	- - - - -

Com relação às épocas, os resultados mais expressivos correspondem ao plantio feito na primeira época, justamente a mais favorável.

Entre os fungicidas empregados, da mesma forma que com relação à brotação das canas, Granosan 200 foi ligeiramente inferior aos demais.

A título de ilustração e para que haja uma melhor visualização dos resultados, organizamos o quadro nº 37, no qual transformamos os dados de produção de cana obtidos, em toneladas por hectare.

QUADRO Nº 37

Produção de canas em toneladas por hectare.
Experimento instalado na Usina Santa Bárbara.

Tratamento	1ª época	2ª época	3ª época
Testemunha	68,32	45,95	27,47
Neantina	90,46	64,95	36,90
Biosan	90,68	61,77	30,91
Shellsan	93,73	59,60	36,74
Granosan 200	89,63	52,61	27,02

c) Pêso unitário médio das canas:- no experimento instalado na Usina Santa Bárbara, verificamos com referência ao pêso unitário das canas, que houve um efeito significativo ao nível de 1% para épocas e ao nível de 5% para os tratamentos. A diferença significativa para épocas era esperada, em virtude de termos tido épocas favoráveis e desfavoráveis para o plantio. Já quanto a tratamentos, conforme pode ser verificado na análise estatística, a diferença encontrada é de pouca significação.

Isto pôsto, torna-se difícil qualquer conclusão a respeito, pois, embora houvesse uma diferença no pêso unitário médio das canas entre aquelas oriundas de toletes tratados com fungicidas e as testemunhas, os resultados não são conclusivos e indicam a necessidade de maiores estudos a respeito.

Examinando-se todos os resultados sob o ponto de vis

ta patológico, poderemos extrair algumas conclusões interessantes. Assim o tratamento fungicida dos toletes apresenta um bom resultado, inclusive nos solos aonde não foi constatada a presença de C.paradoxa, o que nos indica que outros microrganismos do solo, possivelmente parasitas fracos, podem ser controlados com resultados benéficos para a cultura da cana-de-açúcar. Evidentemente, os resultados obtidos em solo contaminado por C.paradoxa são mais significativos.

Quanto a diferenças obtidas na produção final das canas, em parte, elas são fruto da germinação retardada e parcialmente impedida dos toletes não tratados, devido à ação de microrganismos do solo, os quais são parcialmente controlados com o tratamento dos toletes. O tratamento fungicida, criando em torno do tolete em germinação um ambiente favorável, possibilita a obtenção de uma população sadia, numerosa, a qual, se comparada com a oriunda de toletes não tratados, leva uma vantagem inicial que irá, forçosamente, refletir-se na produção final das canas.

4.4.2 - Experimento em casa de vegetação.

4.4.2.1 - Apresentação.

Os resultados obtidos no presente experimento, estão expostos nos quadros de nºs 38 a 60.

QUADRO Nº 38
Brotação dos toletes.

Tratamentos	Nº de dias após o plantio					
	10	15	20	25	30	35
Testemunha						
solo estéril.....	1	6	13	17	21	24
solo inoculado	0	1	5	6	8	13
Neantina						
solo estéril	1	6	16	18	21	22
solo inoculado	0	7	12	18	20	21
Biosan						
solo estéril	1	7	12	18	21	21
solo inoculado	3	6	11	19	20	21
Shellsan						
solo estéril	1	6	14	16	19	20
solo inoculado	1	6	14	16	22	22
Granosan 200						
solo estéril	2	5	12	14	22	22
solo inoculado	1	4	15	20	21	21

Obs:- A brotação permaneceu constante a partir do 35º dia após o plantio.

Análise estatística

Para efeito de análise, os dados foram transformados, tomando-se as raízes quadradas dos mesmos.

QUADRO Nº 39

Análise de variância.

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Tratamentos	9	1,1601	0,1289*
Resíduo	30	<u>1,5778</u>	0,0526
Total	39	2,7379	

Houve um efeito, ao nível de 5% de probabilidade, para tratamentos. A seguir, foram decompostos os graus de liberdade para tratamentos, segundo o esquema fatorial:

QUADRO Nº 40

	G.L.
Tipos de solo	1
Tipos de fungicidas	4
Solos x fungicidas	4

QUADRO Nº 41

Análise da variância.

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Tipos de solo	1	0,1918	0,1918
Tipos de fungicidas.	4	0,2274	0,0568
Solos x fungicidas..	4	0,7409	0,1852*
Resíduo	30	<u>1,5778</u>	0,0526
Total	39	2,7379	

Houve um efeito significativo, ao nível de 5% de probabilidade, para a interação solos x fungicidas, o que nos leva

a efetuar um novo desmembramento dos graus de liberdade de tratamentos, ou seja:

QUADRO Nº 42

	G.L.
Tipos de fungicidas	4
Testemunha dentro de solos	1
Neantina dentro de solos	1
Biosan dentro de solos	1
Shellsan dentro de solos	1
Granosan 200 dentro de solos ..	1

A nova análise da variância fica:

QUADRO Nº 43
Análise de variância.

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Testemunha dentro de solos..	1	0,9045	0,9045 * *
Neantina dentro de solos....	1	0,0055	0,0055
Biosan dentro de solos.....	1	0,0001	0,0001
Shellsan dentro de solos....	1	0,0171	0,0171
Granosan 200 dentro de solos	1	0,0055	0,0055
Tipos de fungicidas	4	0,2274	0,0568
Resíduo	<u>30</u>	<u>1,5778</u>	0,0526
Total	39	2,7379	

Observa-se um efeito significativo, ao nível de 1% de probabilidade, para testemunha dentro de solos, o que nos indica que a testemunha atua de modo diferente, frente aos -- dois tipos de solo.

Um outro modo de desdobrar os nove graus de liberdade de tratamentos é:

QUADRO Nº 44

	G.L.
Solos	1
Tratamentos dentro de solo estéril.	4
Idem, dentro de solo inoculado	4

QUADRO Nº 45

Análise da variância.

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Solos	1	0,1918	0,1918	3,65
Tratam. dentro solo estéril...	4	0,1085	0,0271	0,52
Tratam. dentro solo inoculado..	4	0,8598	0,2150	4,09* *
Resíduo	<u>30</u>	<u>1,5778</u>	0,0526	
Total	39	2,7379		

Houve um efeito significativo, ao nível de 1% de probabilidade, para tratamentos dentro de solo inoculado.

A seguir, desdobramos os quatro graus de liberdade de tratamentos dentro de solo inoculado, com o seguinte resultado:

QUADRO Nº 46

Análise de variância.

