

**PATOLOGIA E CONTROLE DOS FUNGOS DE SEMENTES  
DE CANA-DE-AÇÚCAR E RESISTÊNCIA DE PROGÊNIES À**  
*Helminthosporium sacchari*

**ÁLVARO SANGUINO**

Orientador : **HASIME TOKESHI**

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura  
"Luiz de Queiróz" da Universidade de São Paulo, para  
obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

**P I R A C I C A B A**  
Est. de São Paulo - Brasil  
1 9 7 6

À

minha esposa

e

aos

nossos pais,

dedico.

## AGRADECIMENTOS

O autor expressa seus agradecimentos

à COPERSUCAR pela oportunidade de aperfeiçoamento concedida;

ao Professor Dr. HASIME TOKESHI pela valiosa orientação e apoio;

ao Professor Dr. PAULO DE C. T. DE CARVALHO pela orientação ao autor nos seus primeiros passos dentro da Fitopatologia;

ao Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup> M.S. WILSON MARCELO DA SILVA pelo apoio durante a realização dos trabalhos;

ao Dr. ARMANDO BERGAMIN FILHO pela revisão dos originais e valiosas sugestões;

ao Eng<sup>o</sup> Agr<sup>o</sup> FLÁVIO FRANCO CORTE BRILHO pelo auxílio nos trabalhos com sementes de cana-de-açúcar;

ao Dr. CLYDE C. ALLISON pela confecção do Abstract;

ao acadêmico CLAUDIO DAL PICCOLO pelo auxílio durante os trabalhos no campo e laboratório;

aos colegas do curso de pós-graduação pelas valiosas sugestões apresentadas e pelo estímulo.

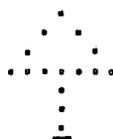
## ÍNDICE

	Página
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA .....	3
2.1. A patologia das sementes de cana-de-açúcar .....	3
2.2. Controle químico dos fungos causadores de doenças em sementeiras .....	4
2.3. Testes de resistência à <u>Helminthosporium sacchari</u> , (V. BREDA de HAAN) BUTLER .....	5
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	7
3.1. Levantamento de fungos nas sementes .....	7
3.1.1. Fungos encontrados no cariopse e casca .....	8
3.1.2. Levantamento dos fungos em 45 progênies .....	9
3.1.3. Testes de patogenicidade dos fungos das semen- tes . .....	9
3.1.4. Levantamento dos fungos que escapam aos melho- res tratamentos químicos .....	11
3.2. Tratamento químico das sementes .....	11
3.2.1. Métodos de aplicação e quantidade de sementes utilizadas .....	12
3.2.2. Tratamento com formol .....	13
3.2.2.1. Método de aplicação e quantidade de sementes utilizadas .....	13
3.2.3. Tratamento com brometo de metila .....	14
3.2.3.1. Métodos de aplicação e quantidade de sementes utilizadas .....	14
3.2.4. Tratamento com fungicida mercurial .....	15
3.2.4.1. Método de aplicação e quantidade de sementes utilizadas .....	15

	Página
3.2.5. Avaliação do vigor das sementes .....	15
3.2.6. Análises dos ensaios .....	16
3.3. Teste de progênies e progenitores para resistência à <u>H. sacchari</u> .....	16
3.3.1. Progênies selecionadas e produção de plântulas .	16
3.3.2. Isolamento e multiplicação do fungo .....	17
3.3.3. Método de inoculação e critério de avaliação de resistência de progênies e progenitores .....	18
3.3.3.1. Inoculação das progênies .....	20
3.3.3.2. Inoculação dos progenitores .....	20
3.3.3.3. Critérios de avaliação da resistência .	20
3.3.4. Avaliação da pré-seleção de plântulas resistentes à <u>H. sacchari</u> devido à presença desse fungo nas sementes .....	23
4. RESULTADOS .....	24
4.1. Determinação dos fungos nas sementes .....	24
4.1.1. Fungos encontrados no cariopse e na casca .....	24
4.1.2. Levantamento dos fungos nas sementes de 45 progênies .....	24
4.1.3. Testes de patogenicidade dos fungos das sementes	29
4.1.4. Determinação dos fungos patogênicos que sobrevivem aos melhores tratamentos químicos .....	29
4.2. Tratamento químico das sementes .....	29
4.2.1. Tratamento com Benlate, Dithane M 45 e Thiram ..	29
4.2.2. Tratamento com Busan 31 .....	34
4.2.3. Tratamento com Formol .....	35
4.2.4. Tratamento com Brometo de Metila .....	37
4.2.5. Tratamento com fungicida mercurial .....	38

4.3. Teste de resistência de progênies e progenitores .....	38
4.3.1. Teste de progênies .....	38
4.3.2. Teste de progenitores .....	41
4.3.3. Avaliação da pré-seleção de plântulas resistentes à <u>H. sacchari</u> devido à presença desse fungo nas sementes .....	41
5. DISCUSSÃO .....	44
5.1. Determinação dos fungos nas sementes .....	44
5.1.1. Fungos encontrados nos cariopses e casca de sementes de cana-de-açúcar .....	44
5.1.2. Levantamento dos fungos em 45 amostras de polí-cruzamentos e biparentais .....	45
5.1.3. Teste de patogenicidade dos fungos encontrados nas sementes . . . . .	47
5.1.4. Determinação dos fungos patogênicos que escapam aos melhores tratamentos químicos .....	48
5.2. Tratamento químico das sementes .....	51
5.2.1. Tratamento com os fungicidas Benlate, Dithane M 45, Thiram e Busan 31 .....	51
5.2.2. Tratamentos com Formol .....	53
5.2.3. Tratamentos com Brometo de Metila .....	54
5.2.4. Tratamento com fungicida mercurial .....	55
5.3. Testes de resistência de progênies e progenitores à <u>H. sacchari</u> .....	56
5.3.1. Teste das progênies .....	56
5.3.2. Testes dos progenitores .....	59

5.4. Avaliação da pré-seleção de plântulas resistentes à <u>H.</u> <u>sacchari</u> .....	60
6. CONCLUSÕES .....	61
7. RESUMO .....	63
8. SUMMARY .....	65
9. LITERATURA CITADA .....	67
APÊNDICE .....	70



## 1. INTRODUÇÃO

Em 1969, a Cooperativa Central dos Produtores de Açúcar e Álcool do Estado de São Paulo iniciou, através de sua Divisão Agronômica, um programa de cruzamento de variedades de cana-de-açúcar em sua Estação Experimental localizada em Camamu, Estado da Bahia, com a finalidade de melhorar o rendimento agrícola e industrial dos nossos canaviais pelo uso de variedades selecionadas para alta produtividade e que fossem resistentes às nossas principais moléstias. Nesta localidade, as condições ótimas para o florescimento da cana-de-açúcar são também as condições favoráveis para o desenvolvimento de fungos nas sementes, uma vez que, em contacto com a inflorescência, podem prejudicar a formação de sementes ou mesmo prejudicar sua germinação quando estas forem semeadas.

A patologia de sementes, de um modo geral, em nossas condições, é pouco estudada. No caso da cana-de-açúcar, onde a produção de sementes está restrita apenas aos programas de melhoramento de variedades, a patologia das sementes também não teve estudos detalhados. A maior parte das mortes de plântulas tem sido atribuída a patógenos existentes no substrato de germinação, sem levar em conta a grande quantidade de organismos fitopatogênicos que são trazidos pela própria semente

para o substrato. Muitas vezes, ainda, a péssima germinação apresentada pelas sementes de um determinado cruzamento é atribuído à infertilidade ou à má formação das sementes.

Nos programas de melhoramento, a obtenção de variedades resistentes às doenças prevalentes é de primordial importância. Os fungos existentes nas sementes podem limitar o material genético em estudo bem como podem pré-selecionar plântulas com resistência para doenças consideradas de importância secundária, fazendo com que se perca grande quantidade dos gens de resistência para as doenças mais importantes.

As análises dos fungos em sementes de cana-de-açúcar, bem como o seu controle, estudados neste trabalho, se deve ao fato de que quando foi iniciado o programa de obtenção de plântulas de cana-de-açúcar para testar sua resistência ao fungo H. sacchari, dificilmente se obtinha o número mínimo de plântulas necessárias ao trabalho. A maioria das plântulas transplantadas para solo esterilizado morriam devido ao ataque dos fungos que vinham acompanhando as sementes.

O estudo da pré-seleção em plântulas de cana-de-açúcar foi motivado pela grande quantidade de fungos do gênero Helminthosporium, inclusive H. sacchari, que eram encontrados causando morte das plântulas, o que sugeria uma possibilidade de as plântulas sobreviventes serem resistentes a esses fungos.

Os testes de resistência varietal ao H. sacchari, realizados como parte deste trabalho, foram executados por fazer parte de um plano anteriormente traçado, o qual possibilitou a execução e a formulação dos temas que completam e fazem parte deste mesmo trabalho.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. A patologia das sementes de cana-de-açúcar

A determinação dos patógenos, que infestam e contaminam as sementes, causando falhas na germinação e morte das plântulas, tem sido prática rotineira em cereais e outras culturas das quais se utilizam as sementes como meio de multiplicação. Na cana-de-açúcar, a produção de sementes verdadeiras está restrita aos programas de melhoramento de variedades, uma vez que a propagação dos canaviais se faz exclusivamente por via vegetativa.

A cana-de-açúcar necessita de condições especiais de fotoperíodo e temperatura para que haja a indução floral e para que os gametas produzidos sejam viáveis e as sementes férteis. BURR et alii (1957) descrevem que tais condições ocorrem frequentemente em regiões próximas ao equador terrestre. Normalmente, as condições de alta umidade relativa são ideais para o florescimento da cana-de-açúcar e também para o desenvolvimento dos fungos que atacam as sementes.

As informações existentes com relação à patologia das se-

mentes de cana-de-açúcar e do seu controle são bastante escassas. MARTIN (1941) relata a ocorrência de Helminthosporium sp (possivelmente H. sacchari) atacando plântulas oriundas de sementes e recomenda o uso de fungicidas mercuriais para o seu controle. LOVELESS e SMITH (1956) citam, pela primeira vez, a espécie Helminthosporium sacchari, (V. BREDA de HAAN) BUTLER, como patógenos de sementes de cana-de-açúcar responsabilizando - os por falhas na germinação e morte de plântulas com 3 a 6 dias de idade. Eles descrevem ainda os sintomas, condições de umidade relativa para a predisposição da planta à doença, e atribuem ao micélio dormente do fungo na semente a infecção inicial das plântulas. Na Índia, SINGH e SINGH (1968) relatam os fungos Alternaria tenuis e Helminthosporium halodes como patógenos sobre plântulas de cana-de-açúcar.

O fungo Curvularia lunata é citado, pela primeira vez, como patógeno de plântulas de cana-de-açúcar no Havaí por BYTHER e STEINER (1972). Estes mesmos autores citam também o Helminthosporium rostratum e Curvularia senegalensis, sendo que estes patógenos viriam acompanhando as sementes de cana-de-açúcar. Determinaram, também, que normalmente a infecção dos fungos deixa de ser fatal quando as plântulas possuem de 2 a 3 semanas de idade, e que sementes com baixo vigor e plantas submetidas a condições desfavoráveis de crescimento e nutrição são mais suscetíveis aos fungos da semente.

## 2.2. Controle químico dos fungos causadores de doenças em sementeiras

Assim como a patologia de sementes é bastante estudada nos cereais, os métodos de controle através de produtos químicos são relatados em grande número de trabalhos, mas, no caso do controle das doenças de plântulas de cana-de-açúcar, resume-se quase que exclusivamente na desinfecção do substrato de germinação pelo uso de brometo de metila, ou o

controle do "damping-off" causado por Pythium sp através do uso de fungicida Dexon (p-Dimetilaminobenzeno diazol sulfato de sódio). Na Índia, o fungicida Ziram (Dimethildithiocarbamato de zinco) foi usado eficientemente por SINGH e SINGH (1968) para controlar H. halodes e A. tenuis que causavam doenças em plântulas de cana-de-açúcar. MARTIN (1941) relatou o controle de Helminthosporium sp, possivelmente H. sacchari, com fungicidas mercuriais. BYTHER e STEINER (1969 e 1972a) recomendam o uso de fungicida Panogem (metilmercúrio dicianodiamida) em pulverizações semanais para controlar os fungos que acompanham as sementes e causam doenças em plântulas. C.A. WISMER (comunicação pessoal) relatou que o brometo de metila é usado para a desinfecção das sementes de cana-de-açúcar no Havai.