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Solos	1	0,1918	0,1918	3,65
Tratamentos dentro solo estéril..	4	0,1085	0,0271	0,52
Test. v. fungic.dentro solo inoc.	1	0,8570	0,8570	16,29* *
Entre fungic. dentro solo inoc...	3	0,0028	0,0009	0,02
Resíduo	<u>30</u>	<u>1,5778</u>	0,0526	
Total	39	2,7379		

Houve um efeito significativo, ao nível de 1% de probabilidade, para testemunha v. fungicidas dentro de solo inoculado.

QUADRO Nº 47

Pêso das canas.

Tratamento	peso das canas em g	
	solo estéril	solo inoculado
Testemunha	2,162	844
Neantina.....	2,351	1.558
Biosan	1,764	1,795
Shellsan	2,043	1.609
Granosan 200	2.121	1.817

Análise estatística.

QUADRO Nº 48

Análise da variância.

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Tratamentos	9	401.330	44.592* *
Resíduo	<u>30</u>	<u>239.626</u>	7.988
Total	39	640.956	

Houve um efeito significativo para tratamentos, ao nível de 1% de probabilidade. A seguir, foram decompostos os graus de liberdade de tratamentos, como se segue:

QUADRO Nº 49

	G.L.
Tipos de solo	1
Tipos de fungicidas ...	4
Solos x fungicidas	4

QUADRO Nº 50
Análise da variância.

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Tipos de solo	1	202.209	202,209* *
Tipos de fungicidas...	4	70,484	17,621
Solos x fungicidas ...	4	128,637	32,159* *
Resíduo	<u>30</u>	<u>239.626</u>	7.988
Total	39	640.956	

Houve um efeito significativo, ao nível de 1% de probabilidade para tipos de solo e para a interação solos x fungicidas.

Por um novo desdobramento dos graus de liberdade, temos:

QUADRO Nº 51
Análise da variância.

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Testemunha dentro de solos ...	1	217,141	217,141* *
Neantina dentro de solos	1	78.606	78.606* *
Biosan dentro de solos	1	3	3*
Shellsan dentro de solos	1	23.544	23.544
Granosan 200 dentro de solos..	1	11.552	11,552
Tipos de fungicidas	4	70,484	17,621
Resíduo	<u>30</u>	<u>239.626</u>	7.988
Total	39	640.956	

Houve um efeito significativo, ao nível de 1% de probabilidade, para testemunha e Neantina, dentro de solos. O efeito significativo para Biosan dentro de solos, ao nível de 5% de probabilidade, não deve ser levado em consideração, pois, foi determinado através do teste de F, com a tabela $F < 1$

Desdobrando-se os nove graus de liberdade, temos:

QUADRO Nº 52

	G.L.
Solos	1
Tratamentos dentro de solo estéril....	4
Tratamentos dentro de solo inoculado..	4

QUADRO Nº 53

Análise da variância.

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Solos	1	202,209	202,209	27,18* *
Tratam. dentro de solo estéril.	4	41,604	10,401	1,30
Tratam.dentro de solo inoculado	4	157,517	39,379	4,93* *
Resíduo	30	239.626	7.988	
Total	39	640.956		

Houve um efeito significativo, ao nível de 1% de probabilidade, para solos e para tratamentos dentro de solo inoculado. A seguir, desdobramos os quatro graus de liberdade de tratamentos dentro de solo inoculado, como se segue:

QUADRO Nº 54

Análise da variância.

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F.
Solos	1	202.209	202.209	
Tratam. dentro de solo estéril,.	4	41.604	10,401	
Test. v. fung.dentro solo inoc,.	1	144.756	144,756	18,12* *
Entre fung. dentro solo inoc,.,.	3	12.761	4,254	0,53
Resíduo	30	239.626	7.988	
Total	39	640.956		

Houve um efeito significativo, ao nível de 1% de probabilidade, para testemunha v. fungicidas, dentro de solo inoculado.

QUADRO Nº 55
Pêso unitário das canas

Tratamentos	pêso unitário em g	
	solo estéril	solo inoculado
Testemunha	90,08	64,92
Neantina	106,86	69,42
Biosan	84,00	85,47
Shellsan	102,15	73,13
Granosan 200 ..	96,40	86,52

Análise estatística

QUADRO Nº 56
Análise da variância.

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Tratamentos	9	6.981,86	775,76
Resíduo	<u>30</u>	<u>11.262,02</u>	375,40
Total	39	18.243,88	

Para obtermos maiores detalhes, desdobramos os graus de liberdade de tratamentos conforme o esquema:

QUADRO Nº 57

	G.L.
Tipos de solo	1
Tipos de fungicidas	4
Solos x fungicidas	4

QUADRO Nº 58
Análise da variância.

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Tipos de solo	1	3.810,31	3.810,31 * *
Tipos de fungicidas	4	1.512,16	378,04
Solos x fungicidas	4	1.659,39	414,85
Resíduo	<u>30</u>	<u>11.262,02</u>	375,40
Total	39	18.243,88	

Houve um efeito significativo, ao nível de 1% de probabilidade, para tipos de solos.

Desdobrando os nove graus de liberdade de tratamentos, conforme o esquema abaixo, temos:

QUADRO Nº 59

	G.L.
Solos	1
Tratamentos dentro de solo estéril...	4
Tratamentos dentro de solo inoculado.	4

QUADRO Nº 60
Análise da variância.

C. variação	G.L.	S.Q.	Q.M.
Solos	1	3.810,31	3.810,31 10,15* *
Trat. dentro solo estéril ..	4	1.507,58	376,90 1,00
Trat.dentro solo inoculado..	4	1,663,97	415,90 1,12
Resíduo	<u>30</u>	<u>11.262,02</u>	375,40
Total	39	18.243,88	

Houve um efeito significativo, ao nível de 1% de probabilidade, para solos, conforme já tinha sido constatado. Dentro de cada tipo de solo, não há diferença de comportamento entre os tratamentos.

4.4.2.2 - Discussão

Conforme tivemos oportunidade de verificar quando da discussão dos resultados dos experimentos de campo, foi ressaltado que, na literatura sobre o tratamento dos toletes de cana-de-açúcar, aventou-se uma possível ação estimulante dos fungicidas mercuriais orgânicos, os quais, além de controlar a podridão abacaxi, teriam efeitos benéficos sobre a brotação, perfilhamento e produção da cana-de-açúcar.

Outrossim, os resultados obtidos nos experimentos de campo, foram semelhantes aos citados na literatura, fato que, aparentemente, levaria às mesmas conclusões a respeito da ação estimulante dos fungicidas. Restaria esclarecer se o efeito estimulante seria uma consequência do controle de C. paradoxa e outros fungos patogênicos do solo, ou, se seria devido às características organolépticas dos produtos usados.

Neste sentido, instalamos o experimento em casa de vegetação, pois, se o efeito estimulante fôsse devido às características dos fungicidas, ele se faria sentir em solo estéril; e se devido à consequência do controle de C. paradoxa, não haveria diferença entre fungicidas e testemunha em solo estéril,

Realmente, esta última hipótese se fez presente. Assim, pelo exame dos resultados, verificamos que, na brotação, houve uma diferença significativa entre testemunha em solo inoculado e todos os demais tratamentos, seja em solo estéril ou inoculado. Em solo estéril, não houve diferenças entre os tratamentos fungicidas e a testemunha.

Dêste fato, podemos concluir que, nos experimentos de campo, o efeito estimulante observado nos toletes tratados, é uma consequência do controle de C. paradoxa e outros fungos patogênicos, pois, na ausência deles, não há resposta positiva aos tratamentos.

Com relação à produção das canas, podemos verificar o seguinte:

1) o peso total das canas foi maior em solo estéril do que em solo inoculado;

2) em solo estéril, não houve diferença entre testemunha e as tratadas com fungicidas;

3) em solo inoculado, os tratamentos fungicidas foram superiores à testemunha;

4) o pêsso unitário das canas em solo estéril foi maior do que em solo inoculado. Em cada tipo de solo, os tratamentos foram iguais, mesmo em solo inoculado, quando o pêsso unitário das canas provenientes de toletes tratados com fungicidas não diferiram da testemunha.

Pelo exposto acima, podemos verificar que, de acordo com os resultados do experimento instalado em casa de vegetação, a incidência de C. paradoxa sobre os toletes de cana afeta a sua produção. Neste experimento, quando as condições ambientais foram controladas, houve uma diferença significativa, não somente no pêsso total das canas, como também no seu pêsso unitário, se plantadas em solo estéril ou solo inoculado com C. paradoxa.

Com relação ao pêsso total das canas, acreditamos que o melhor "stand" de germinação observado em solo estéril e nos toletes tratados em solo inoculado, justificasse a grande diferença observada com relação a testemunha em solo inoculado. Entretanto, houve também uma diferença significativa no pêsso total das canas, entre fungicidas em solo estéril e solo inoculado, os quais apresentaram um mesmo "stand" de germinação. Logicamente, não poderemos, nestas condições, responsabilizar o "stand" de germinação como causa das diferenças observadas.

Além disso, houve diferenças significativas no pêsso unitário das canas plantadas em solo estéril e solo inoculado.

Estes fatos nos fazem prever a possibilidade de C. paradoxa, além de provocar falhas na germinação dos canaviais, apresentar uma ação inibidora qualquer no desenvolvimento dos toletes, após a sua germinação.

Esta ação inibidora de C. paradoxa poderia ser explicada, pelo que acreditamos, de duas maneiras: pela concorrência entre o microrganismo e a planta ou pela produção metabólica de uma toxina inibidora do crescimento da cana-de-açúcar.

Julgamos pouco provável ter havido uma concorrência à água e alimentos, entre o microrganismo e a planta, pois, nas condições controladas do experimento, ambos existiam em abundância.

Já com relação à última hipótese, parece-nos viável. Segundo EDGERTON (1955), da ação metabólica de C. paradoxa, há formação de acetato de etila. Sabemos que, do desdobramento glicolítico de hexoses, há formação de ácido pirúvico, que em presença de carboxilase se transforma em acetaldeído. Este, sob determinadas condições, pode sofrer uma transformação, com duas de suas moléculas dando álcool etílico e ácido acético (para detalhes, veja-se CROCOMO, 1960). Ora, no metabolismo do fungo em estudo, pode haver um mecanismo que determine uma reação de esterificação entre o etanol e ácido acético, dando acetato de etila; deve-se lembrar que essa é uma reação de esterificação comum. Resta saber, se tôdas essas reações são parte integrante do metabolismo de C. paradoxa, o que não podemos afirmar.

Vários fatos, no entanto, vem a favor de tal ocorrência. Segundo VAN DILLEWIJN(1952), pelos trabalhos de Mc Martin em 1946, foi possível "indications that the products of fermentation, which occur on the cut surface, may seriously affect -- the development of buds and roots, and that treatment with fungicides probable delays fermentation long enough to allow a vigorous development of the young organs". Entre nós, RANGEL .. (1951) e DANTAS (1956) verificaram que a ação de leveduras podem provocar falhas na germinação dos toletes. Ora, sabemos que o esquema aventado procede em leveduras, donde a possibilidade da sua ocorrência em C. paradoxa. Colabora para a aceitação daquele esquema, a formação de acetaldeído como produto intermediário, o qual, segundo LUDWIG (1960), baseado nos trabalhos de Skinner, em 1918, os aldeídos aromáticos produzidos no solo, se acumulados e em certas circunstâncias, podem afetar o crescimento das plantas.

RAND & DOPP (1938) nos Estados Unidos, verificaram que quantidades pequenas de salicilaldeído acumuladas no solo, ainda que aparentemente não prejudiquem a cana-de-açúcar, afetam o seu sistema radicular, predispondo-o à podridão de raízes causada por Pythium arrhenomanes.

Essas referências encontradas na literatura, nos orientam no sentido de serem os aldeídos aromáticos, nocivos ao crescimento da cana-de-açúcar. Se confirmada a hipótese da --

produção metabólica de acetaldeído por C. paradoxa, a sua incidência nos canaviais ganharia nova significação, pois, além de ocasionar uma queda na sua produção, predisporia a cana-de-açúcar ao complexo das podridões de raízes que, segundo EDGERTON (1955) é a mais importante das doenças da cana-de-açúcar.

Além desses fatos, segundo COOK (1939), ARRUDA (1946), EDGERTON (1955) e WISMER (1961), a podridão abacaxi é mais intensa nos períodos frios, o que coincide com a hipótese, pois, sabemos que o acetaldeído tem um ponto de volatilização baixo (21,5°C) e, desta forma, somente poderia acumular-se em quantidades suficientes nos períodos mais frios.

Queremos ressaltar que, na presente discussão, procuramos apresentar apenas evidências que indicariam a existência de toxina ou toxinas produzidas metabòlicamente por C. paradoxa, as quais poderiam desempenhar um papel importante na etiologia da podridão abacaxi, produzindo não apenas falhas na germinação dos canaviais, como também afetando o seu desenvolvimento. Existe a necessidade, de maiores estudos a respeito.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

No presente trabalho o Autor estudou as podridões dos toletes de cana-de-açúcar, um dos problemas fitopatológicos de interêsse para a lavoura canavieira.

Os trabalhos experimentais realizados para o exame do problema foram agrupados em quatro classes, que correspondem à seqüência dos trabalhos realizados: levantamento da incidência de microrganismos do solo sôbre os toletes de cana-de-açúcar, testes de patogenicidade, etiologia da podridão-abacaxi e contrôle de Ceratocystis paradoxa e outros fungos patogênicos do solo.