### 2.3. Testes de resistência à Helminthosporium sacchari (V. BREDA de HAAN) BUTLER.

A resistência das variedades de cana-de-açúcar à doença mancha ocular, causada pelo fungo H. sacchari, é uma característica desejável em todos os programas de melhoramento varietal realizados em locais onde ela ocorre. Com esse objetivo, OSADA e FLORES (1969) e LIU (1969) utilizaram esporos do fungo aplicados em pulverização nas folhas jovens do colmo da cana-de-açúcar, respectivamente no México e em Porto Rico, para selecionar plantas resistentes.

Quanto à metodologia de inoculação, OSADA e FLORES (1969) sugerem a utilização de pó de carborundum para provocar pequenos ferimentos na folha da cana-de-açúcar, facilitando assim a penetração do fungo hospedeiro. WISMER e KOIKE (1967) utilizaram uma cobertura plástica sobre as folhas do colmo inoculado, de modo que uma câmara úmida seja for-

mada, facilitando a germinação e penetração do fungo. Tal condição é mantida por 10 dias quando então são feitas as avaliações do teste.

No Havai, BYTHER e STEINER (1972b) utilizaram a toxina do fungo "Helminthosporoside" na seleção de plântulas resistentes em comparação com a inoculação de esporos de fungos e obtiveram resultados comparáveis em menor espaço de tempo.

A avaliação dos resultados dos testes de resistência assume características individuais e cada pesquisador tem seu próprio critério, todos baseados em notas para expressar a sintomatologia apresentada. No Havai, BYTHER e STEINER (1972b) utilizaram notas de 1 a 9, enquanto que em Porto Rico, LIU (1969) utilizou notas de 1 a 5, variando de altamente resistente até altamente suscetível, respectivamente.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Levantamento de fungos nas sementes

Todos os experimentos foram conduzidos nas dependências do Departamento de Fitopatologia da ESALQ-USP e no setor de Fitopatologia da Estação Experimental Copersucar de Piracicaba.

Sementes verdadeiras de cana-de-açúcar, originárias de vários cruzamentos e provenientes da Estação Experimental Copersucar de Camamu, BA, foram beneficiadas, segundo SILVA (1974). As sementes beneficiadas e passadas pelo "soprador de sementes" (modelo B série 333 E.L. ERICKSON PRODUCTS, BROKINGS, S. DAKOTA) para eliminar a palha e espiguetas chochas, foram, finalmente, selecionadas através de leve pressão com a ponta de um estilete para verificar se a espiguetas continha um cariopse bem desenvolvido.

As sementes férteis foram colocadas em caixas de Petri contendo 25 ml de substrato ágar-água (18 g de ágar em 1 litro de água) esterilizado e em seguida incubadas por 6 a 8 dias a 28°C com regime alter

nado de 12 horas de escuro em incubadora. Os exames dos fungos presentes foram feitos ao microscópio. A amostra examinada era formada por uma mistura de sementes, constituída de 400 sementes férteis, sendo colocadas 100 sementes em cada caixa de Petri. ---

### 3.1.1. Fungos encontrados no cariopse e casca

Cariopses livres da lama e palha foram obtidos pressionando-se as espiguetas férteis com a ponta de um estilete até que estas saltassem da casca. Os cariopses foram lavados em solução de hipoclorito de sódio 1:3 v/v (volume/volume de solução comercial com 5% de cloro ativo) por 3 minutos, sendo logo após passados em água estéril, antes de serem colocados nas caixas de Petri com ágar-água.

As cascas restantes das espiguetas férteis das quais foram retiradas os cariopses foram colocadas em caixas de Petri e incubados como no item 3.1. para posterior exame.

Os fungos presentes nas sementes foram examinados com o auxílio de um microscópio estereoscópio e microscópio composto e identificados, segundo as chaves de classificação de BARNETT e HUNTER (1972), DRECHSLER (1923), GJBA (1961), NATH, NEEGAARD e MATHUR (1970) e RENOIT e MATHUR (1970). Aqueles, potencialmente conhecidos como patogênicos e os mais frequentes, foram classificados até espécies e os demais somente até gênero.

### 3.1.2. Levantamento dos fungos em 45 progênies

Foram também examinadas 45 amostras de 100 sementes para se notar uma possível variação na contaminação por fungos. Cada amostra de 100 sementes representava uma progênie, as quais foram semeadas em caixa de Petri como foi descrito no item 3.1. para posterior exame.

### 3.1.3. Testes de patogenicidade dos fungos das sementes

Dos fungos presentes nos cariopses, as espécies patogênicas e os que se apresentavam em alta frequência foram isolados e multiplicados em meio de folha de cana ágar (CLA) (WISMER e KOIKE, 1967) e após 20 dias as culturas foram utilizadas para o preparo dos inóculos.

Para se evitar a presença de outros fungos durante o teste, as sementes usadas para a obtenção das plântulas foram tratadas com formal diluído em água 1:20 v/v durante 20 minutos e colocadas para germinar em caixas de Petri, contendo meio ágar-água. Após a germinação, as plântulas foram examinadas ao microscópio estereoscópio para se notar se havia algum fungo contaminante. Caso houvesse, estas plântulas contaminadas eram imediatamente descartadas, de modo que somente as plântulas livres de fungos eram transplantadas, segundo o método de SILVA (1974), para tampas de caixas de Petri que continham solo esterilizado ou ágar-água.

Para a inoculação das plântulas em solo esterilizado, foram utilizadas culturas dos fungos trituradas em um liquidificador e derramadas sobre as plântulas. No caso das plântulas em ágar-água, o inó-

culo foi uma suspensão de esporos e micélio em água destilada, a qual foi colocada sobre as plântulas com o auxílio de um conta gotas (2 gotas por plântula).

Após a inoculação, as plântulas foram mantidas em câmara úmida por 48 horas, e 10 dias após a inoculação foram feitas as leituras dos testes, em comparação com testemunhas de plântulas que não sofreram inoculação. Os fungos utilizados nos testes foram:

- a) 3 cepas de Helminthosporium sacchari (VAN BREDA de HAAN) BUTLER
- b) 2 cepas de Helminthosporium rostratum (DRECHSL) RICHARDSON e FRASER
- c) 3 cepas de Helminthosporium spp
- d) 3 cepas de Curvularia lunata (WAKKER) BOEDIJN
- e) 3 cepas de Curvularia spp
- f) 2 cepas de Fusarium moniliforme SHELDON
- g) 3 cepas de Fusarium spp
- h) 3 cepas de Phoma spp
- i) 2 cepas de Pestalotia guepini DESM
- j) 3 cepas de Cladosporium spp

Para a confirmação dos postulados de KOCH, as plântulas, que apresentavam alguns sintomas, eram lavadas em hipoclorito de sódio 1:3 v/v por 1 minuto, passadas por 2 lavagens em água destilada e estéril e colocadas em caixas de Petri com meio CLA para reisolar o patógeno.

#### 3.1.4. Levantamento dos fungos que escapam aos melhores tratamentos químicos

Os melhores tratamentos e as melhores dosagens dos fungicidas utilizados no controle dos patógenos das sementes foram repetidos em um ensaio, onde se utilizaram 250 sementes para cada um dos fungicidas a serem tratados. Após receberem o tratamento, as sementes eram plantadas em caixas de Petri com ágar-água para um posterior exame dos fungos patogênicos que escaparam ao tratamento químico. As condições a que ficaram submetidas as sementes nas caixas de Petri são descritas no item 3.1. de Material e Métodos. Cada tratamento com fungicida foi comparado com a testemunha que não sofreu tratamento químico. O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado com 5 repetições.

#### 3.2. Tratamento químico das sementes

As sementes utilizadas nestes testes sofreram os mesmos preparos descritos no item 3.1. de Material e Métodos e eram constituídas de uma mistura de sementes de vários cruzamentos. No geral, as mesmas condições já descritas no item 3.1. de Material e Métodos foram utilizadas para a germinação das sementes tratadas com os fungicidas.

A escolha dos fungicidas para as sementes visavam como meta básica os seguintes pontos:

- a) obter o controle dos patógenos das sementes sem causar fitotoxidez podendo deixar resíduos de fungicida nas sementes;
- b) obter o controle dos patógenos das sementes sem deixar

resíduos de fungicida que pudessem interferir em testes de inoculação com Ustilago scitaminea e outros fungos patógenos à cana-de-açúcar.

### 3.2.1. Métodos de aplicação e quantidade de sementes utilizadas

As sementes selecionadas para os testes foram postas em um pequeno saco de tela de nylon e imersas nas suspensões de fungicidas. Logo após o tratamento, colocou-se as sementes em contacto com pratos de barro poroso, previamente esterilizados e secos, para retirar o excesso de fungicida e as sementes foram germinadas como item 3.1. de Material e Métodos.

Os fungicidas deste grupo foram esterilizados segundo as especificações a seguir.

Produto	Nome Químico	Dosagens (g/litro)		Tempo de Tratamento (minutos)
Benlate	metil <u>1</u> butilcarba <u>moil</u> <u>2</u> benzimidazo <u>le</u>	1,00	e 2,00	20
Dithane M 45	etileno bisdido - carbamato de manga <u>nês</u> e zinco	1,00	e 2,00	20
Thiram	bisulfeto de tetra <u>metil</u> thiuram	1,00	e 2,00	20
Busan 31	<u>2</u> tiociano metile <u>til</u> benzotiazol	0,25, 0,50	e 1,00	20

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 5 repetições e parcelas formadas por 50 sementes férteis por caixa de Petri.

### 3.2.2. Tratamento com formol

#### 3.2.2.1. Método de aplicação e quantidade de sementes utilizadas

Os testes com Formol foram conduzidos conforme a metodologia citada no item 3.2.1.1. de Material e Métodos. As dosagens e tempo de exposição empregados são especificados a seguir e partiram de uma solução estoque com 40% v/v de Formol em água.

Diluições de formol em água	Tempo de tratamento em minutos					
1:50	10	20	30	40	50	60
1:20	20	40				
1:10	15	30	45			

As diluições 1:10 e 1:50 tinha 4 repetições de 50 sementes por tempo de tratamento e a diluição 1:20 tinha 5 repetições por tempo de tratamento.

### 3.2.3. Tratamento com brometo de metila

#### 3.2.3.1. Métodos de aplicação e quantidade de sementes utilizadas

Sementes, previamente selecionadas como no item 3.1 de Material e Métodos, foram colocadas em tampas de caixa de Petri esterilizadas e estas postas dentro de uma autoclave de alumínio com capacidade de 20 litros transformada em câmara de fumigação e na qual se fez um pequeno vácuo para facilitar a entrada de brometo de metila, que foi dosado com o auxílio de uma proveta graduada e adaptada a um aplicador de brometo. A dosagem utilizada foi de  $1 \text{ cm}^3$  de brometo de metila com 1% de cloropriclina (formicida da Blenco) em 20 litros. Os tempos de tratamento foram: 150, 180 e 210 minutos.

Após o tratamento, as sementes foram imediatamente semeadas e postas para germinar como no item 3.1. de Material e Métodos. Pa

ra cada tratamento foram utilizadas 6 repetições, sendo cada uma constituída de uma caixa de Petri com ágar-água e 0,1 g de sementes.

#### 3.2.4. Tratamento com fungicida mercurial

##### 3.2.4.1. Método de aplicação e quantidade de sementes utilizadas

A aplicação do fungicida nas sementes seguiu a metodologia citada em 3.2.1.1. de Material e Métodos e foram colocadas para germinar como no item 3.1. Foi utilizado Aretan forte (5% de cloreto de metoxigtilmercurio) nas dosagens de 0,75 e 1,50 g/litro de água e o tempo de tratamento de 2 minutos. Cada parcela era composta de 1 caixa de Petri com ágar-água contendo 0,1 g de sementes e cada tratamento repetido 5 vezes.