O levantamento da incidência de microrganismos do solo sôbre os toletes de cana-de-açúcar abrangeu a região canavieira de Piracicaba, tendo sido incluídas também, algumas amostras procedentes de outras zonas canavieiras.

Com os isolamentos obtidos no levantamento anterior, o Autor executou testes de patogenicidade, para a determinação da interferência daqueles isolamentos no processo germinativo dos toletes de cana-de-açúcar. Nestes testes, o Autor verificou que Ceratocystis paradoxa (De Seynes) Moreau foi o isolamento mais patogênico; realizou então um estudo da etiologia da podridão-abacaxi causada por aquêle microrganismo, o qual abrangeu: estudo de variações culturais, influência da temperatura, do pH e de nitrogênio, fósforo e potássio sôbre C. paradoxa.

Com relação ao contrôle de C. paradoxa e outros fungos patogênicos do solo, o Autor instalou experimentos de campo e casa de vegetação, com o emprêgo de fungicidas organo-mercuriais.

Dos resultados obtidos no presente trabalho, o Autor extraíu as seguintes conclusões:

1) Ceratocystis paradoxa, Trichoderma sp., Fusarium spp., Mellanconium sacchari, Rhizopus nigricans, Pythium arrhenomanes e Pythium spp. são isolados frequentemente, associados aos toletes não germinados. Além dêstes, são isolados ocasionalmente os seguintes: Lacellinopsis sacchari, Leptodiscus sp., Penicillium sp., Rhizoctonia sp., Mucor sp., Zygorhincus sp., Allomyces sp., Achlya sp., Dycthiucus sp., Thraustotheca sp., e

mais 10 isolamentos não classificados.

2) Ceratocystis paradoxa destaca-se entre todos os fungos isolados, sendo o patógeno mais forte sobre os toletes, impedindo a sua germinação.

3) Fusarium spp. (culturas 7a, 39a e 44), Mellanconium sacchari e Pythium arrhenomanes retardam ou impedem parcialmente a germinação, demonstrando fraca patogenicidade sobre os toletes de cana-de-açúcar.

4) Fusarium spp. (culturas 6a, 30 e 44a), Penicillium sp., Trichoderma sp., Rhizopus nigricans, Mucor sp., Lacellinopsis sacchari e isolamentos não identificados n^{os} 8, 13, 29, 31 e 67a, desenvolvem-se no parênquima celular dos toletes, sem, no entanto, afetarem o processo germinativo.

5) Outros fungos, ou sejam, Pythium sp., Leptodiscus sp., Dictyococcus sp., Zygorhynchus sp., Allomyces sp., Achlya sp., Thraustotheca sp. e isolamentos não identificados n^{os} 2a, 12, 13, 23a e 46a, não se desenvolvem nos tecidos sadios dos toletes.

6) Culturas monospóricas obtidas a partir de uma única cultura, também monospórica, podem apresentar variações culturais morfológicas e fisiológicas, sem diferirem na sua patogenicidade.

7) Entre os vários isolamentos de C. paradoxa existem diferenças no comportamento com relação à temperatura, cujo ótimo está entre 25 e 30°C, e a mínima e máxima em torno de 10 e 35°C respectivamente.

8) Ceratocystis paradoxa cresce entre os limites de pH de 2,2 a 9,0. Apresenta bom desenvolvimento entre 3,0 e 7,0. O ótimo encontra-se entre 4,0 e 6,0, normalmente entre 5,0 e 6,0, variando com a cultura examinada.

9) O nitrogênio, fósforo e potássio, aplicados ao solo isolada ou simultaneamente, não influem na incidência da podridão-abacaxi dos toletes de cana-de-açúcar.

10) O tratamento dos toletes com fungicidas mercuriais orgânicos proporciona um aumento na brotação dos toletes.

11) Em solos contaminados com Ceratocystis paradoxa, o tratamento dos toletes promove um aumento na produção final de canas, fruto em parte, do melhor "stand" de germinação.

12) Em solos contaminados com Ceratocystis paradoxa, o tratamento dos toletes com fungicidas mercuriais orgânicos, parece proporcionar um aumento no peso unitário das canas.

13) Os aumentos verificados na brotação, peso total e peso unitário das canas, são frutos do controle de C. paradoxa e outros fungos patogênicos do solo.

14) Os fungicidas mercuriais orgânicos não apresentam ação estimulante sobre os toletes de cana-de-açúcar.

15) Os fungicidas à base de cloreto etoxi-etil-mercúrio são os mais eficientes entre os fungicidas mercuriais orgânicos utilizados nos trabalhos experimentais.

16) Os resultados experimentais indicam a viabilidade da hipótese de que da ação metabólica de C. paradoxa resultam toxinas que afetam a germinação e desenvolvimento das canas.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

In the present work, the Author studied the rot of sugar cane cuttings, one of the phytopathological problems of interest to the cane fields.

The experimental work was grouped into four classes, which correspond to the sequence of the work realized: survey of soil microorganisms over the cane cuttings; pathogenicity tests; etiology of the pineapple disease; control of the Ceratocystis paradoxa and other pathogenic fungi of the soil.

The survey of soil microorganisms over the cane cuttings covered the cane field region of Piracicaba, including also some samples from others sugar cane regions.

With the isolates obtained from the previous surveys, the Author made pathogenicity tests to determine the interference of those isolates in the process of germination of the cane cuttings. In these tests the Author verified that Ceratocystis paradoxa (De Seynes) Moreau was the most pathogenic;

he then conducted a study of the etiology of the pineapple disease caused by that fungus, which consisted of: study of cultural variations, influence of the temperature, pH and nitrogen, phosphorus and potass over the C. paradoxa.

With reference to the control of C. paradoxa and other pathogenic fungi of the soil, the Author conducted field and greenhouse experiments, using organo-mercurial fungicides.

From the results, the following conclusions can be drawn:

1) Ceratocystis paradoxa, Trichoderma sp., Fusarium spp., Mellanconium sacchari, Rhizopus nigricans, Pythium arrhenomanes and Pythium spp. are frequently found associated with ungerminated cuttings. Besides these the following are occasionally isolated: Lacellinopsis sacchari, Leptodiscus sp., Penicillium sp., Rhizoctonia sp., Mucor sp., Zygorhincus sp., Allomyces sp., Achlya sp., Dicthiucus sp., Thraustotheca sp., and ten more unclassified isolates.

2) Ceratocystis paradoxa stands out among all the isolated fungi as being the strongest pathogen over the cuttings, preventing its germination.

3) Fusarium spp. (cultures 7a, 39, 39a and 44), Mellanconium sacchari and Pythium arrhenomanes delay or partially prevent the germination, showing pathogenicity over the cane cuttings.

4) Fusarium spp. (cultures 6a, 30 and 44a), Penicillium sp., Trichoderma sp., Rhizopus nigricans, Mucor sp., Lacellinopsis sacchari and unidentified isolates 8, 13, 29, 31 and 67a may grow in the cellular parenchyma of the cuttings, although without affecting the germinative process.

5) Other fungi, Pythium sp., Leptodiscus sp., Dicthiucus sp., Zygorhincus sp., Allomyces sp., Achlya sp., Thraustotheca sp. and unidentified isolates 2a., 12, 13, 23a and 46a, do not develop in the healthy tissue of the cuttings.

6) Monosporic cultures obtained from a single culture, also monosporic, may present morphological and physiological variations, without differing in their pathogenicity.

7) There are differences in the behavior in regard to temperature, among the various isolates of C.paradoxa: the optimum is between 25 and 30°C and the minimum and maximum around 10 and 35°C, respectively.

8) Ceratocystis paradoxa grows within the limits of pH from 2,2 to 9,0. The fungus presents good development between 4,0 and 6,0, normally between 5,0 and 6,0, varying with the examined culture.

9) Nitrogen, phosphorus and potass applied to the -- soil, separately or simultaneously, do not affect the incidence of pineapple disease of the cane cuttings.

10) The treatment of the cuttings with mercurial or-- organic fungicides brings out an increase in the sprouting of the cuttings.

11) In soils contaminated with C.paradoxa, the treatment of the cuttings promotes an increase in the final cane production, as a result, in part, of better stand of germina-- tion.

12) In soils contaminated with C.paradoxa, the treatment of the cuttings with mercurial organic fungicides seems to increase the unitary weight of the cane.

13) The increases in sprouting, total and unitary weight of the cane result from control of C.paradoxá and other pathogenic fungi of the soil.

14) Mercurial organic fungicides do not present any stimulant action over the cane cuttings.

15) Etoxi-etil mercury chloride is more efficient than the others mercurial fungicides used in this work.

16) The results obtained indicate the feasibility of the hypothesis that, from the metabolic action of C.paradoxa, result toxins that affect the germination and growth of the su gar cane.

6. AGRADECIMENTOS

Queremos apresentar os nossos sinceros agradecimentos ao Professor Ferdinando Galli, Catedrático da 11ª Cadeira, Fitopatologia e Microbiologia Agrícola, nosso orientador no preparo desta tese, que além de contribuir decisivamente com suas sugestões, colocou à nossa disposição todos os recursos disponíveis da 11ª Cadeira, tornando possível a realização deste trabalho.

Ao Professor Frederico Pimentel Gomes e Engº Agrº Humberto de Campos, respectivamente Catedrático e Assistente da Cadeira de Matemática, pela execução das análises estatísticas necessárias.

Aos colegas, Engº Agrº Hasime Tokeshi, Dr. Domingos Pellegrino, Dr. Otto Jesu Crocomo e Engº Agrº Gilberto Miller Azzi, pelo apoio emprestado no decorrer dos trabalhos.

As Usinas Piracicaba e Santa Bárbara, pelas facilidades que nos proporcionaram nas instalações dos experimentos.

Aos funcionários da 11ª Cadeira, Pêrsio Leite do Canto, Néilson de Almeida Caryvalho, Paulo Colette e José Stengle, pela colaboração prestada.

FOTO Nº 1

Sintomas da podridão abacaxi causada por Ceratocystis paradoxa.

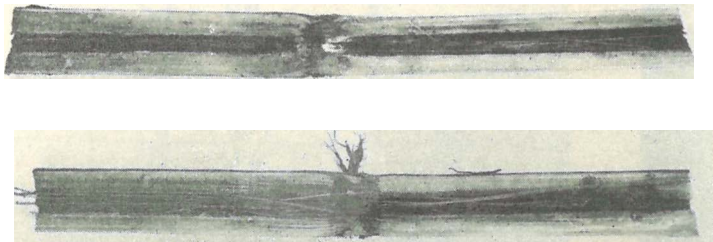
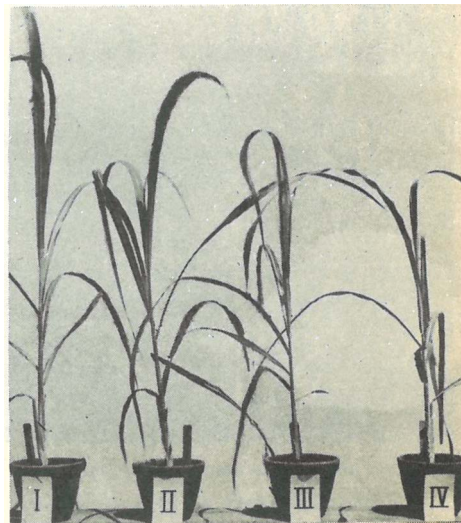


FOTO Nº 2

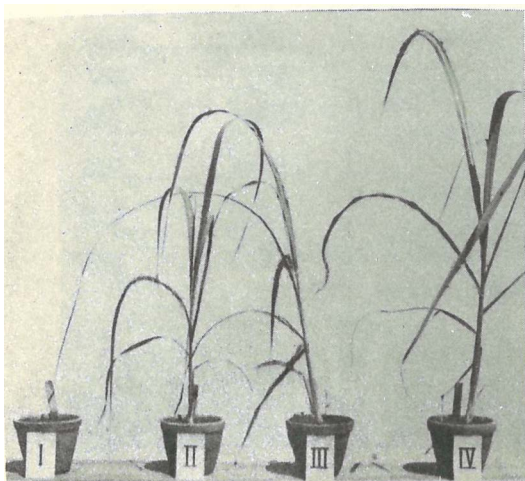
Teste final de patogenidade.



O vaso I é o testemunha e os restantes foram inoculados com Fusarium sp.(II), não identificado nº 67 (III) e Rhizopus nigricans (IV).

FOTO Nº 3

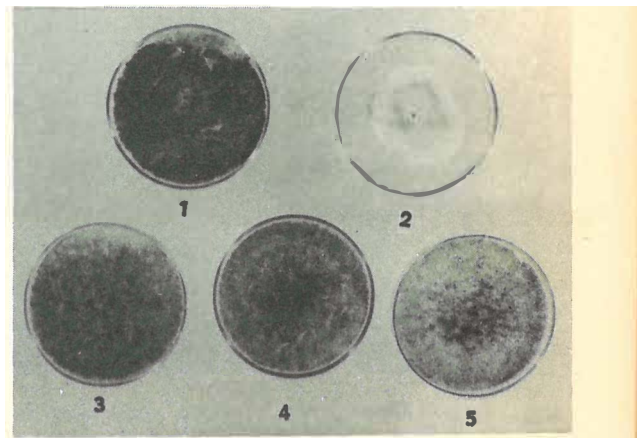
Teste final de patogenidade.