##### 3.2.5. Avaliação do vigor das sementes

O vigor das sementes será medido baseando-se na velocidade de emergência das plântulas, segundo a técnica proposta por BYRD (1967). Para tanto, a contagem das plântulas normais foram feitas diariamente usando-se os seguintes critérios:

a) plântulas normais eram aquelas que com o auxílio de um microscópio estereoscópio com 10 aumentos apresentavam um perfeito desenvolvimento do coleoptilo sem apresentar defeitos e manchas causadas por fungos. A radícula deveria possuir desenvolvimento normal, sem distor-

ções, engrossamento ou lesões provocadas por patógenos;

b) plântulas anormais eram as que escapavam das especificações acima.

### 3.2.6. Análises dos ensaios

Todos os ensaios com fungicidas seguiram o esquema estatístico inteiramente casualizado, sendo os dados obtidos transformados em  $\sqrt{x}$  ou arco seno de  $\sqrt{\text{porcentagem}}$  para efeitos de análises.

## 3.3. Teste de progênies e progenitores para resistência à H. sacchari

### 3.3.1. Progênies selecionadas e produção de plântulas

Para a realização dos testes, foram escolhidas sementes de cruzamentos biparentais, onde se conhecem ambos os progenitores, e sementes policruzamentos, onde se conhece apenas a planta mãe.

As progênies a serem testadas foram selecionadas pelo índice de germinação de suas sementes, de modo que as plântulas obtidas de cada cruzamento fossem suficientes para a experimentação (número este fixado arbitrariamente em 40). As progênies e policruzamentos são apresentados a seguir.

Cruzamentos biparentais	Policruzamentos
CB 49-260 x CB 41-76	CO 421
CB 49-260 x M 202-76	CB 61-2
COK 30 x CP 29-116	CB 46-47
CP 29-116 x COK 30	NCO 310
M 202-46 x CP 29-116	CB 40-52
M 202-46 x CB 49-260	CB 49-62
M 202-46 x EROS	CP 52-107
	PR 980

As plântulas necessárias foram transplantadas segundo o método de SILVA (1974) e conduzidas em casa de vegetação até a idade de 30 dias, quando foi feita a inoculação.

### 3.3.2. Isolamento e multiplicação do fungo

O patógeno Helminthosporium sacchari (VAN BREDA de HAAN) BUTLER foi isolado de folhas de cana-de-açúcar que exibiam os sintomas de "mancha ocular". As folhas para isolamento foram coletadas da variedade CB 41-76 em Jacarezinho, PR, e de plântulas do campo experimental do Departamento de Fitopatologia da ESALQ-USP. Nos isolamentos foram coletados conídios diretamente de folhas mantidas em câmara úmida com auxílio de microscópio estereoscópio. Os isolamentos, que apresentavam homogeneidade e abundante esporulação em meio CLA, foram mantidos e os iso-

lamentos instáveis e miceliais descartados.

A multiplicação do fungo foi feita em meio CLA em estufa incubadora a uma temperatura de 28°C por 20 dias. O preparo da suspensão de esporos foi efetuado inundando-se as placas esporulantes com água destilada esterilizada e os conídios removidos com o uso de um pincel de pelo de camelo. Os fragmentos de micélio foram eliminados por filtração em camada fina de algodão hidrófilo. As suspensões de esporos utilizadas nos testes eram provenientes de uma mistura de cepas de vários isolamentos e a concentração de esporos padronizada ao redor de  $4 \times 10^4$  esporos por mililitro. Todas as suspensões de esporos foram utilizadas logo após o seu preparo e mantidas sob refrigeração durante a inoculação para evitar a germinação de esporos fora da planta.

### 3.3.3. Método de inoculação e critério de avaliação de resistência de progênies e progenitores

De acordo com MARTIN e outros (1961), o fator mais importante para a ocorrência de epidemias de "mancha ocular" é a contínua presença de um filme de água, proveniente tanto de orvalho como de chuva fina. A faixa de temperatura para a ocorrência de epidemias é relativamente ampla variando de 25 a 28 graus as condições ótimas. STEINER e BYTHER, citados por STROBEL (1975), relataram que folhas de variedades suscetíveis reagem como resistentes se forem pré-aquecidas a 50°C. Ante este fato, há necessidade de se controlar o ambiente de pré-inoculação para se obter resultados constantes nos testes de patogenicidade.

Para se obter condições ideais para a ocorrência de epide-

mias, uma seção da casa de vegetação medindo 5,5 x 5 x 5 m foi transformada em uma grande câmara úmida, utilizando-se os seguintes artifícios. Todo piso foi recoberto com raspa de madeira em uma camada de aproximadamente 10 centímetros e molhadas com frequência. Instalou-se um nebulizador do tipo pulverizador de água para manter o ambiente continuamente saturado de água e provocar ainda um abaixamento de temperatura. Ventiladores de ar úmido controlados por termostatos entravam em funcionamento sempre que a temperatura subisse acima de 28°C. Do lado externo da casa de vegetação foram instalados aspersores de água que eram ligados durante o dia para refrigerar o vidro do teto e evitar o super-aquecimento do ambiente interno nas horas mais quentes do dia. Termógrafos instalados na casa de vegetação demonstraram que as condições ótimas para a ocorrência de epidemias ocorreram durante pelo menos 20 horas por dia, durante o tempo em que os testes foram feitos. Todas as plantas a serem inoculadas eram colocadas na câmara úmida 2 dias antes das inoculações para evitar a ocorrência de reações de resistência em variedades suscetíveis devido à indução térmica. As plantas inoculadas permaneceram na câmara úmida até a véspera da coleta dos resultados.

Todas as inoculações foram realizadas com o auxílio de um revólver de pintura, a uma pressão de 30 libras/polegada quadrada, sendo sempre as inoculações realizadas após as 18 horas para aproveitar as condições noturnas de temperatura e umidade, que são mais favoráveis ao desenvolvimento da doença. As avaliações dos testes foram feitas 10 dias após a inoculação dos fungos nas plantas.

### 3.3.3.1. Inoculação das progênies

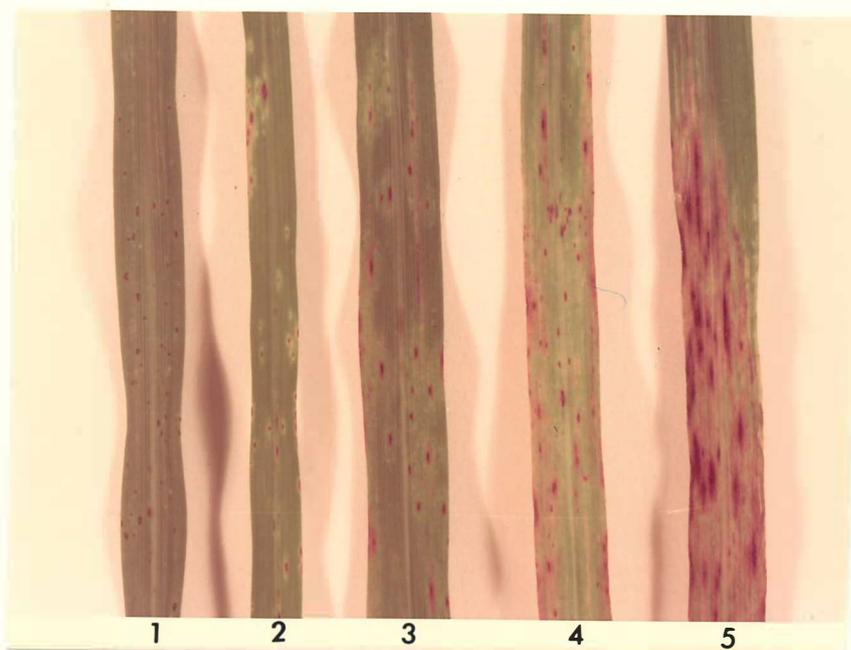
A primeira inoculação foi feita 30 dias após o transplante das plântulas e a segunda inoculação feita 55 dias após o transplante. Após a retirada da leitura da primeira inoculação, as plantas altamente suscetíveis e suscetíveis eram anotadas e eliminadas, de modo que somente as plantas moderadamente resistentes, resistentes ou escapes recebiam a segunda inoculação. Antes da segunda inoculação as plântulas restantes tiveram suas folhas cortadas para que novas folhas se desenvolvessem.

### 3.3.3.2. Inoculação dos progenitores

Os progenitores, que deram origem às progênies, foram plantadas em vasos de barro com volume aproximado de 3 litros. Cada vaso continha duas plantas e cada progenitor era representado por 5 vasos. Os vasos foram mantidos em casa de vegetação nas condições citadas em 3.3.3 e também sofreram duas inoculações, aos 40 e 65 dias após o plantio.

### 3.3.3.3. Critérios de avaliação da resistência

Na avaliação dos testes de inoculação de H. sacchari foram utilizados padrões baseados nos sintomas dando-se notas de 1 a 5 de acordo com o padrão fotográfico pré-estabelecido (figura 1) e resumidamente descrito como segue.



Cr terios de avalia o da resist ncia para H. sacchari utilizados durante os testes.

Classe	Nota	Sintomatologia
R	1	Pequenas pontuações escuras, semelhantes à reação do tipo hipersensibilidade
	2	Algumas pequenas lesões, sem o alongamento de toxina
I	3	Poucas lesões com alongamento de toxina
S	4	Muitas lesões com alongamento de toxina
	5	Muitas lesões com alongamento de toxina e necrose parcial das folhas

R = resistente

I = intermediária

S = suscetível

Os critérios para avaliação dos progenitores foram os mesmos citados acima, apenas que, devido à possibilidade de se ter repetições e médias para cada variedade testada, pôde-se subdividir as classes de resistência como são apresentadas a seguir.

#### Critérios de classificação

Médias	Classificação
1,0 - 1,5	Altamente resistente (AR)
1,6 - 2,5	Resistente (R)
2,6 - 3,5	Moderadamente resistente (MR)
3,6 - 4,5	Suscetível (S)
4,6 - 5,0	Altamente suscetível (AS)

#### 3.3.4. Avaliação da pré-seleção de plântulas resistentes a H. sacchari devido à presença desse fungo nas sementes

Sementes da progênie da variedade PR. 980 com 20% de infecção de Helminthosporium spp (inclusive H. sacchari) foram divididas em 2 lotes iguais de 3 g cada um. Um deles foi tratado com Thiran (bisulfeto de tetrametil thiuran) no dosagem de 2 g por litro de água durante 20 minutos e o outro não sofreu tratamento. Ambos os lotes foram postos para germinar em solo esterilizado em condições idênticas.

Plântulas com 3 a 5 dias da germinação foram transplantadas, segundo SILVA (1974), para sacos plásticos contendo solo esterilizado. As inoculações com H. sacchari seguiram a metodologia adotada no item 3.3.3.1., sendo que apenas uma amostra do número total de plântulas transplantadas foi usada nos testes. As avaliações foram baseadas nos critérios descritos no item 3.3.3.3. de Material e Métodos.

#### 4. RESULTADOS

##### 4.1. Determinação dos fungos nas sementes

###### 4.1.1. Fungos encontrados no cariopse e na casca

Os gêneros dos fungos e o número de colônias encontradas nas 400 sementes férteis são apresentados na Tabela 1.