Os vasos foram inoculados com C.paradoxa (I), Fusarium sp. (II), Trichoderma sp. (III) e Zygorhincus sp. (IV).

FOTO Nº 4

Variações culturais de C. paradoxa.



Cultura I-A (placa 1), I-D (placa 2), I-C (placa 3), I-B (placa 4) e I-E (placa 5).

FOTO Nº 5

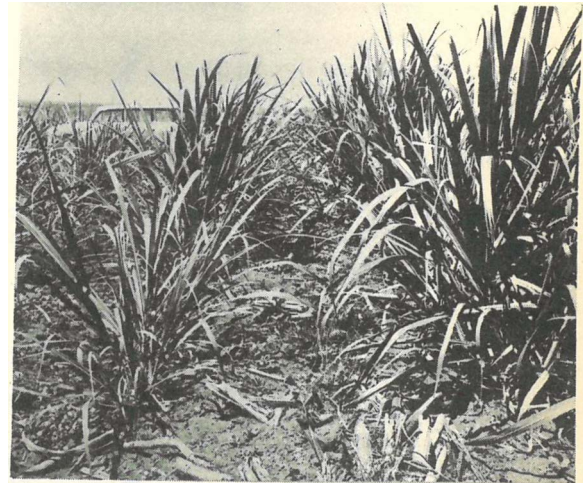
Experimento em casa de vegetação



Testemunha em solo inoculado (T), testemunha em solo estéril (TE) e tratada em solo inoculado.

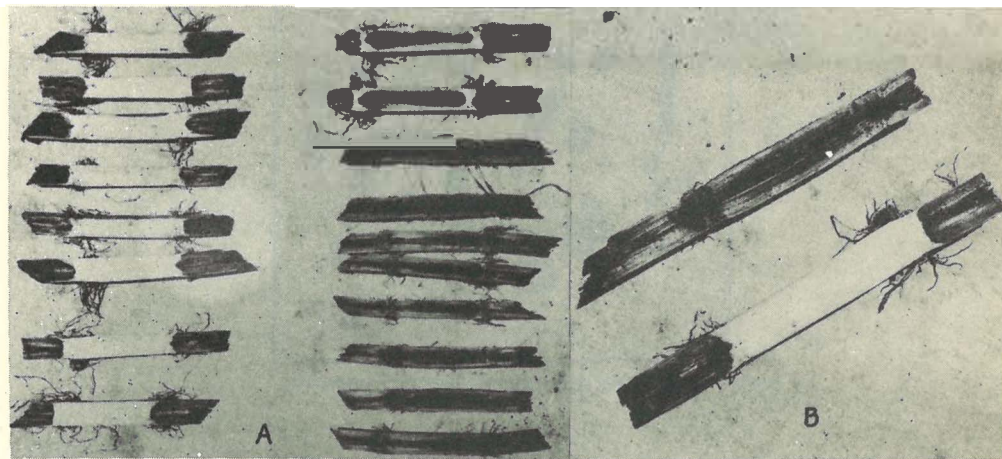
FOTO Nº 6

Experimento de campo

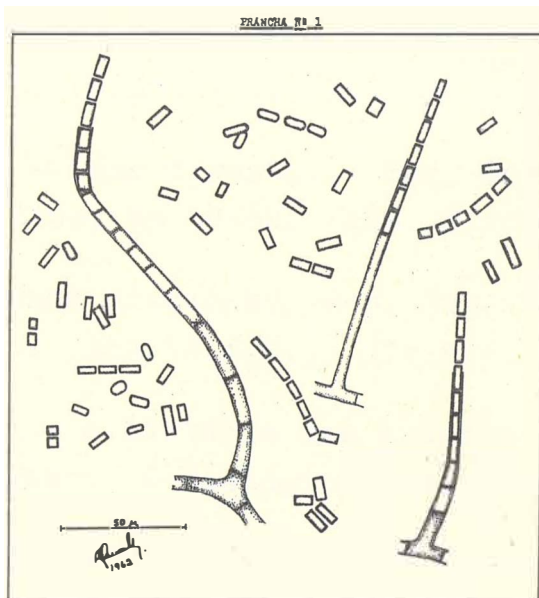


Notar a diferença no desenvolvimento da cana tratada (rua da direita) e testemunha, no Experimento instalado na Usina Santa Bárbara.

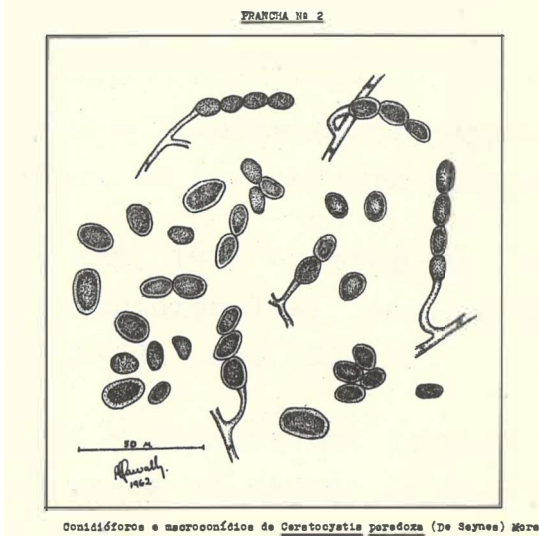
FOTO Nº 7



A) Os toletes da esquerda foram tratados com fungicidas; observar que a região internodal encontra-se sadia, devido à proteção dos fungicidas. Os toletes da direita, não tratados, encontram-se completamente apodrecidos. b) O mesmo material, fotografado com aproximação.



Conidíforos e microconídios de *Ceratomyxalis paradoxa* (De Seynes) Moreau.



Conidíforos e macroconídios de *Ceratomyxalis paradoxa* (De Seynes) Moreau.