###### 4.1.2. Levantamento dos fungos nas sementes de 45 progênies

O levantamento dos fungos presentes em 45 amostras de 100 sementes de diferentes progênies são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 1. Número de colônias e gêneros de fungos encontrados nas cascas e cariopses de 400 sementes férteis de cana-de-açúcar

Gêneros de Fungos	Cariopse		Casca	
	Infectada	%	Infectada	%
<u>Alternaria</u> spp	4	1,00	8	2,00
<u>Cladosporium</u> spp	36	9,00	47	11,75
<u>Curvularia</u> spp	56	14,00	71	17,75
<u>Fusarium</u> spp	46	11,50	43	10,75
<u>Helminthosporium</u> spp	63	15,75	83	20,75
<u>Monilia</u> spp	15	3,75	36	9,00
<u>Nigrospora</u> spp	0	0,00	4	1,00
<u>Pestalotia</u> sp	21	5,25	4	1,00
<u>Phoma</u> sp	41	10,25	64	16,00
<u>Pithomyces</u> spp	4	1,00	27	6,75
<u>Rhizopus</u> spp	0	0,00	20	5,00
<u>Tricoderma</u> spp	0	0,00	15	3,75
Indeterminados	6	1,50	8	2,00
Total infectado	292	73,00	430	107,50

**Obs.** Foi frequente a ocorrência de 2 ou mais gêneros de fungos em uma única semente.

Tabela 2. Determinação dos gêneros de fungos presentes em 45 amostras de 100 sementes de cana-de-açúcar

Cruzamentos Biparentais	Gênero de Fungos Observados											
	Hel	Cur	Pho	Fus	Alt	Pit	Cla	Rhi	Asp	Nig	Pes	Total
B 46-364 x M 202/46	3	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	5
B 46-364 x B 4362	4	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7
B 57-150 x H 49-3533	1	6	2	-	1	-	-	-	-	-	-	10
B0 14 x CP 56-59	1	2	4	2	-	-	-	-	-	-	-	9
CB 41-76 x Q 68	8	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	12
CB 45-3 x B 49-119	5	3	-	-	-	-	-	1	-	-	-	8
CB 49-15 x B 49-119	3	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7
CO 453 x CO 678	2	4	-	-	-	-	-	1	-	-	-	7
CP 29-103 x B 52-107	8	12	-	-	1	-	-	-	-	-	-	21
CP 55-30 x F 141	1	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
CP 57-603 x CO 331	4	3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	8
F 36 x CB 40-13	2	4	1	-	-	-	-	-	1	-	-	8
H 32-8560 x Eros	3	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12
N 50/211 x POJ 2878	2	7	2	-	-	-	-	-	-	-	-	11
Q 47 x Eros	4	4	2	2	-	-	-	-	-	-	-	12
Q 49 x CB 47-355	3	3	3	-	-	-	-	-	-	-	1	10
Q 70 x NCO 310	4	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7
Q 75 x B 4362	1	6	-	1	-	-	-	-	-	-	-	8

(Continuação da Tabela 2)

Policruzamentos	Gênero de Fungos Observados											
	Hel	Cur	Pho	Fus	Alt	Pit	Cla	Rhi	Asp	Nig	Pes	Total
B 47-258	6	2	2	1	-	-	1	-	-	-	-	12
B 51-414	-	1	3	1	-	-	-	-	-	-	-	5
CB 40-13	1	2	4	1	-	-	-	-	-	-	-	8
CB 44-105	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	5
CB 45-3	1	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	7
CB 47-355	-	1	2	2	-	-	-	-	-	-	-	5
CB 49-62	2	3	5	-	-	-	-	-	-	-	-	10
CB 49-260	3	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
CO 331	1	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6
CO 421	9	9	4	3	-	-	1	-	-	-	-	26
CO 617	1	3	4	-	-	-	-	-	-	-	-	8
CO 678 c1	2	5	4	3	-	-	1	-	-	1	-	16
CO 678 c2	3	4	4	2	1	1	-	-	-	-	-	15
CO 678 c3	2	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7
CO 975	4	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10

(continua)

(Continuação)

Policruzamentos	Gênero de Fungos Observados											Total
	Hel	Cur	Pho	Fus	Alt	Pit	Cla	Rhi	Asp	Nig	Pes	
CP 18-19	5	11	-	-	2	-	-	1	-	-	-	19
CP 34-120	6	6	3	1	1	1	2	-	-	-	-	20
D 625	3	5	2	-	-	-	-	-	-	-	-	10
D 11-35	1	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	7
Kassoer	2	4	4	2	-	-	-	-	-	-	-	12
Mocoto	-	2	2	1	-	-	-	-	-	-	-	5
N 50/211	2	6	2	1	-	-	-	-	-	-	-	11
NCO 376	2	4	4	1	-	-	-	-	-	-	-	7
PCG 12-745	1	2	3	1	-	-	-	-	-	-	-	7
Q 47	2	3	2	1	-	-	-	-	-	-	-	8
Q 49	1	1	3	-	-	1	-	-	-	-	-	6
<b>Total</b>	<b>119</b>	<b>184</b>	<b>79</b>	<b>27</b>	<b>6</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>

Alt = <u>Alternaria</u> spp	Fus = <u>Fusarium</u> spp	Pho = <u>Phoma</u> spp
Asp = <u>Aspergillus</u> spp	Hel = <u>Helminthosporium</u> spp	Pit = <u>Pithomyces</u> spp
Cla = <u>Cladosporium</u> spp	Nig = <u>Nigrospora</u> spp	Rhi = <u>Rhizopus</u> spp
Cur = <u>Curvularia</u> spp	Pes = <u>Pestalotia</u> spp	

Obs. Os números representam número de colônias obtidas.

#### 4.1.3. Testes de patogenicidade dos fungos das sementes

Os resultados dos testes de patogenicidade dos fungos, reconhecidos como patogênicos e dos que se apresentavam em alta frequência nas sementes, são apresentados na Tabela 3.

#### 4.1.4. Determinação dos fungos patogênicos que sobrevivem aos melhores tratamentos químicos

Os gêneros de fungos que sobreviveram nas sementes, após os tratamentos químicos, são apresentados na Tabela 4.

### 4.2. Tratamento químico das sementes

#### 4.2.1. Tratamento com Benlate, Dithane M 45 e Thiram

Os resultados dos testes com Benlate, Dithane M 45 e Thiram são apresentados no Apêndice 1 e 2, e as respectivas percentagens médias de germinação e os índices médios de vigor são apresentados na Tabela 5.

Tabela 3. Testes de patogenicidade de alguns fungos das sementes de cana-de-açúcar, em substrato ágar-água e solo, com plântulas crescendo em caixas de Petri.

Fungos Inoculados	Cepa	Mancha nas folhas		Mancha no colo		Podridão de raízes		Plântulas mortas		Total c/ Solo	
		Ágar	Solo	Ágar	Solo	Ágar	Solo	Ágar	Solo		
		Ágar		Ágar		Ágar		Ágar			
<u>Cladosporium</u> spp	1	0	1	1	1	0	0	3	0	4	2
	2	0	0	4	1	1	0	3	0	8	1
	3	0	2	2	1	2	0	4	2	8	5
<u>Curvularia</u> spp	1	6	1	10	7	4	3	6	5	26	16
	2	5	3	11	9	2	4	5	2	23	18
	3	7	3	6	4	4	3	3	1	20	11
<u>C. lunata</u>	1	12	7	14	10	2	1	5	4	33	22
	2	9	3	6	5	1	2	4	3	20	13
	3	5	1	7	6	3	1	4	1	19	9
<u>Fusarium</u> spp	1	0	1	6	6	1	2	4	2	11	11
	2	0	0	7	8	2	3	4	1	13	12
	3	0	1	6	5	1	1	4	3	10	11

(continua)

(Continuação)

Fungos Inoculados	Cepa	Mancha nas folhas		Mancha no colo		Podridão de raízes		Plântulas mortas		Total c/ sintomas
		Ágar	Solo	Ágar	Solo	Ágar	Solo	Ágar	Solo	
<u>F. moniliforme</u>	1	0	1	8	7	6	4	7	4	21
	2	2	0	10	12	8	7	6	2	26
										21
<u>Helminthosporium spp</u>	1	12	6	5	3	3	2	8	3	28
	2	7	4	3	1	2	1	3	2	15
	3	10	6	8	1	2	3	2	1	22
										11
<u>H. rostratum</u>	1	14	5	7	2	2	1	5	2	28
	2	7	4	2	0	3	1	6	4	18
										9
<u>H. sacchari</u>	1	20	10	8	6	5	3	4	3	37
	2	11	10	6	5	2	1	1	3	20
	3	16	7	4	3	1	1	5	4	26
										15
<u>Pestalotia guepini</u>	1	4	1	2	1	1	0	2	3	9
	2	5	2	1	2	1	1	1	0	8
										5

31.

(continua)

(Continuação)

Fungos Inoculados	Cepa	Mancha nas folhas		Mancha no colo		Podridão de raízes		Plântulas mortas		Total c/ sintomas	
		Ágar		Ágar		Ágar		Ágar		Ágar	
		solo	Ágar	solo	Ágar	solo	Ágar	solo	Ágar	Solo	Ágar
<u>Phoma spp</u>	1	2	0	1	0	0	1	3	3	6	4
	2	4	0	0	0	0	0	2	1	6	1
	3	1	0	0	0	0	0	2	1	3	1
Testemunha		1	0	0	0	0	0	0	0	1	0

Obs: Cada isolado foi inoculado em 50 plântulas

As manchas nas folhas e colo, na maioria dos casos, evoluíram até causar a morte das plântulas, já as podridões de raízes mataram as plântulas por secamento da parte aérea.

Tabela 4. Determinação dos gêneros de fungos patogênicos que escaparam aos melhores fungicidas para tratamento de semente de cana-de-açúcar

Gêneros de fungos	Fungicidas									
	Formol	Formol	Thiram	Benlate	Busan	Dithane	Brometo	Aretan	Testemunha	
	1:50	1:20	2g/l	2g/l	31 1g/l	M 45 2g/l	de Metila 1cm <sup>3</sup> /20	1,5g/l		
	20 min		20 min							
<u>Cladosporium</u> spp	8	0	2	1	0	5	4	0	8	
<u>Curvularia</u> spp	12	0	1	7	2	8	4	1	16	
<u>Fusarium</u> spp	6	2	1	2	1	2	3	0	7	
<u>Helminthosporium</u> spp	10	1	2	6	1	5	6	1	14	
<u>Pestalotia</u> spp	0	0	0	0	0	0	1	0	2	
<u>Phoma</u> spp	11	2	1	1	0	4	7	1	13	
Total	47	5	7	17	4	24	25	3	60	
Porcentagem	78,33	8,33	10,16	20,83	6,66	40,00	40,16	5,00	100	

**Obs.** Cada tratamento continha 250 sementes e os dados representam o total de colônias identificadas, sendo comum encontrar-se mais de um fungo na mesma semente. No cálculo das porcentagens estas foram estimadas considerando-se a testemunha como 100%.

Tabela 5. Porcentagem de germinação e índice de vigor de sementes de cana-de-açúcar tratadas por 20 minutos com fungicidas

Fungicidas	Dosagem g/l	Porcentagem de germinação Médias	Índice de vigor Médias
Benlate	2,0	32,40 ab	12,02 a
	1,0	31,05 ab	11,46 ab
Dithane M 45	2,0	29,62 ab	11,05 ab
	1,0	28,93 ab	10,80 ab
Thiram	2,0	33,91 a	12,51 a
	1,0	32,84 a	12,14 a
Testemunha	0,0	26,84 b	10,06 b
C.V.		13,06	11,39

Médias obtidas de 250 sementes tratadas e as médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%.

#### 4.2.2. Tratamento com Busan 31

Os resultados obtidos na germinação e vigor das sementes tratadas com Busan 31 são apresentados nos Apêndices 3 e 4 e as médias dos tratamentos são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Porcentagens de germinação e índice de vigor de sementes de cana-de-açúcar tratadas durante 20 minutos com Busan 31.

Dosagem g/l	Porcentagem de Germinação (Médias)	Índice de Vigor (Médias)
0	43,50 a	15,08 a
1,0	42,56 a	13,97 a
0,5	41,31 a	13,49 a
0,25	39,37 a	12,89 a
C.V.	9,71	12,90

Médias obtidas de 250 sementes tratadas, e as médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%.