7. BIBLIOGRAFIA

- Ames, Adeline, 1915 - The temperature relations of some fungi causing storage frosts. *Phytopathology* 5: 11-19.
- Anonimo, 1932 - Pineapple disease (T.Ethaceticus) on sugar cane at Tucumán, Arg. *Phytopathology* 22: 667.
- Antoine, R., 1956 - Cane diseases. Rep. Sug. Ind. Res. Inst. Mauritius, pp 50-60. Abs. R.A.M., 36:616-617. 1957.
- _____, 1957 - Cane diseases. Rep. Sug. Ind. Res. Inst. Mauritius. Abs. R.A.M., 37: 594, 1958.
- Arruda, S.C., 1941 - A história das grandes epifitias da cana de açúcar. *O Biológico*, 7: 313-318.
- _____, 1945 - As doenças da cana de açúcar no Estado de São Paulo. *O Biológico*, 11: 309-315.
- _____, 1946 - As doenças da cana de açúcar no Estado de São Paulo. *O Biológico*, 12:21-27; 63-69; 123-134.
- Averna Saccá, R., 1932 - *Thielaviopsis paradoxa* (de Seynes) Hohn. *Rev. de Agricultura (Piracicaba)* 7:114-129.
- Barthelet, J. & M. Vinot, 1946 - Notes sur les maladies des cultures meridionales. *Ann. Epiphyt. n.s. X, Fasc. unique* 11-23. Abs. R.A.M., 26-329. 1947.
- Bitancourt, A.A., 1934 - Relação das doenças e fungos parasitas observados na seção de fitopatologia durante os anos 1931 e 1932. *Arquivos Inst. Biológico (S. Paulo)* 5: 185-186.
- Caminha Filho, A., 1936/37 - Doenças da canna de assucar no Brasil. *Rodriguesia* 2: 191-196.
- Campacci, C.A., 1946 - A podridão mole do abacaxi. *O Biológico* 12: 70-71.

- Campos, A.R., 1941 - Moléstias da cana de açúcar em Pernambuco. Bol. Agric., Pernambuco 8:169-174. Abs. R.A.M., 25:233, 1946.
- Chu, H.T., 1950 - Re-examination on the seed cane treatment with Granosan solution. Rep. Taiwan Sug. Exp. Sta. 5:63-71. Abs. R.A.M. 30:543. 1951.
- Ciferri, R., 1927 - Notae mycologicae et phytopathologicae. Series II, N. 1-15. Riv. Patol. Veg. 17:209-294. Abs. R.A.M. 7:229. 1928.
- Cook, T. 1931 - Enfermedades de la caña de azúcar en Puerto Rico. Est. Exp. Insular, Rio Piedras, P.R., Circular 94, 45 pp.
- _____, 1932 - Rotting of sugar-cane cuttings in Porto Rico. Phytopathology, 22:7.
- _____, 1939 - Enfermedades de las plantas economicas de las Antillas. Monografia de la Universidad de Puerto Rico, Serie B, nº 4, 530 pp.
- Crocomo, O.J., 1960 - Quimismo da fermentação alcoólica. In Curso sobre fermentação alcoólica, J.R. Almeida e colaboradores, I.Z., Piracicaba, Mimeog. 2:289-311
- Dantas, 1956 - Plano quadrienal para o estudo das principais doenças e pragas da cana de açúcar em Pernambuco. Com. Comb. Pragas e Doenç. Est. Pernambuco, 2:58 pp.
- _____, 1957 - Melhore a germinação e aumente a produção com o tratamento fungicida dos rebolos. Com. Comb. Pragas e Doenç. Est. Pernambuco, 4: 13 pp.
- _____, 1958 - O melhor tamanho do rebolo imunizado. Com. Comb. Pragas Doenç. Est. Pernambuco, 6: 8 pp.
- _____, 1960 - Contribuição para a história da "Gomose" da cana de açúcar em Pernambuco e no Brasil. Bol. Tec. Inst. Agron. Nordeste (Brasil) 11: 3-17.

- Dantas, B. & A.P. da Silva, 1956 - A melhoria de germinação da cana de açúcar, pelo tratamento fungicida das estacas. Bol. Tech. Inst. Agron. Nordeste (Brasil) 4: 18-45.
- Dantas, B. & S.L. de Melo, 1960 - A situação das variedades na zona canavieira de Pernambuco (1954/55 a 1957/58) e uma nota histórica sobre as variedades antigas. Bol. Tec. Inst. Agron. Nordeste (Brasil), 11: 22-79.
- Deer, N., 1921 - Cane sugar. D. Van Nostrand Co, Inc., New York, 2ª edição, 644 pp.
- Edgerton, C.W., 1955 - Sugarcane and its diseases. Louisiana State University Press, Baton Rouge. 290 pp.
- Evans, H. & P.O. Wiehe, 1947 - Experiments of cane setts at planting under Mauritius conditions. Bull Mauritius Sugarcane Res. Sta. 19: 36 pp. Abs. R.A.M., 27: 386, 1948.
- Fawcett, G.L., 1931 - La putrefaccion negra de la caña de azúcar, Rev. Indust. y Agric. Tucumán, 21: 55-59. Abs. R.A.M., 10: 691. 1931.
- Fulton, H.R., 1922 - Occurrence of Thielaviopsis paradoxa on the cocconut palm in Florida. Phytopathology, 12: 398-399.
- Hawaiian Sugar Experiment Station, 1949 - Report. Printed Repts. Hawaii. Sug. Pl. Ass., 49 pp. Abs. R.A.M., 30-78, 1951.
- _____, 1953 - Diseases. Rep. Hawaiian Sug. Exp. Sta. pp. 20-25. Abs. R.A.M., 34:675-676. 1955.
- _____, 1954 - Diseases. Rep. Hawaiian Sug. Exp. Sta. pp. 21-27. Abs. R.A.M., 34: 676-677. 1955.
- _____, 1961 - Hawaiian Sug. Pl. Assoc., Ann. Report, 75 pp.

- Hughes, C.G., 1954 - The year 1953 in Queensland sugar-cane pathology, Proc. Qd. Soc. Sug. Cane Technol., pp. 207-213. Abs. R.A.M., 34: 182-183, 1955.
- Johnson, E.M. & W.D. Valleau, 1935 - Cultural variations of Thielaviopsis basicola. Phytopathology, 25: 1011-1018.
- Johnson, Leander F., 1954 - Antibiosis in relation to Pythium root rot of sugarcane and corn. Phytopathology, 44: 69-73.
- King, N.J., 1952 - Factors affecting the germination of the sugar cane plant. Proc. Qd. Soc. Sug. Cane Technol. pp. 133-141. Abs. R.A.M., 32:101. 1953.
- Klotz, L.J. & H.S. Fawcett, 1931 - Black scorch of the date palm. Phytopathology, 21: 998.
- Le Beau, F.J., 1939 - The relations of environmental factors and antagonistic organisms to root rot of sugarcane and corn. Proc. sixth Congr. Int. Soc. Sug. Cane Techn., Baton Rouge, 1938, pp. 342-347. Abs. R.A.M., 18: 618. 1939.
- Ludwig, R.A., 1960 - Toxins. In Plant Pathology, J.G.Horsfall & A.E.Diamond, Academic Press, New York London. Vol. 2, Cap. 9, pp. 315-357.
- Luke, H., 1952 - Fungi isolated from sugarcane soils of Louisiana and their antagonistic effect on Pythium arrhenomanes. Phytopathology, 42:469.
- Martin, J.P., E.V. Abott & C.G. Hughes, 1961 - Sugar-cane diseases of the world. Elsevier Publishing Co. Amsterdam, London, New York, Princeton. 542 pp.
- Martin, Mc A., 1937 - Pathological conditions affecting growth of sugar cane plant cuttings from Natal. South African Sug. Jour. 21: 353, 355, 357, 359. Abs. R.A.M., 16: 774. 1937.