#### 4.2.3. Tratamento com Formol

Os resultados dos tratamentos com formol sobre a germinação são apresentados nos Apêndices 5 e 6 e as médias da porcentagem de germinação e do índice de vigor são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Porcentagem de germinação e índice de vigor das sementes de cana-de-açúcar tratadas com Formol

Diluições	Tempo de Tratamento (minutos)	Porcentagem de Germinação (Médias)	Índice de Vigor (Médias)
Formol 1:10	0	33,35 a	5,93 a
	15	21,34 b	3,56 b
	30	15,71 bc	2,66 bc
	45	10,49 c	1,67 c
C.V.		23,05	23,83
Formol 1:20	20	35,48 a	8,44 a
	40	29,15 a	6,85 a
	0	27,57 a	6,75 a
C.V.		17,82	18,00
Formol 1:50	20	41,54 a	8,75 a
	10	38,62 ab	7,76 a
	60	32,46 bc	6,93 ab
	50	32,35 bc	6,90 ab
	40	29,62 c	5,99 b
	0	25,86 c	5,96 b
C.V.		13,21	14,82

Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%  
 As médias foram obtidas de 200 sementes para Formol 1:10 e 1:50 e de 250 sementes para Formol 1:20

## 4.2.4. Tratamento com Brometo de Metila

Os resultados da germinação de 0,1 g de semente de cana-de-açúcar tratadas com Brometo de Metila são apresentados no Apêndice 7 e as médias da germinação são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Germinação das sementes de cana-de-açúcar após o tratamento com Brometo de Metila na concentração de 1 cm<sup>3</sup> por 20 litros de câmara.

Tempo de Tratamento (Minutos)	Germinação (Médias)
0	9,97 a
150	9,74 ab
180	8,30 b
210	8,15 b
C.V.	14,36

Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% e cada parcela continha 0,1 g de sementes.

#### 4.2.5. Tratamento com fungicida mercurial

Os resultados obtidos na germinação de 0,1 g de sementes tratadas com Aretan são apresentados no Apêndice 8 e as médias da germinação são apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9. Germinação das sementes de cana-de-açúcar após 2 minutos de tratamentos com Aretan

Dosagem g/l	Germinação (Médias)
1,50	9,76 a
0,75	8,77 b
0	1,92 c
C.V.	6,10

Médias com letras iguais não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5%

#### 4.3. Teste de resistência de progênies e progenitores

##### 4.3.1. Teste de progênies

Os resultados dos testes de resistência à H. sacchari em cruzamentos biparentais e policruzamentos são apresentados nas Tabelas 10 e 11, sendo estes dados transformados em porcentagens e agrupados em classes de resistência a fim de permitir comparações com as reações dos progenitores que lhes deram origem e que são apresentados na Tabela 12.

Tabela 10. Resistência das progênies de cana-de-açúcar ao fungo Helminthosporium sacchari e distribuídos em classes

Cruzamentos	Classe de Resistência					Total de Plântulas Inoculadas
	R		I	S		
	1	2	3	4	5	
BIPARENTAIS						
CB 49-260 × CB 41-76	1	6	5	10	19	41
CB 49-260 × M 202-46	41	18	19	32	29	139
COK 30 × CP 29-116	0	0	14	63	64	131
CP 29-116 × COK 30	4	5	2	27	43	81
M 202-46 × EROS	3	5	5	24	37	74
M 202-46 × CB 49-260	18	22	13	104	63	220
M 202-46 × CP 29-116	8	9	35	93	66	211
POLICRUZAMENTOS						
CB 40-52	16	12	27	60	99	214
CB 46-47	1	0	3	45	113	162
CB 49-62	23	20	24	46	43	156
CB 61-2	11	5	9	33	109	167
CO 421	2	6	7	21	135	171
CP 52-107	2	5	11	35	55	108
NCO 310	4	0	4	48	154	210
PR 980	60	65	43	98	174	440

Classes de resistência variando de 1 a 5 sendo 1 e 2 resistente (R) 3 intermediária (I) e 4 e 5 suscetíveis (S).

Tabela 11. Dados da Tabela 10 transformados em porcentagem de plântulas, com agrupamento de classes

Cruzamentos	Classificação de Resistência		
	R	I	S
	%	%	%
BIPARENTAIS			
CB 49-260 x CB 41-76	17,07	12,19	70,84
CB 49-260 x M 202-46	42,44	13,66	43,90
COK 30 x CP 29-116	0,00	1,07	98,93
CP 29-116 x COK 30	11,11	2,46	86,43
M 202-46 x EROS	10,81	6,75	82,44
M 202-46 x CB 49-260	18,18	5,90	75,92
M 202-46 x CP 29-116	8,05	16,12	75,83
POLICRUZAMENTOS			
CB 40-52	13,08	12,63	74,29
CB 46-47	0,61	1,84	97,55
CB 49-62	27,56	15,38	57,06
CB 61-2	9,58	5,38	85,04
CO 421	4,67	4,09	91,24
CP 52-107	6,48	10,18	83,34
NCO 310	1,90	1,90	96,20
PR 980	28,40	9,77	61,83

Classes de resistência: Resistente (R), Intermediário (I) e Suscetível (S)

#### 4.3.2. Teste dos progenitores

Os resultados dos testes de resistência à H. sacchari nos progenitores são apresentados na Tabela 12.

#### 4.3.3. Avaliação da pré-seleção de plântulas resistentes à H. sacchari devido à presença desse fungo nas sementes

Os resultados dos testes são apresentados na Tabela 13 onde as reações das plântulas são divididas em classe de resistência e transformados em % em relação ao número total de plântulas germinadas dentro do mesmo tratamento para permitir comparações nas mesmas bases.

Tabela 12. Resistência de progenitores de cana-de-açúcar à Helminthosporium sacchari

Progenitores	Repetições					Médias	Classificação
	A	B	C	D	E		
CB 40-52	5	4	4	4	4	4,2	S
CB 41-76	3	4	4	4	4	3,8	S
CB 46-47	4	5	4	4	4	4,2	S
CB 49-62	1	1	1	2	1	1,2	AR
CB 49-260	2	2	1	2	2	1,8	R
CB 61-2	3	3	3	2	3	2,8	MR
CO 421	5	4	4	5	5	4,6	AS
COK 30	2	3	3	3	3	2,8	MR
CP 29-116	4	4	4	4	4	4,0	S
CP 52-107	3	2	2	2	2	2,2	R
EROS	4	5	5	5	4	4,6	AS
M 202-46	2	3	3	3	3	2,8	MR
NCO 310	5	5	5	5	5	5,0	AS
PR 980	1	1	1	1	1	1,0	AR

Critério de classificação baseado em notas de 1 a 5

Médias	Classificação
1,0 - 1,5	Altamente Resistente (AR)
1,6 - 2,5	Resistente (R)
2,6 - 3,5	Moderadamente Resistente (MR)
3,6 - 4,5	Suscetível (S)
4,6 - 5,0	Altamente Suscetível (AS)

Tabela 13. Ocorrência de pré-seleção para resistência à Helminthosporium sacchari em sementeiras de progênies da variedade de cana-de-açúcar PR 980 expressa em número de plântulas e as respectivas porcentagens.

Sementes Tratadas	Classe de Resistência					Total
	R		I	S		
	1	2	3	4	5	
Com Thiram nº	27	47	32	31	161	298
%	9,0	15,8	10,8	10,4	54,0	
Sem Thiram nº	60	65	43	98	174	440
%	13,6	14,7	9,7	22,3	39,7	

As sementes usadas apresentavam 20% de infecção de Helminthosporium spp  
 Classes de Resistência: 1 e 2 Resistentes (R), 3 Intermediárias (I) e  
 4 e 5 Suscetíveis (S)

## 5. DISCUSSÃO

### 5.1. Determinação dos fungos nas sementes

#### 5.1.1. Fungos encontrados nos cariopses e casca de sementes de cana-de-açúcar

Do exame de 400 sementes ficou evidente que as sementes analisadas apresentavam alto grau de contaminação, pois dos 400 cariopses inicialmente testados 292 apresentavam-se infectados, representando 73% do total. Os exames dos fungos da casca apresentaram resultados mais elevados, pois era frequente a ocorrência de 2 fungos diferentes em uma mesma casca, resultando que 400 cascas testadas produziram 430 colônias diferentes, dando um índice de 107,5% de cascas infectadas. O exame da Tabela 1 mostra que 13 gêneros de fungos estão presentes nas sementes. No cariopse, os gêneros Cladosporium, Curvularia, Fusarium, Helminthosporium, Pestalotia e Phoma apresentaram porcentagem de infecção variando de 5,25% a 15,75%. De um modo geral, os mesmos gêneros patogênicos encontrados no cariopse também ocorrem em alta frequência na casca.

### 5.1.2. Levantamento dos fungos em 45 amostras de policruzamentos e biparentais

O levantamento dos fungos das 45 amostras de policruzamentos e biparentais, apresentados na Tabela 2, mostram que os gêneros mais frequentes foram: Curvularia (184 colônias), Helminthosporium (119 colônias), Phoma (79 colônias) e Fusarium (27 colônias). Os gêneros Cladosporium e Pestalotia, frequentes nos testes anteriores, quase não foram observados. Dos 13 gêneros alistados na Tabela 1, 11 são encontrados na Tabela 2, mas as porcentagens de infecção das sementes foram bem menores neste caso variando até um máximo de 26% na variedade CO 421, índice este bem inferior ao de 73% no cariópse e 107,5% na casca do teste anterior. Diversos fatores podem ter contribuído para esta discrepância, tais como, competição entre os fungos, resistência varietal e condições de produção das sementes. No caso particular da Pestalotia, que apresenta crescimento lento, acreditamos que o fungo teve seu crescimento inibido pelos fungos de crescimento mais vigoroso.

Os resultados observados no levantamento dos fungos das sementes permitem que possamos atribuir uma grande parte da morte das plântulas, logo após a germinação e transplante, às espécies patogênicas que acompanham as sementes. Comparando-se os resultados obtidos com a inoculação de H. sacchari com os resultados obtidos por LOVELLES e SMITH (1956), vemos que eles são concordantes e, que nas condições brasileiras, os resultados se confirmam.

A espécie H. rostratum, que mostrou alta patogenicidade sobre sementes e plântulas nos testes realizados, encontrou similaridade com os dados obtidos por BYTHER e STEINER (1969 e 1972 a) em sementes

de cana-de-açúcar, no Havai. Diversas espécies de gramíneas têm sido citadas, onde este fungo causa queima de plântulas e manchas foliares, (WHITEHEARD e CALVET (1959) e SMITH (1966)), podendo, portanto, servir como fontes de inóculo para a contaminação das sementes de cana-de-açúcar. Resultados similares ao anterior foram encontrados com o fungo Curvularia lunata que também já havia sido descrita como um dos principais patógenos para as plântulas de cana-de-açúcar, no Havai, (BYTHER e STEINER (1969)). Fungos da mesma espécie são citados atacando outras gramíneas entre as quais o arroz, AGUIERO et alii (1966) causando morte de plântulas.

A espécie Fusarium moniliforme, que se mostrou altamente patogênica em sementes de cana-de-açúcar, é conhecida nesta planta como agente causal do "Pokkah boeng" e podridões do colmo em plantas adultas, MARTIN et alii (1961). O "Pokkah boeng" manifesta-se em condições de umidade elevada, encontrando, portanto, condições ideais para seu desenvolvimento nos locais onde se realizaram os cruzamentos, podendo, desta maneira, servir como fonte de inóculo para as sementes. O F. moniliforme é um patógeno comum em sementes de outras gramíneas como o arroz, o trigo, o sorgo e o milho, VIDHYASEKARAN et alii (197), RAM NATH et alii (1970), WINTER et alii (1974), NEERGAARD (1970 e 1972), e sua localização está frequentemente associada ao embrião, dificultando assim a germinação e o bom desenvolvimento das plântulas. Em Sorghum vulgare, MATHUR e NATH (1970) relataram a ocorrência de Pestalotia guepini como agente patogênico sobre sementes e plântulas. Assim como a P. guepini, os fungos Cladosporium sp (possivelmente C. herbarum) e Phoma sp, que foram encontrados em sementes de cana, possuem baixa patogenicidade, mas, são citadas como cosmopolitas e atacando folhas e plântulas de sorgo e milho (U.S.D.A., Agriculture Handbook nº 165 (1960)) sendo que não se tem conhecimento de nenhum trabalho relatando esses gêneros em cana-de-açúcar.

### 5.1.3. Teste de patogenicidade dos fungos encontrados nas sementes

Dos fungos encontrados nos cariopses e nas cascas das sementes de cana-de-açúcar, foram selecionados os que se apresentavam em alta frequência e também aqueles que são descritos como patogênicos para outras espécies de plantas cultivadas.

Os testes foram realizados em solo esterilizado e em substrato ágar-água inoculando-se 50 plântulas para cada um dos fungos selecionados. De um modo geral, os fungos apresentaram uma maior patogenicidade para plântulas conduzidas em ágar-água que as conduzidas em solo (Tabela 3). Tal resultado poderia ser devido ao fato do substrato ágar-água favorecer um maior contacto entre o inóculo e as plântulas, além de favorecer uma rápida multiplicação do fungo, colocando, portanto, todas as plântulas em contacto com uma grande quantidade de inóculo.

No solo, a ação do inóculo pode ter sofrido ação fungistática de outros organismos, bem como, as irrigações periódicas necessárias para manter a umidade poderia ter lavado grande parte do inóculo fazendo diminuir as chances de infecção.

Os resultados obtidos no teste de patogenicidade com os fungos H. sacchari, H. rostratum e C. lunata concordam com os dados obtidos por LEVELESS e SMITH (1956) e BYTHER e STEINER (1969) que atribuíram a esses fungos a principal causa da morte de plântulas em caixas de semeadura admitindo a necessidade de controlar esses patógenos para melhorar a germinação das sementes. A sintomatologia apresentada em nossos testes são bastante semelhantes para os 3 fungos citados, concordando

também com os resultados de BYTHER e STEINER (1969).

Na literatura não se encontrou nenhum relato do fungo F. moniliforme causando morte de plântulas nem de sua transmissão pelas sementes de cana-de-açúcar. Acreditamos ser este o primeiro relato de sua ocorrência em sementes de cana-de-açúcar. Fato semelhante repete-se com a ocorrência de P. guepini, Cladosporium sp e Phoma sp, que foram encontrados em sementes de cana-de-açúcar e apresentaram pequena patogenicidade, mas aumentam os dados globais quando atuam juntamente com outros patógenos.

Além das espécies classificadas, ocorrem em sementes de cana-de-açúcar outros fungos dos gêneros Helminthosporium, Curvularia, Fusarium e Cladosporium, que não puderam ser classificados com os recursos que dispúnhamos, apresentando alguns deles alta patogenicidade para plântulas de cana-de-açúcar, (Tabela 3).

#### 5.1.4. Determinação dos fungos patogênicos que escapam aos melhores tratamentos químicos.

Neste ensaio, os fungos patogênicos prevalentes na testemunha foram os seguintes: Curvularia spp (16 colônias), Helminthosporium spp (14 colônias), Phoma spp (13 colônias), Cladosporium spp (8 colônias), Fusarium spp (7 colônias) e Pestalotia spp (2 colônias), sendo que estes resultados foram obtidos em 250 sementes. O total de colônias de fungos na testemunha foi de 60 e para fins de comparação foram considerados como sendo 100% de infecção (Tabela 4).

Os fungos dos gêneros Curvularia e Helminthosporium, que eram os de maior frequência, foram controlados somente pela utilização de Formol 1:20 por 20 minutos, por Thiram 2 g/litro, Busan 1 g/litro e Aretan 1,5 g/litro, sendo que os dois últimos têm o inconveniente de apresentarem fitotoxidez. Os fungos do gênero Fusarium foram facilmente controlados por quase todos os tratamentos fungicidas exclusive nos tratamentos com Formol 1:50 e Brometo de Metila, como se pode notar na Tabela 4. No caso de Cladosporium spp e Phoma spp, que também foram fungos de alta frequência nas sementes, podem ser recomendados os mesmos tratamentos que serviram para controlar os fungos Curvularia e Helminthosporium pois apresentaram praticamente os mesmos resultados. A baixa frequência de fungos do gênero Pestalotia, apesar de sua presença associada ao cariopse, parece não apresentar grandes dificuldades em seu controle pois todos os fungicidas testados apresentaram-se eficientes em seu controle.

Os resultados obtidos com a utilização do Brometo de Metila (40,16% de infecção) repetem os resultados que serão discutidos no item 5.2.3. e contrariam o que aconteceu no Havaí, onde o Brometo é eliminado, CHESTER A. WISMER, informação verbal. Tal fato talvez possa ser explicado pela existência de patógenos diferentes dos aqui encontrados, ou então, pela predominância de espécies mais sensíveis ao tratamento com Brometo de Metila. A existência de 1% de cloropicrina na formulação do Brometo de Metila por nós utilizado também deve ser levado em conta como uma causa de interferência.

No tratamento com Dithane M 45 a porcentagem de infecção total de 40% demonstrou a baixa eficiência do produto na desinfecção de sementes de cana-de-açúcar. Sendo que 54,1% do total dos fungos desse

tratamento pertenciam aos gêneros Curvularia e Helminthosporium, os nossos dados estão em desacordo com os obtidos por VIR DHARAN et alii (1970) com Dithane M 45 para controlar Helminthosporium em arroz, cevada e aveia, levando a crer que as espécies que ocorrem na cana-de-açúcar são mais resistentes a este produto.

Apesar de que nenhum dos tratamentos utilizados neste teste deu um controle de 100% dos patógenos que acompanham as sementes de cana-de-açúcar, pode-se notar que a eliminação de alguns gêneros ou espécies desses fungos foi suficiente para melhorar o índice de vigor e germinação dessas sementes. Maiores detalhes sobre a eficiência de cada um dos produtos utilizados no tratamento de sementes serão discutidos posteriormente.

Nas condições experimentais estudadas, os resultados mais satisfatórios foram obtidos pelo uso de Thiram 2 g/litro e Formol 1:20, que além de controlar quase todos os fungos (10,16% e 8,33% de infecção, respectivamente), não apresentaram ação fitotóxica sobre as plântulas. O Thiram, devido ao seu efeito residual e outras características inerentes ao produto, foi considerado o mais adequado para o tratamento de sementes de cana-de-açúcar nos casos onde o resíduo não interfere nos tratamentos subsequentes. O Formol 1:20 seria recomendável para casos onde não se deseja resíduos de fungicidas nas sementes.

## 5.2. Tratamento químico das sementes

### 5.2.1. Tratamento com os fungicidas Benlate, Dithane M 45, Thiram e Busan 31

No tratamento das sementes por via úmida, constatou-se que o fungicida Thiram nas dosagens de 1,0 e 2,0 g/litro apresentou a melhor germinação, diferindo estatisticamente da testemunha não tratada. Nenhum dos outros produtos utilizados apresentou diferença estatística em relação à testemunha. Tal fato se deve possivelmente a uma melhor ação do Thiram contra os fungos patogênicos encontrados nas sementes, de maneira que as sementes germinaram livres da concorrência dos patógenos.

Na análise de vigor, notamos que o efeito benéfico do Thiram não foi apenas em uma melhor germinação, mas também em um aumento no vigor das sementes permitindo uma rápida germinação. Um aumento no vigor em relação à testemunha foi observado também no tratamento com Benlate 2,0 g/litro o que pode ser atribuído ao controle de alguns dos patógenos da semente pelo seu efeito sistêmico. As outras dosagens e produtos utilizados não apresentaram diferenças significativas no vigor das sementes quando comparadas com a testemunha.

No controle dos fungos presentes nas sementes, os melhores resultados foram obtidos com o uso de Thiram 2,0 g/litro, os demais fungicidas e dosagens apresentaram um controle apenas parcial dos fungos, fato este devido ao grande número de gêneros de fungos encontrados nas sementes e que cada produto tem uma atuação restrita para apenas alguns gêneros.

A utilização do Busan 31 apresentou o inconveniente de um alto efeito fitotóxico manifestando-se por uma inibição na formação de raízes e um secamento da parte aérea das plântulas. Apesar de não apresentarem diferenças estatísticas na germinação em relação à testemunha, podemos notar que o Busan 31 apresentou um perfeito controle da maioria dos fungos presentes nas sementes, mas que as sementes tratadas produziram plântulas anormais e de tamanho reduzido quando comparadas com as plântulas testemunhas.

O vigor das plântulas foi influenciado pela fitotoxidez do fungicida; a testemunha, que apresentava os fungos nas sementes, teve, aparentemente, maior vigor que os tratamentos que receberam o Busan 31. As diferenças não chegaram a atingir níveis de significância estatística.

A utilização do Benlate e Dithane M 45 apresentou o inconveniente de não controlarem perfeitamente os fungos do gênero Helminthosporium e Curvularia apesar de ambos os fungicidas não terem ação fitotóxica sobre as sementes. No referente ao Benlate, os dados estão de acordo com VIR DHARAM et alii (1970) e BYTHER e STEINER (1972 a), mas, no caso do Dithane M 45, VIR DHARAM et alii (1970) obtiveram ótimos resultados no controle desses fungos em cevada, arroz e aveia, o que não acontece na cana-de-açúcar, possivelmente devido à resistência da espécie ao Dithane M 45.

### 5.2.2. Tratamentos com Formol

Conforme os resultados apresentados na Tabela 7, os tratamentos com Formol 1:10 foram prejudiciais à germinação de tal modo que a testemunha, que não sofreu tratamento, teve uma melhor germinação e diferiu estatisticamente de todos os tratamentos com esta diluição. Este resultado indica que o efeito da exposição das sementes ao Formol 1:10, apesar do bom controle dos fungos, tem efeito danoso para a germinação, efeito esse que aumenta de forma progressiva com o tempo de exposição. O tratamento por 15 minutos com Formol 1:10 também apresentou diferença significativa quando comparado com o tratamento por 45 minutos. O efeito danoso do Formol 1:10 manifestou-se também no vigor das sementes de tal modo que os resultados apresentados na Tabela 7 mostram a testemunha com melhor índice de vigor.

No experimento de tratamento de sementes com Formol 1:20 (Tabela 7) pudemos observar que não houve nenhum efeito benéfico ou prejudicial à germinação que fosse estatisticamente demonstrável. Apesar disto, durante a condução do experimento, notamos que o tratamento com Formol 1:20 por 20 minutos apresentou um perfeito controle dos fungos e também uma certa melhoria na germinação. Os índices de vigor médios apresentados na Tabela 7 não apresentaram diferenças estatísticas entre os diversos tratamentos, indicando que o tratamento com Formol 1:20 não modificou o índice de vigor das sementes de cana-de-açúcar.

O exame dos resultados da Tabela 7 evidenciam que os tratamentos por 10 e 20 minutos com Formol 1:50 têm um efeito benéfico na germinação das sementes e que foram estatisticamente diferentes dos demais tratamentos. Todos os tratamentos com Formol 1:50 apresentaram fungos

quando foram colocados para germinar em ágar-água, mas, variaram em intensidade de acordo com o tempo de tratamento indicando ação fungistática e não fungicida.

Na análise dos índices de vigor nos diversos tratamentos com Formol 1:50, notou-se um efeito benéfico dos tratamentos por 10 e 20 minutos que apresentaram diferenças estatísticas em relação aos outros tratamentos. O tratamento por 40 minutos apresentou mais baixa germinação e pior índice de vigor que os outros tratamentos. Tal resultado não permite facilidade de explicação uma vez que a mesma dosagem foi utilizada durante os tempos de 50 e 60 minutos e não sofreram tamanhos efeitos. Isto só pode ser explicado por alguma interferência involuntária durante a execução do experimento.

### 5.2.3. Tratamentos com Brometo de Metila

O experimento com Brometo de Metila (Tabela 8) demonstrou que a testemunha não tratada teve uma melhor germinação e que foi significativamente superior aos tratamentos por 180 e 210 minutos, mas não diferiu estatisticamente do tratamento por 150 minutos.

Estes resultados mostram que o tratamento com Brometo de Metila com 1% de cloropicrina tem efeito prejudicial à germinação de sementes de cana-de-açúcar, além de não controlar a maioria dos fungos que nelas ocorrem. Esses dados estão em desacordo com os obtidos no Havai (CHESTER A. WISMER - comunicação pessoal) onde se recomenda o uso de Brometo de Metila (sem cloropicrina) para controlar os fungos que atacam as sementes de cana. Os resultados obtidos poderiam ser atribuídos às di-

ferenças entre os produtos utilizados ou também na metodologia utilizada para o tratamento.

Devido ao efeito prejudicial na germinação e o não controle dos fungos nas sementes, não nos foi possível avaliar o índice de vigor, uma vez que todas as plântulas apresentavam-se danificadas pelos fungos ou com outras anomalias.

#### 5.2.4. Tratamento com fungicida mercurial

A imersão das sementes em uma solução de Aretan nas dosagens de 0,75 e 1,5 g/litro por 2 minutos produziu excelente germinação. A análise estatística dos resultados da Tabela 9 pelo teste de Duncan apresentou significância para ambas as dosagens em comparação com a testemunha. O tratamento com 1,5 g de Aretan por litro de água foi significativamente melhor para a germinação que o tratamento com 0,75 g/litro de água.

Apesar do número de sementes germinadas aumentar com o tratamento com Aretan, não se pode recomendar a utilização deste produto no tratamento das sementes de cana-de-açúcar, pois todas as plântulas nascidas apresentaram as raízes atrofiadas enquanto que a parte aérea apresentava-se normal. Tal fato foi por nós considerado como fitotoxidez do produto mercurial. Este fato é também citado por TORGESON (1967) em sementes de cereais.

A análise de vigor das sementes não foi possível ser realizada uma vez que somente plântulas com perfeito desenvolvimento devem

ser consideradas para este tipo de análise. As testemunhas apresentaram-se intensamente atacadas por fungos os quais fizeram com que a germinação baixasse drasticamente. A toxidez do produto mercurial parece aumentar devido à utilização do substrato ágar-água, em caixas de Petri. Nestas condições o fungicida se difunde pelo substrato mas permanece nas proximidades das sementes devido à pequena quantidade de substrato na caixa de Petri. Outro fator que reforça tal hipótese é que em experimentos similares, onde foi utilizado Aretan em pulverização de sementes de cana em solo, não se encontrou nenhuma evidência de toxidez. Isto talvez explique porque BYTHER e STEINER (1969) não notaram toxidez quando usaram "Panogen" no tratamento de sementes de cana-de-açúcar no Havai.

### 5.3. Testes de resistência de progênies e progenitores à H. sacchari

#### 5.3.1. Teste das progênies

Os testes de progênies provenientes dos policruzamentos e dos cruzamentos biparentais apresentados nas Tabelas 10 e 11 nos indicam que:

a) diferentes variedades que possuem o mesmo grau de resistência para H. sacchari, apresentam progênies com diferenças na distribuição da frequência de suscetibilidade;

b) quando em cruzamentos biparentais, uma variedade que funcionou como mãe em um cruzamento e funciona como pai em um outro, tem a reação da progênie totalmente alterada;

c) a inversão dos papéis dos progenitores de pai para mãe

em determinados cruzamentos, como nos casos de COK 30 x CP 29-116 e M 202-46 x CB 49-260, que tiveram a inversão CP 29-116 x COK 30 e CB 49-260 x M 202-46, apresentaram em suas progênes reações diversas as quais não podem ser somente atribuídas a casualidades das combinações genéticas.

BYTHER e STEINER (1972 b), apesar de em seu trabalho não terem usado cruzamentos biparentais, encontraram resultados semelhantes aos acima citados e concluem que as reações das progênes dependem sobretudo da produção e fertilidade do pólen, reação dos pais para H. sacchari e da variabilidade genética da fêmea.

A ocorrência de resultados diferentes em lotes de sementes possuidoras da mesma planta-mãe pode ser explicado pela possibilidade da resistência ser controlada por um sistema multigênico derivado de quatro diferentes espécies de Saccharum, BYTHER e STEINER (1972). A utilização de diferentes espécies de Saccharum para a obtenção dos atuais híbridos comerciais pode ter dado origem a uma forma de resistência que seria variável de acordo com as espécies utilizadas originalmente para a sua obtenção, bem como os números de gens que estariam envolvidos na manifestação da resistência ou suscetibilidade, sendo que possivelmente cada uma das espécies de Saccharum utilizada contribuiu com pelo menos um gen de resistência ou suscetibilidade, teríamos casos de híbridos com resistência ou suscetibilidade governada apenas por um único gen, híbrido com 2 genes de resistência, com 3 genes e com 4 genes ou mais. Nos programas atuais de melhoramento ou cruzamentos são feitas utilizando-se estes híbridos de maneira que para cada cruzamento teríamos diversas possibilidades de combinações genéticas envolvendo os genes de resistência ou suscetibilidade de ambos os progenitores. Portanto, estes fatos tornariam

possível a ocorrência dos resultados obtidos nos testes das progênies , onde a resistência dos progenitores nem sempre faz com que a maior parte de sua progênie seja resistente.

Outros fatores que devem ser considerados é a possibilidade da resistência ser governada por um fator citoplasmático, portanto, sempre ligada ao progenitor feminino, ou então a existência de apomixia, quando da formação das sementes. Estes fatores possivelmente explicariam a variação encontrada quando se testaram progênies onde os papéis dos progenitores foram invertidos.

Nas condições descritas em Material e Métodos para a inoculação dos progenitores e das progênies, os primeiros sintomas da "mancha ocular" foram notadas 12 horas após a inoculação com o aparecimento de manchas pardo-avermelhadas na superfície do limbo foliar das plântulas suscetíveis e de plântulas resistentes. Esse resultado difere dos resultados obtidos por OSADA e FLORES (1969) que obtiveram os primeiros sintomas apenas 3 dias após a inoculação. Tal diferença se deve ao fato de termos dado às plântulas melhores condições para que a doença se instalasse devido aos ambientes de pré-inoculação e pós-inoculação.

O método de inoculação empregado apresentou alta eficiência, pois nos testes das progênies e dos progenitores entre a primeira e a segunda inoculação, determinou-se apenas 2% de plantas escapes, o que demonstra a eficiência do método de revólver de pintura na distribuição de inóculo e o acerto das condições para o desenvolvimento da doença.

### 5.3.2. Testes dos progenitores

Os testes de progenitores realizados em condições controladas na casa de vegetação simultaneamente aos testes de progênies permitem afirmar que ótimas condições para o desenvolvimento da doença prevaleceram durante o teste, e os resultados obtidos possibilitam classificar as variedades de cana-de-açúcar nas seguintes classes:

Altamente Resistentes - CB 49-62 e PR 980

Resistentes - CB 49-260 e CP 52-107

Moderadamente Resistente - COK 30, CB 61-2 e M 202-46

Suscetíveis - CP 29-116, CB 41-76, CB 40-52 e 46-47

Altamente Suscetíveis - EROS, NCO 310 e CO 421

Acreditamos que comparações absolutas dos resultados obtidos com os resultados de outros pesquisadores realizados com métodos e condições ambientais diferentes não possam ser efetuadas uma vez que estes fatores interferem na sintomatologia e expressão da suscetibilidade das plantas. De acordo com o relatório anual da PLANALSUCAR 1973, que apresenta dados referentes a inoculações de H. sacchari em condições de campo, as variedades CB 41-76 e CB 49-260 são citadas como moderadamente suscetíveis, enquanto que nos testes realizados neste trabalho, em condições de casa de vegetação, elas se apresentaram como suscetível e resistente, respectivamente. As variedades CB 46-47 e M 202-46 são apresentadas como suscetível e resistente em condições de campo, enquanto que nas condições de casa de vegetação elas foram suscetível e moderadamente resistente, respectivamente. Na maioria dos casos, os testes em casa de vegetação pareceram mais drásticos que os testes de campo. Tal fato talvez se deva às excelentes condições para o desenvolvimento da

doença à que foram submetidas as plantas dentro da casa de vegetação ou a diferenças entre os inóculos usados.

#### 5.4. Avaliação da pré-seleção de plântulas resistentes à *H. sacchari*,

Devido à ocorrência de *H. sacchari* nas sementes de cana-de-açúcar, foram realizados, com a progênie da variedade PR 980, estudos sobre ocorrência de seleção precoce para este fungo em caixas de semeadura de cana-de-açúcar.

Analisando a Tabela 13, podemos notar que houve apenas pequenos desvios das porcentagens dentro das classes, mas que, se agruparmos os indivíduos resistentes, os intermediários e os suscetíveis nos dois tratamentos, veremos que não houve grandes alterações nas porcentagens dentro das classes. Diversas hipóteses podem estar de acordo no presente caso, dentre estas, duas nos parecem mais viáveis:

a) os fungos que se encontram nas sementes atuam indiscriminadamente tanto em plantas suscetíveis como em resistentes, de maneira que naquela idade, as plântulas não parecem possuir resistência definida;

b) como o teste foi realizado apenas com *H. sacchari*, os resultados não apresentaram diferenças muito grandes, por ser este fungo apenas uma fração da população total do gênero *Helminthosporium* que contaminava as sementes, fazendo com que a sua ação ficasse diluída.

## 6. CONCLUSÕES

a) Os fungos dos gêneros Helminthosporium, Curvularia e Fusarium apresentam-se em alta frequência em sementes de cana-de-açúcar e são responsáveis por boa parte da baixa germinação e morte de plântulas apresentadas pelos cruzamentos.

b) Os fungos dos gêneros Pestalotia, Phoma e Cladosporium não possuem grande patogenicidade sobre as sementes de cana-de-açúcar, contribuindo apenas para que aumente o efeito global causado pelos patógenos mais agressivos.

c) No controle dos fungos das sementes, nas condições estudadas, os fungicidas Thiram 2 g/litro e Formol 1:20 por 20 minutos, foram os que apresentaram os resultados mais satisfatórios.

d) Para trabalhos com sementes de cana-de-açúcar, onde não se pode ter fungos contaminantes e nem resíduos de fungicidas, é recomendável o uso de Formol 1:20 por 20 minutos. Nos casos onde o resíduo de fungicidas não interferir nos resultados pode-se usar Thiram 2 g/litro.

e) Não se deve tratar sementes de cana-de-açúcar por imersão em fungicida Aretam devido à sua alta ação fitotóxica.

f) A espécie Helminthosporium sacchari, encontrada acompanhando as sementes de cana-de-açúcar, não tem grande efeito na seleção prematura de clones resistentes, mas sim, uma ação conjunta indiscriminada na qual atuariam todos os fungos do gênero Helminthosporium e que mascararia o efeito da espécie em questão.

g) As reações das progênies para resistência à H. sacchari, indicam uma complexidade na herdabilidade do fator de resistência que impossibilita uma perfeita orientação para a escolha dos progenitores com a finalidade de obter clones resistentes nos cruzamentos.

## 7. RESUMO

As sementes de cana-de-açúcar, em vista da maneira e das condições ambientais em que são produzidas, propiciam uma alta incidência de patógenos nas sementes, as quais interferem na germinação, programas de produção de mudas e seleção de variedades resistentes às doenças. Face à importância do problema, investigou-se, em condições de laboratório e casa de vegetação, a patologia de 45 amostras de sementes de cana-de-açúcar, controle dos patógenos das sementes e ocorrência de pré-seleção à Helminthosporium sacchari em caixas de semeadura. Fez-se em casa de vegetação testes de progenitores e progênies quanto à resistência à H. sacchari, procurando-se ter idéia de herdabilidade de resistência ao fungo.

Para o controle dos fungos da semente foram testados os fungicidas Benlate, Thiram, Busan 31, Dithane M 45, Brometo de Metila, Aretam e Formol em várias dosagens. Os que apresentaram melhores resultados foram: Thiram 2 g/litro e Formol 1:20 os quais apresentaram o mais perfeito controle dos fungos e a melhor germinação das sementes.

Os testes de resistência ao Helminthosporium sacchari permitiram a classificação dos progenitores em CB 49-62 e PR 980 altamente resistentes, CB 49-260 e CP 52-107 resistentes, COK 30, CB 61-2 e M 202-46 moderadamente resistentes, CP 29-116, CB 41-76, CB 46-47 suscetíveis e CO 421, NCO 310 e EROS altamente suscetíveis.

Progênes de cruzamentos com progenitores testados foram analisados para a resistência ao H. sacchari e notou-se a impossibilidade da orientação precisa dos cruzamentos para obtenção de variedades resistentes a esta doença e possíveis causas deste fato são discutidas.

## 8. SUMMARY

The seeds of sugarcane because of environmental conditions and the method of production are subject to high incidence of pathogens, which interfere in the germination, programs of production of seedlings and selection of varieties resistant to the diseases. Because of the importance of the problem, investigations were made under laboratory and greenhouse conditions studying the pathology of 45 samples of sugarcane seeds, control of pathogens and the pre-selection to Helminthosporium sacchari in seedling beds.

In the greenhouse, tests of progenitors and progenies were done testing the resistance to H. sacchari in an attempt to find the mechanism of inheritance of resistance to the fungus.

To control the fungus, seeds were treated with the following fungicides: Benlate, Thiram, Busan 31, Dithane M 45, Methil Bromide, Aretan and Formaline in various dosages. Thiram 2 g/litre and Formaline 1:20 produced the best results with the most perfect control of the fungi and better germination of the seeds.

The tests of resistance to H. sacchari permitted the following classification of progenitors: CB 49-62 and PR 980 highly resistant, CB 49-260 and CP 52-107 resistant, COK 30, CB 61-2 and M 202-46 moderately resistant, CP 29-116, CB 41-76, CB 40-52, and CB 46-47 susceptible and CO 421, NCO 310 and EROS highly susceptible.

Progenies of crossings with test progenitors were analyzed for resistant to H. sacchari and it was concluded from the tests and observations that precise evaluations of inheritance of resistance of parents was difficult to analyze. Possible explanations are discussed.

## 9. LITERATURA CITADA

- AGUIERO, V.M., O.R. EXCONDE e I.J. QUINTANA. 1966. Seed-borne fungi of rice and their response to seed treatment. *Philippine Ag.* 49:871 - 878.
- BARNETT, H.L. e B.B. HUNTER. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi. 3ª ed. Burgess Publishing Company. 241 pp.
- BENOIT, M.A. e S.B. MATHUR. 1970. Identification of species of Curvularia on rice seed. *Proc. Int. Seed. Test. Ass.* Vol. 35 nº 1.
- BURR, G.O., C.E. HARTT, H.W. BRODIE et alii. 1957. The sugarcane plant. *Ann. Rev. Plant. Physiology* nº 275-308.
- BYRD, H.W. 1957. Seed technology handbook. Jacarezinho, PR. Sementes Agroceres 45 pp. (mimeografado).
- BYTHER, R.S. e G.W. STEINER. 1969. Seedlings diseases and their control. *Annu. Rep. Exp. Sta. Hawaiian Sugar Planters Ass.* 58-59.
- BYTHER, R.S. e G.W. STEINER. 1972 a. Four sugarcane seedlings diseases in Hawaii: Causal Agents, Control, and a Selective Medium for isolation. *Phytopathology* 62:120-124.
- BYTHER, R.S. e G.W. STEINER. 1972 b. Use of Helminthosporoside to select sugarcane seedlings resistant to eye spot disease. *Phytopathology* 62: 466-470.

- DRECHSLER, C. 1923. Some graminicolous species of Helminthosporium. Jour. Agr. Res. 24:641-740.
- GUBA, E.F. 1961. Monograph of Monochaetia and Pestalotia. Harvard University Press Cambridge, Massachusetts 342 pp
- LIU, LII JANG. 1969. The effect of temperature on various aspects of the development, occurrence and pathogenicity of Helminthosporium stenospilum and Helminthosporium sacchari in Puerto Rico. Proc.Int. Soc. Sugar Cane Tech. 1212-1218.
- LOVELLESS, A.R. e C.E.M. SMITH. 1956. Seedling blight of sugar-cane: A new disease caused by Helminthosporium sacchari BUTLER. Ann. Appl. Biol. 44(3):419-424.
- MARTIN, J.P. 1941. Pathology report of Experiment Station, Hawaiian Sugar Planters' Association. 28-42.
- MARTIN, J.P., E.V. ABBOTT e C.G. HUGHES. 1961. Sugar cane disease of the world. Vol. 1. Elsevier Publ. Co. N.Y.
- MATHUR, S.B. e RAN NATH. 1970. Pestalotia guepini DESM. in seeds of Sorghum vulgare PERS. Proc. Int. Seed Test Ass. 35:165-168.
- NATH, RAN, P. NEERGAARD e S.B. MATHUR. 1970. Identification of Fusarium species on seeds as they occur in Blotter test. Proc. Int. Seed test Ass. Vol. 35 nº 1.
- NEERGAARD, P. 1970. Seed Pathology of Rice. Plant Disease Problems. Proc. First International Symposium of Plant Pathology, New Dalhi. 57-68.
- OSADA, S. e S. FLORES. 1969. Varietal Resistance trials to eye spot disease (Helminthosporium sacchari) (V. BREDA DE HAAN) BUTLER. Proc. Int. Soc. Sug. Cane Tech. 1208-1211.
- RELATÓRIO ANUAL DO PLANSALSUCAR 1973. Estação Experimental 64 pp.
- SILVA, W.M. 1974. Produção de "seedlings" de cana-de-açúcar pelo beneficiamento do "fuzz" e transplante precoce. Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, para obtenção do grau de "Magister Scientiae". 34 pp.

- SINGH, G.P. e NIHAL SING. 1968. Blight of sugar-cane seedlings in Uttar Pradesh. *Indian Phytopathology*. 21:113-115.
- SMITH, A.M. 1966. Helminthosporium rostratum DRECHSL. The cause of a severe seedling blight of Cynodon dactylon (L) PERS. *Aust. Jour. Sci.* 29:176-178.
- STROBEL, G.A. 1975. A mechanism of disease resistance in plants. *Scientific American*. 232:80-88.
- TORGESON, D.C. 1967. Fungicides, an advanced treatise. Vol. 1. Academic Press, New U.S.A. 697 pp.
- VIDHYASEKARAN, P., G.L. SUBRAMANIAN e C.V. GOVINDASWAMY. 1970. Production of toxins by seed-borne fungi and its role in paddy seed spoilage. *Indian Phytopathology*. 23:518-525.
- VIR, DHARAM, S.B. MATHUR e P. NEEGAARD. 1970. Control of seed-borne infection of Drechslera spp on barley, rice and oats with Dithane M 45. *Indian Phytopathology*. 23:570-572.
- WHITEHEAD, M.D. e O.H. CALVERT. 1959. Helminthosporium rostratum inciting ear rot of corn and leaf spot of thirteen grass hosts. *Phytopathology*. 49:817-820.
- WINTER, W.E., S.B. MATHUR e P. NEERGAARD. 1974. Seedborne organisms of Argentina: A survey. *Plant. Disease Reporter* 58:507-511.
- WISMER, C.A. 1960. A promising new fungicide for the control of Pythium root rot of sugar-cane seedlings in flats. *Proc. Int. Soc. Sugar-cane Tech.* 10:1133-1137.
- WISMER, C.A. e H. KOIKE. 1967. Testing sugar-cane varieties against eye spot, brown spot, seed rot, and leaf scald diseases in Hawaii. *Proc. Int. Soc. Sugar-cane Tech.* 12:1144-1153.

Apêndice 1: Procentagem de sementes de cana-de-açúcar germinadas após 20 minutos de tratamento com Benlate, Dithane M 45 e Thiram.

Fungicidas	Dosagem g/l	Repetições				
		A %	B %	C %	D %	E %
Benlate	2,0	39	25	32	18	31
	1,0	35	31	20	27	21
Dithane M 45	2,0	26	23	17	25	32
	1,0	18	24	19	33	24
Thiram	2,0	32	34	33	24	33
	1,0	34	25	24	25	40
Testemunha	0,0	23	29	19	17	15

Dados obtidos de 50 sementes tratadas para cada parcela

Apêndice 2: Índice de vigor das sementes de cana-de-açúcar tratadas durante 20 minutos com Benlate, Dithane M 45 e Thiram.

Fungicidas	Dosagem g/l	Repetições				
		A	B	C	D	E
Benlate	2,0	13,6361	11,0905	13,0766	9,5393	12,7671
	1,0	12,7671	12,5299	9,9498	11,8321	10,2469
Dithane	2,0	11,7898	10,3923	9,3808	10,8627	12,8452
	1,0	10,3440	10,6770	10,0995	11,9582	10,9544
Thiram	2,0	12,5698	13,8924	13,2287	10,8166	12,0415
	1,0	12,5698	11,2249	10,8627	11,4455	14,6287
Testemunha	0,0	10,6301	11,8743	9,2195	9,5393	9,0553

Índice de vigor estimado pelo método de BYRD (1967)

Dados obtidos de 50 sementes colocadas para germinar para cada parcela.

Apêndice 3: Porcentagem de germinação de sementes de cana tratadas durante 20 minutos com Busan 31

Dosagem g/l	Repetições				
	A	B	C	D	E
	%	%	%	%	%
0	49	46	47	40	55
1,0	53	46	48	35	47
0,5	41	47	48	45	37
0,25	29	53	32	42	46

Dados obtidos de 50 sementes tratadas por parcela.

Apêndice 4: Índice de vigor das sementes de cana-de-açúcar tratadas durante 20 minutos com Busan 31

Dosagem g/l	Repetições				
	A	B	C	D	E
0	14,8996	15,0000	15,6524	14,4222	15,4596
0,50	13,6381	14,5945	14,9331	14,5945	12,1243
1,00	14,1067	14,6969	15,6843	10,4403	13,5277
0,25	9,2736	16,4924	11,8743	12,8840	13,9283

Índice de vigor estimado pelo método de BYRD (1967)

Dados obtidos de 50 sementes por parcela.

Apêndice 5: Porcentagem de germinação de sementes de cana-de-açúcar tratadas com formol 40% diluído em água e semeadas em ágar água

Fungicida	Tempo de Tratamento Minutos	Repetições				
		A %	B %	C %	D %	E %
Formol 1:10	0	22	38	24	38	-
	15	12	16	8	18	-
	30	12	12	6	2	-
	45	2	6	4	2	-
Formol 1:20	20	30	32	56	28	24
	40	32	20	22	16	30
	0	28	20	26	16	18
Formol 1:50	20	42	46	38	50	-
	10	42	40	42	32	-
	60	34	35	22	24	-
	50	24	44	20	28	-
	40	26	24	20	28	-
	0	10	22	18	28	-

Dados obtidos de 50 sementes por parcela.

Apêndice 6: Índice de vigor das sementes de cana-de-açúcar tratadas com formol 40% diluído em água e semeadas em agar-água.

Fungicida	Tempo de Tratamento Minutos	Repetições				
		A	B	C	D	E
Formol 1:10	0	4,6904	6,7082	5,3851	6,9282	-
	15	3,6055	3,8729	2,6457	4,1231	-
	30	3,4641	3,3166	2,4494	1,4124	-
	45	1,0000	2,2360	1,7320	1,7320	-
Formol 1:20	20	8,0000	7,9372	11,4017	7,8740	7,0000
	40	7,8102	6,5574	6,5574	5,9160	7,4161
	0	8,3662	6,7082	7,6811	6,0000	5,0000
Formol 1:50	20	7,9372	8,8881	8,2462	8,8317	-
	10	7,8740	7,8740	8,6023	6,7082	-
	60	7,7459	8,3666	5,3851	6,2449	-
	50	6,1644	9,0000	5,7445	6,7082	-
	40	6,3245	6,5574	5,1961	5,9160	-
	0	4,3588	6,5574	6,0827	7,0000	-

Índice de vigor estimado pelo método de BYRD (1967)

Apêndice 7: Número de sementes de cana-de-açúcar germinadas após tratamento com Brometo de Metila na concentração de  $1 \text{ cm}^3$  em 20 litros de câmara

Tempo de Tratamento em Minutos	Repetições					
	A	B	C	D	E	F
0	95	101	128	104	112	63
150	108	81	78	94	118	94
180	56	45	52	119	86	68
210	59	39	104	90	54	74

Cada parcela continha 0,1 g de sementes

Apêndice 8: Número de sementes de cana-de-açúcar germinadas após tratamento durante 2 minutos com Aretan

Dosagem g/l	Repetições				
	A	B	C	D	E
1,50	107	99	83	93	0 *
0,75	72	70	78	85	80
0	5	2	3	5	4

\* Parcela perdida e cada parcela continha 0,1 g de sementes