- Martin, Mc A., 1945 - Germination and yield in sugar cane agriculture. A case for disinfection and protection of cuttings. S. Afr. Sug. Jour. 29: 21. Abs. R.A.M., 24: 290. 1945.
- _____, 1947 - Fungicide experiments on cane planted under wet conditions. South Afr. Sug. Journ. 29: 279. Abs. R.A.M., 25: 45. 1946.
- _____, 1947a - Experiment station notes. Botanist's report. South Afr. Sug. Journ. 31: 561. Abs. R.A.M., 27: 157. 1948.
- _____, 1949 - Fungicidal treatment for sugar cane cuttings. Summary of recent trials. South. Afr. Sug. Journ. 33: 651-655. Abs. R.A.M., 29: 230. 1950.
- Mitchell, R.S., 1937 - Stem end rot of bananas with special reference to the physiological relationships of Thielaviopsis paradoxa (De Seynes) Von Hohn, J. Coun. Sci. Ind. Res. Aust., 10: 123-130. Abs. R.A.M., 16: 693. 1937.
- Mungomery, R.W., 1953 - Division of Entomology and Pathology. Rep. Bur. Sug. Exp. Sta. Qd., 53: 37-47. Abs. R.A.M., 34: 631-632. 1955.
- _____, 1955 - Division of entomology and pathology. Rep. Bur. Sug. Exp. Sta. Qd., 55: 62-80. Abs. R.A.M., 35: 327-328. 1956.
- Nowell, W., 1923 - Diseases of Crop plants in the lesser Antilles. The West Indies Committee. Londres. 383 pp.
- Orjuela Navarrete, J.E., 1944 - Situación Patológica de las plantaciones de caña de azúcar en las zonas del valle de Cucuta, Villa del Rosario y regiones aledañas. Rev. Fac. Agr. Medellín, 21: 200-231. Abs. R.A.M., 24: 338. 1945.

- Otero, J.I. & M.T. Cook, 1937 - A bibliography of mycology and phytopathology of Central and South America, México and the West Indies. The Journ. of Agric. of the Univ. Puerto Rico, 21: 249-486.
- Pickel, D.B., 1936/37 - Lista das moléstias e dos fungos parasitários das plantas cultivadas em Pernambuco. Rodriguésia, 2: 207-212.
- Rands, R.D. & E. Dopp, 1938 - The influence of certain harmful soil constituents on severity of Pythium root rot of sugar cane. Journ. Agr. Res. 56: 53-68.
- Rands, R.D., 1961 - Root Rot. In Sugar Cane Diseases of the world, J.P. Martin, E.V. Abott & C.G. Hughes. Elsevier Publishing Co. Amsterdam, London, New York, Princeton. Cap. 13: 288-309.
- Rangel, J.F., 1936/37 - A podridão preta do abacaxi. Rodriguésia, 2: 329-332.
- _____, 1936/37 - A podridão preta do abacaxi Thielaviopsis paradoxa (De Seynes) Von Hohn. Rev. Soc. Bras. Agron. 1: 18-23.
- _____, 1951 - Informação apresentada na Comunicação nº 1, do Inst. Açuc. Alcool. 4 pp. (mimeog.)
- Rocheouste, E., 1953 - Twenty-third annual report. Sug. Cane. Res. Sta. Mauritius. 28 pp. (Abs. R.A.M., 33:633. 1954).
- Roger, L., 1953 - Phytopathologie des pays chaudes. Paul Lechevalier, Editeur. Paris, 2 vol., 2.256 pp.
- Silveira, V.D., 1946 - Lições de Micologia. Livraria Kosmos Editora, Rio de Janeiro, São Paulo, Porto Alegre - 2ª ed., 214 pp.
- Souza, H.D., 1961 - Comunicação pessoal.

- Story, C.G., 1952 - Pineapple disease in the Mackay District. Cane Grs' Quart. Bull., 15: 92-95. Abs. R.A.M., 32: 100, 1953.
- Sugar Experiment Station, 1949 - Forty-ninth annual report of the bureau of Sugar Experiment Station, Queensland. 53 pp. Abs. R.A.M., 29: 331, 1950.
- Sugar Manufacturers' Association of Jamaica, 1955 - Annual Report of the Research Department. Abs. R.A.M., 36: 499, 1957.
- Sugar Cane Breeding Institute, Coimbatore, 1953/54. & 1954/55 - Annual Reports. Abs. R.A.M., 37: 418. 1958.
- Subramaniam, T.V., & Prakasam, P., 1951 - Some studies on pineapple diseases of sugarcane. Proc. (first) Conf. Sugar Cane Res. Workers India, 2: 55-63. Abs. R. A.M., 33: 633. 1954.
- Sundararamam, S., 1928 - Administration Report of the Government Mycologist, Coimbatore, for 1927/28. Rept. Dept. of Agric. Madras for year 1927/28: 355-372. Abs. R.A.M., 8: 88. 1929.
- Van Dillewijn, C., 1952 - Botany of sugarcane. The Chronica Botanica Co. Book Department, Waltham, Mass., USA. 370 pp.
- Veiga, F.M., 1948 - Tratamento de toletes de cana com fungicidas. Brasil Açucareiro, 42: 352-355.
- Veiga, F.M., 1951 - Informação apresentada na Comunicação nº 1 do Inst. Açúc. Álcool. 4 pp. (mimeog.)
- Venkatarayan, S.V., 1935 - The biology of Gonaderma lucidum on areca and cocconut palms. Phytopathology, 26:153-175.
- Vogel, I., 1948 - A text book of quantitative inorganic analysis. Longmans, Green and Co., London. 809 pp.

Whalley, T.G. & R.H. Kent, 1953 - The deterioration of mercurial fungicide solutions. Proc. Qd. Soc. Sug. Cane Technol.: 17-22.

Wiehe, P.O., 1947 - La mortalité des boitures de canne à la plantation. Rev. Agric. Maurice, 26: 138-145. Abs. R.A.M., 27: 44. 1948.

Wismer, C.A., 1961 - Pineapple disease. In Sugar Cane diseases on the world, J.P. Martin, E.V. Abott & C.G. Hughes. Elsevier Publishing Co., Amesterdan, London, New York, Princeton. Cap. 10: 220-245.

:0:0:0:0: