REAÇÃO DE VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR AO FUNGO
Bipolaris sacchari (BUTLER) SHOEMAKER

SÍLVIO APARECIDO LOPES

Biólogo

Orientador: Prof. Dr. ARMANDO BERGAMIN FILHO

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração: Fitopatologia.

P I R A C I C A B A
Estado de São Paulo - Brasil
Maio - 1991

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCAP/USP

L864r Lopes, Sílvio Aparecido
Reação de variedades de cana-de-açúcar ao fungo
Bipolaris sacchari (Butler) Shoemaker. Piracicaba,
1991.
70p.

Diss. (Mestre) - ESALQ

Bibliografia.

1. Cana-de-açúcar - Doença - Resistência 2. Cana-de-açúcar - Variedade - Inoculação 3. Fungo fitopatogênico - Controle 4. Mancha ocular em cana-de-açúcar
I. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz,
Piracicaba.

CDD 633.61

REAÇÃO DE VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR AO FUNGO
Bipolaris sacchari (BUTLER) SHOEMAKER

SÍLVIO APARECIDO LOPES

Aprovado em: 15.05.1991

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Armando Bergamin Filho

ESALQ/USP

Prof. Dr. Lilian Amorim

ESALQ/USP

Dr. Álvaro Sanguino

Prof. Dr. Armando Bergamin Filho
Orientador

DEDICATÓRIA

Ao meu pai Antonio Lopes, que
marcou a sua vida com trabalho,
compreensão e bondade.

A minha mãezinha Angelina.

A minha esposa Nádia.

AGRADECIMENTOS

Expresso meus sinceros agradecimentos as seguintes pessoas e Instituições:

- A Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", (ESALQ-USP) e a Cooperativa dos Produtores de Cana, Açúcar e Alcool do Estado de São Paulo (COPERSUCAR), pela oportunidade de aperfeiçoamento e recursos oferecidos durante a realização deste trabalho.
- Ao Prof. Dr. Armando Bergamin Filho, do Departamento de Fitopatologia da ESALQ-USP, pela orientação e revisão dos originais.
- Ao Prof. Dr. Hasime Tokeshi, do Departamento de Fitopatologia da ESALQ-USP e ao Dr. Álvaro Sanguino, da COPERSUCAR, pelas valiosas sugestões e estímulo na condução dos trabalhos.
- Ao Dr. James Estill Irvine, da COPERSUCAR, pela oportunidade de aperfeiçoamento.
- A Dra. Creusa Maria Roveri Dal Bó, do Departamento de Matemática da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, USP, pelo auxílio na análise estatística.
- A Sra. Kátia M. P. de Andrade, da Biblioteca Central da ESALQ-USP, pela colaboração prestada.
- A todos os professores do Departamento de Fitopatologia da ESALQ-USP, pelos ensinamentos.
- A CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
SUMMARY	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Distribuição geográfica e importância econômica da mancha ocular	4
2.2. Sintomatologia	7
2.3. Outros hospedeiros	8
2.4. Condições favoráveis ao desenvolvimento da doença	9
2.5. Controle	11
2.6. Métodos de inoculação e critérios de avaliação da resistência	13
2.6.1. Métodos de inoculação	13
2.6.2. Critérios de avaliação da resistência	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1. Locais e época de condução dos experimentos	20
3.2. Isolamento do patógeno	20
3.3. Teste de patogenicidade	22
3.4. Efeito de meios de cultura e regimes de luz na esporulação de <u>Bipolaris sacchari</u>	22

3.5. Produção e padronização do inóculo	23
3.6. Preservação do isolado	25
3.7. Experimentos conduzidos em casa de vegetação	25
3.7.1. Produção das plantas	26
3.7.2. Controle do ambiente de incubação	27
3.7.3. Inoculação	28
3.8. Experimento conduzido em condições de campo	29
3.8.1. Inoculação	29
3.9. Critério de avaliação da resistência	30
4. RESULTADOS	34
4.1. Teste de patogenicidade	34
4.2. Efeito de meios de cultura e regimes de luz na esporulação de <u>B. sacchari</u>	35
4.3. Testes de resistência varietal conduzidos em casa de vegetação	37
4.4. Teste de resistência varietal conduzido em condições de campo	41
5. DISCUSSÃO	43
5.1. Teste de patogenicidade	43
5.2. Efeito de meios de cultura e regimes de luz na esporulação de <u>B. sacchari</u>	45
5.3. Testes de resistência varietal	48
6. CONCLUSÕES	54
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
8. APÊNDICE	66

REAÇÃO DE VARIEDADES DE CANA-DE-AÇÚCAR AO FUNGO

Bipolaris sacchari (BUTLER) SHOEMAKER

Autor: SÍLVIO APARECIDO LOPES

Orientador: Prof. Dr. ARMANDO BERGAMIN FILHO

RESUMO

Estudaram-se alguns aspectos ligados à produção de esporos de B. sacchari e a reação de diversas variedades de cana-de-açúcar ao patógeno, em condições de casa-de-vegetação e campo.

Avaliou-se o efeito de três meios de cultura (BDA - batata, dextrose, agar; CLA - folha de cana, agar e LCH - lactose, caseína hidrolizada, agar) e três regimes de luz (contínua, alternada e escuro contínuo) sobre a esporulação do fungo. Observou-se que, independentemente do meio de cultura, escuro contínuo inibiu e luz contínua ou alternada induziu a produção de esporos; sob luz contínua o melhor meio foi o LCH e sob luz alternada os meios não diferiram entre si;

diferença entre luz contínua e alternada foi observada somente dentro do meio BDA, com maior esporulação sob luz alternada.

A reação das variedades foi obtida inoculando-se as plantas com uma suspensão de $2,0 \times 10^4$ esporos por ml. Procederam-se as avaliações utilizando-se de uma escala de notas de 1 a 5, baseada nos sintomas foliares, com as médias das notas classificadas entre altamente resistente e altamente suscetível. Observou-se, nos três ensaios, alterações nas reações de algumas variedades, causadas provavelmente por pequenas variações nas condições de ambiente. Discutiram-se as vantagens da condução de testes de resistência à mancha ocular em casa de vegetação em relação aos testes de campo. Sugeriu-se a adoção de medidas preventivas de controle, principalmente nos locais onde a doença ocorre com maior frequência.

REACTION OF VARIETIES OF SUGARCANE TO THE FUNGUS

Bipolaris sacchari (BUTLER) SHOEMAKER

Author: SÍLVIO APARECIDO LOPES

Adviser: Prof. Dr. ARMANDO BERGAMIN FILHO

SUMMARY

Some aspects related to the sporulation of B. sacchari "in vitro" and the reaction of some varieties of sugarcane to the pathogen in greenhouse and field conditions were studied in this work.

The pathogen was cultivated in three culture media (PDA - potato, dextrose, agar; CLA - cane leaf, agar and LHC - lactose, hidrolised caseine, agar) under three light regimens (continuous light, alternate light and continuous darkness). The results showed that (1) the continuous darkness inhibited and the continuous light and alternate light promoted the sporulation, in the three media tested; (2) under

continuous light LHC was better than PDA and CLA, and under alternate light the media were not different statistically, and (3) difference between continuous light and alternate light was observed only in the PDA medium with better sporulation under alternate light.

The variety reactions were obtained by inoculating them with $2,0 \times 10^4$ spores/ml inoculum suspension. The evaluation was made by using a 1 - 5 note scale based on foliar symptoms, classified from highly resistant to highly susceptible. Some varieties showed different reactions on the tests conducted, probably caused by little variation on the ambient conditions.

The advantages of conducting eye spot resistance testing in greenhouse over field conditions were discussed. The adoption of preventive measures in order to control the eye spot, specially on those regions the disease frequently occurs, were also suggested.

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar está sujeita ao ataque de diversas doenças, exigindo dos programas de melhoramento uma atenção especial na obtenção de novas variedades.

Algumas dessas doenças encontram-se amplamente disseminadas, ocorrendo durante todo o ciclo da cultura, como é o caso do carvão, causada pelo fungo Ustilago scitaminea. Outras, no entanto, somente se manifestam em determinados locais ou épocas do ano caracterizados por condições climáticas específicas. Dentro desse grupo situa-se a mancha ocular, causada pelo fungo Bipolaris sacchari (BUTLER) SHOEMAKER (MARTIN, 1961).

A ocorrência de epidemias de mancha ocular está associada à suscetibilidade varietal e às condições climáticas que favorecem o desenvolvimento da doença. Os fatores mais importantes são a contínua presença de um filme de água na superfície das folhas, proveniente de chuvas finas ou orvalho,

e temperaturas entre 20 e 25°C (TOKESHI, 1980). Nestas condições, a doença pode dizimar extensas áreas de canaviais suscetíveis em pouco tempo, como se verificou em 1965 na região de Ribeirão Preto, SP (BRIEGER & ZUNCKELLER, 1965) e em 1972, nos estados de Rio de Janeiro, Paraná e S. Catarina (WISMER, 1973).

A medida mais prática e eficiente de controle da mancha ocular, como para a maioria das doenças da cana, consiste no plantio de variedades resistentes.

O melhoramento genético da cana-de-açúcar desenvolvido no Brasil, principalmente pela Copersucar, tem propiciado a liberação de diversas variedades que, devido a alta produtividade e altos teores de sacarose, dentre outras características, encontram-se em grande expansão (SILVA et alii, 1989). No entanto, para algumas dessas variedades não se conhece a reação à mancha ocular. Essa informação seria de grande importância não somente por facilitar o controle da doença através de um manejo varietal racional, principalmente nos locais sujeitos a epidemias, como também em produzir novas variedades, através da utilização correta dos progenitores nos programas de melhoramento.

Assim, este trabalho teve por objetivo básico testar a resistência das principais variedades de cana-de-açúcar de interesse comercial e genético, empregando-se para tanto as metodologias propostas por

SANGUINO (1976) e WISMER & KOIKE (1965). Dada à dificuldade na obtenção do inóculo de B. sacchari para a condução dos experimentos, foi também realizado um estudo em laboratório sobre o efeito de diferentes meios de cultura e regimes de luz na indução da esporulação do fungo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - Distribuição geográfica e importância econômica da mancha ocular

A mancha ocular é uma doença que apresenta ampla distribuição geográfica; sua ocorrência foi registrada na maioria dos países produtores de cana do mundo (EDGERTON 1958), bem como naqueles onde a cana não é cultivada comercialmente. Foi considerada por EDGERTON (1958) como a mais séria e importante doença fúngica que ataca as folhas da cana-de-açúcar. Sob condições climáticas favoráveis pode causar severas perdas em variedades suscetíveis (MARTIN, 1961).

Durante o ano de 1966 mais de 300 ha de cana foram afetados pela moléstia no México (OSADA & FLORES, 1968). Na Austrália, em decorrência do aumento da área plantada com a variedade suscetível Q101 verificou-se também um aumento da

incidência da doença, o que levou à remoção da Q101 da lista de variedades aprovadas para plantio (WILLCOX & McALEESE, 1978). No Havai, a mancha ocular foi responsável pela queda da primeira variedade havaina de sucesso, a H109 (STEINER & BYTHER, 1969).

A dependência das condições ambientais específicas para o desenvolvimento da doença, ou seja, temperaturas amenas (20-25°C) acompanhadas de alta umidade, limita a sua ocorrência a determinadas épocas do ano ou a determinados locais.

Em Porto Rico, surtos epidêmicos foram relatados em 1948, 1949 e posteriormente em 1962 (NOLLA, 1965); no Havai, a doença reapareceu no ano de 1963, após um período de 20 anos sem ser detectada em variedades comerciais (WISMER e KOIKE, 1965). Em Cuba, seus efeitos foram observados em áreas reduzidas, caracterizadas por condições climáticas específicas (CHINEA & RODRIGUEZ, 1982; KOLOBAEV et alii, 1985).

No Brasil, a mancha ocular é mais importante em canaviais suscetíveis plantados nos estados de São Paulo, Santa Catarina e Paraná (TOKESHI, 1980). Em muitas regiões desses estados, a doença se constituiu em um fator limitante ao cultivo de variedades suscetíveis como a CO419 (GALLI et

alii, 1968). Uma séria epidemia foi constatada na região de Ribeirão Preto/SP, no ano de 1965 (BRIEGER, 1965; BRIEGER & ZUNCKELLER, 1965) e em algumas regiões dos estados de Rio de Janeiro, Santa Catarina e Paraná durante o inverno de 1972 (WISMER, 1973).

As perdas causadas pela mancha ocular são difíceis de serem medidas (MARTIN, 1961), sendo raros os trabalhos conduzidos neste sentido.

Durante o surto epidêmico verificado na região de Ribeirão Preto, no ano de 1965, que chegou a destruir uma área de 40 alqueires em uma das usinas daquela região, foi observado que os teores de brix das canas afetadas oscilavam entre 0° e 10° (BRIEGER, 1966). A resultados similares chegaram WILLCOX & McALEESE (1978) na Austrália durante o ano de 1976.

No México OSADA & FLORES (1968) conduziram um experimento para quantificar as perdas causadas pela mancha ocular, onde observaram uma redução de 33% no peso, 50% no brix, 70% no teor de sacarose, 30% no índice de pureza e 60% no teor de açúcar total recuperável nas parcelas doentes comparadas com as sadias.

2.2 - Sintomatologia

Os sintomas da doença mancha ocular se manifestam na cana-de-açúcar sob as formas de manchas nas folhas e colmos e podridão do topo da planta.

Nas folhas os sintomas apresentam-se como pequenas manchas encharcadas, inicialmente nas folhas mais jovens. À medida que evoluem, tornam-se alongadas, apresentando cor avermelhada no centro, com um halo de cor palha (MARTIN, 1961). O tamanho das lesões pode variar de 0,5 à 3,0 cm, de onde partem estrias pardas que se dirigem para o ápice das folhas (TOKESHI, 1980). STROBEL et alii (1972) sugeriram que as estrias resultam da oxidação do conteúdo citoplasmático liberado através do rompimento da membrana celular pela ação das toxinas produzidas pelo patógeno. O tamanho dessas estrias é variável podendo ser ausentes em variedades resistentes e atingir comprimento superiores à 60 cm em variedades suscetíveis (TOKESHI, 1980).

Com a coalescência das estrias e lesões, grande extensão da área foliar efetiva é destruída (MARTIN, 1961). Segundo BAKER et alii (1953) embora as folhas severamente atacadas possam ser repostas por folhagem sadia, existe uma paralização no crescimento da planta durante os ataques mais severos.

Nos colmos as lesões somente foram observadas em variedades de extrema suscetibilidade (MARTIN, 1961; SANGUINO & CARVALHO, 1971).

A forma mais destrutiva da doença ocorre, no entanto, quando as condições ambientais se tornam extremamente favoráveis ao desenvolvimento do fungo que invadindo as folhas mais jovens, inclusive as que se encontram no interior do cartucho foliar causam a podridão do topo da planta (LEE, 1929; MARTIN, 1961).

2.3 - Outros hospedeiros

Além da cana-de-açúcar, B. sacchari ataca capim limão (Cymbopogon citratus) (BOURNE, 1941) e capim napier (Pennisetum purpureum) (VOORHEES, 1938; PARRIS, 1942).

De acordo com PARRIS (1942), em capim napier houve um ataque severo da mancha ocular, no ano de 1939, no Havai. Em suas pesquisas o autor observou algumas diferenças culturais entre isolados de napier e cana insuficientes, no entanto, para separá-los em diferentes espécies.

2.4 - Condições favoráveis ao desenvolvimento da doença

A manifestação da mancha ocular depende da ocorrência de condições ambientais específicas. Segundo GALLI et alii (1968), os fatores que regulam a sua manifestação em caráter epidêmico são a umidade, temperatura e fertilidade do solo.

A umidade constitui-se num dos principais fatores. A contínua presença de um filme de água na superfície foliar, mantida por orvalho e chuvas finas permite a germinação dos esporos e a penetração nos tecidos da planta. Chuvas pesadas freqüentemente reduzem os níveis de infecção por diminuir a quantidade de esporos presentes na superfície das folhas (MARTIN, 1961).

Quanto à temperatura, MARTIN (1961) cita que os ataques de mancha ocular são mais freqüentes nos meses frios do ano. No México, as condições favoráveis ocorrem no final do outono e início do inverno (FLORES & RAMIREZ, 1962) e, no Brasil, no final do outono e início da primavera, quando as

temperaturas são mais amenas (GALLI et alii, 1968).

Em 1968, LIU demonstrou que a melhor temperatura para a germinação dos esporos não é a mesma que para o desenvolvimento da doença. Os esporos germinaram entre 24 e 36°C enquanto que os maiores índices de doença foram observados a 20°C.

O efeito da temperatura no desenvolvimento da doença foi também estudado por BYTHER & STEINER (1975 e 1976). Através da inoculação artificial ao nível de campo, os autores observaram menores índices de infecção e menor sensibilidade das plantas à toxina nos meses de verão do que nos meses de inverno. Em laboratório e casa de vegetação, foi demonstrado que altas temperaturas induziam a resistência em variedade suscetível. Os autores concluíram que os ataques da doença são mais freqüentes no inverno porque as altas temperaturas do verão tornam resistentes os tecidos das plantas, mesmo que a umidade nas folhas favoreça a germinação dos esporos.

Quanto à fertilidade do solo, a severidade da mancha ocular é maior em canaviais plantados em solos naturalmente férteis ou submetidos a pesadas aplicações de fertilizantes nitrogenados (FARIS, 1928; FLORES & RAMIREZ, 1962; BRIEGER, 1965).

2.5 - Controle

A medida mais prática e eficiente de controle da mancha ocular é o plantio de variedades resistentes nos locais onde as condições climáticas e de fertilidade do solo favorecem a ocorrência de epidemias (EDGERTON, 1958; MARTIN, 1961; TOKESHI, 1980).

Estudos de progênie conduzidos por BYTHER & STEINER (1971) e SANGUINO (1976) detectaram alta frequência de indivíduos resistentes oriundos do cruzamento de pais também resistentes.

De acordo com TOKESHI (1980), o problema consiste em aliar a resistência às características agronômicas e tecnológicas desejáveis. Esta tarefa, no entanto, pode ser facilitada com o emprego de variedades comerciais resistentes como progenitores nos programas de melhoramento (KOLOBAEV et alii, 1983).

No Brasil, testes de resistência varietal à mancha ocular foram realizados por SANGUINO & CARVALHO (1971), SANGUINO et alii (1983) e pelos pesquisadores do Programa Nacional de Melhoramento da cana-de-açúcar (PLANALSUCAR) (1973 e 1978) que publicaram uma lista de 136 e 285 variedades de

interesse comercial e genético e sua reação à doença.

Além do uso de variedades resistentes, outras medidas de controle, aparentemente menos eficazes, são encontradas na literatura.

De acordo com MARTIN (1961), o controle pode ser conseguido reduzindo-se as aplicações de adubos nitrogenados antes da época de ataque da doença. O mesmo autor reconhece, no entanto, que não se deve sacrificar o desenvolvimento da planta em prol do controle, visto que o principal objetivo deste é assegurar a máxima produtividade do canavial.

Segundo GALLI et alii (1968), em alguns casos o controle pode ser conseguido com a modificação do ambiente tornando-o desfavorável ao desenvolvimento da doença como, por exemplo, o plantio dos canaviais no sentido dos ventos dominantes que atuariam reduzindo a umidade do ar sobre a plantação. Com este mesmo objetivo, BRIEGER (1968) sugere que, em terrenos férteis e úmidos, deve-se evitar o plantio de variedades caracterizadas por copa abundante e folhagem densa.

2.6 - Métodos de inoculação e critérios de avaliação da resistência

2.6.1 - Métodos de inoculação

Com o objetivo de se obter variedades resistentes para o plantio comercial, comprovar a patogenicidade do fungo em diferentes hospedeiros ou ainda estudar a reação da progênie com o objetivo de melhor conhecer a herança da resistência e com isso orientar os programas de melhoramento, vários métodos de inoculação foram empregados pelos pesquisadores, os quais variam de acordo com o tipo de inóculo empregado e com o local de realização dos testes, podendo ser em laboratório, casa de vegetação e campo.

No ano de 1928, FARIS realizou um estudo comparativo dos sintomas de mancha ocular com os da estria parda, causada por Helminthosporium stenospilum, visto haver confusões quanto a identificação das duas moléstias. O autor

desenvolveu um método no qual as plantas a serem inoculadas foram cultivadas em cilindros de vidro sob condições assépticas e pulverizadas com as suspensões de esporos. A câmara úmida foi conseguida vedando-se a boca do cilindro. Este método foi também adotado por BOURNE (1941).

Em 1976, SANGUINO conduziu testes de resistência de progenitores e progênies no interior da casa de vegetação, onde havia sido construída uma grande câmara úmida. O controle de temperatura foi feito por nebulizadores do tipo pulverizador, além de aspersores instalados no teto da casa de vegetação, impedindo que esta ultrapasse os 28°C. A inoculação foi feita com o auxílio de um revólver de pintura à uma pressão de 30 libras/pol².

A resistência da cana-de-açúcar pode ser determinada também ao nível de campo plantando-se as variedades nos locais onde estarão expostas à infecção natural (MARTIN, 1961). Ao sul de Queensland, Austrália, a área dos testes localiza-se próxima ao mar, onde as variedades padrões se mostraram mais infectadas que em qualquer outra localidade daquele estado (HUGHES, 1965).

Testes de resistência através da infecção natural foram conduzidos por NOLLA (1965) em Porto Rico e por FLORES & RAMIREZ (1962) no México. Estes últimos pesquisadores

concluíram que os testes de campo com infecção natural não podem ser substituídos por testes de laboratório onde as variedades são plantadas em vasos e inoculadas artificialmente.

Em campo, os testes também podem ser conduzidos através de inoculações artificiais. Em 1965, WISMER & KOIKE desenvolveram um método no qual as folhas terminais dos perfilhos eram inoculadas com suspensão de esporos e em seguida envolvidas por um saco plástico para a formação de câmara úmida. Os resultados apresentaram boa correlação com aqueles obtidos de infecções naturais, com a vantagem de poderem ser realizados em quaisquer locais e época do ano com canas de diferentes idades. Um método semelhante foi utilizado por OSADA & FLORES (1968) no México. Neste, o inóculo era colocado na parte basal das folhas, em região ferida com carburundum.

Ainda ao nível de campo, DEAN & MILLER (1975) descreveram um método de inoculação objetivando a eliminação dos clones suscetíveis nos estágios iniciais do programa de melhoramento. O método consistiu na pulverização motorizada das plantas com fragmentos de micélio de B. sacchari produzidos em meios de Fries modificados e diluídos em solução de melão 5%.

Em 1929, LEE demonstrou que no extrato de meio de cultura líquido onde havia crescido B. sacchari, havia uma substância que se mostrou tóxica aos tecidos foliares de variedade suscetível à mancha ocular.

As pesquisas nesta área reiniciaram somente no ano de 1968, no Havai, por STEINER & BYTHER. Em 1971 foi detectada a presença de duas substâncias tóxicas. A mais abundante delas foi estudada e caracterizada quimicamente por STEINER & STROBEL (1971) como 2 hydroxycyclopropyl alfa-D-galactopyranosida e nomeada de "helminthosporoside" por se tratar de glicosídeo e ser produzido por um fungo do gênero Helminthosporium.

O helminthosporoside foi estudado por STEINER & BYTHER (1971) com o objetivo de se determinar a viabilidade de sua utilização nos testes de resistência. As metodologias de inoculação empregadas consistiram da injeção da toxina diluída, após processo de purificação parcial, em secções de folhas destacadas de cana-de-açúcar e na parte superior de colmos. Nos colmos a injeção foi feita na região do cartucho foliar acima do meristema apical ou em orifícios feitos com o furador de rolhas. Foi observada alta correlação dos resultados da injeção de toxina com os resultados da inoculação com esporos.

O helminthosporoside foi útil também em detectar clones suscetíveis no estágio de plântulas através da pulverização das mesmas com a toxina diluída (BYTHER & STEINER, 1971). Os pesquisadores do PLANALSUCAR (1973) obtiveram melhores resultados imergindo as plântulas na solução tóxica.

A viabilidade do uso da toxina na determinação da reação da cana-de-açúcar à mancha ocular foi questionada por SCHEFFER & LIVINGSTON (1980), baseando-se na variação da reação de algumas variedades inoculadas com a toxina em relação a sua reação ao fungo. Segundo os autores, a toxina deveria ser usada com cautela nos testes de resistência, visto não ser eficiente em determinar a reação de todos os clones. O B. sacchari deve possuir mecanismos de patogenicidade não associados à produção de toxina e, da mesma forma, no hospedeiro devem existir mecanismos que controlam a resistência ou suscetibilidade ao fungo não relacionados à reação à toxina.

De acordo com STROBEL et alii (1972), a toxina atua nas células de variedades suscetíveis ao nível de membrana, causando um desequilíbrio osmótico com conseqüente perda do conteúdo citoplasmático.

Baseando-se neste fato BYTHER & STEINER (1975) desenvolveram um método de avaliação da resistência que leva em consideração a quantidade de eletrólitos liberados na água por discos de folhas de cana-de-açúcar previamente tratados com a toxina. A quantidade de eletrólitos é medida pela condutância da eletricidade nesta suspensão.

Este método foi também utilizado por SCHEFFER & LIVINGSTON (1980) e melhorado por RAMOS LEAL et alii (1989) que, entre outras alterações, padronizou o tipo e região da folha das quais foram retirados os discos.

2.6.2 - Critérios de avaliação da resistência

A reação da cana-de-açúcar à mancha ocular tem sido determinada através do uso de escalas de notas com número variável de categorias ou classes, correspondendo a diferentes intensidades dos sintomas foliares.

No México, OSADA & FLORES (1968) avaliaram a reação de diversas variedades através de uma combinação de símbolos +, = e -, proposta por MARTIN (1926), com 7 classes, variando de muito altamente resistente (++) a muito altamente suscetível (--). Na Flórida, MILLER (1973) avaliou a reação de

diversos clones com escala de notas de 1 a 6, sendo considerados resistentes os clones com notas 1 e 2, de reação intermediária os clones com notas 3 e 4 e muito suscetíveis os que apresentaram notas 5 e 6. No Brasil, progenitores, progênes e variedades comerciais foram avaliados por SANGUINO (1976) e SANGUINO et alii (1983) através de escala de notas de 1 à 5 e a reação varietal, de altamente resistente a altamente suscetível, determinada com base nas notas médias obtidas. Os pesquisadores do PLANALSUCAR (1973) avaliaram a reação de diversas variedades com a escala proposta por HUTCHINSON (1968), que varia de 0 (imune) a 9 (muito altamente suscetível).

As escalas mencionadas se restringem basicamente a descrições numéricas das classes, faltando, na maioria dos casos, diagramas ou figuras com os sintomas da doença. Ainda não foi desenvolvida, aparentemente, uma escala diagramática padrão, com número definido de classes, o que facilitaria tanto o trabalho de avaliação dos testes de resistência como a comparação dos resultados obtidos em diferentes experimentos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Locais e época de condução dos experimentos

Os trabalhos de laboratório foram conduzidos nas dependências do Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", e os trabalhos de casa de vegetação e campo no Centro de Tecnologia Copersucar em Piracicaba, no período de março a setembro de 1989.

3.2 - Isolamento do patógeno

O isolamento de B. sacchari foi feito a partir de lesões foliares da variedade RB739331, procedente do campo experimental do Departamento de Fitopatologia da ESALQ.

Antes de proceder ao isolamento, secções de folhas de aproximadamente 10 cm de comprimento, apresentando os sintomas típicos de mancha ocular, foram submetidas a uma desinfecção superficial através da imersão em álcool 70% e solução de hipoclorito de sódio 2%, por aproximadamente 5 segundos. Após a desinfecção, as folhas foram lavadas em água destilada e transferidas para placas de Petri contendo uma folha de papel de filtro esterilizada e úmida. Após um período de 48 horas, as lesões se apresentavam com esporos formados, sendo alguns retirados e transferidos para meio de cultura CLA ("cane leaf agar" WISMER & KOIKE, 1965) com o auxílio de uma agulha histológica frequentemente esterilizada. As placas foram mantidas por 4 à 5 dias em incubadora a 26°C, condições que permitiram o desenvolvimento do micélio e formação de pequenas colônias, que posteriormente foram repicadas para o mesmo meio de cultura para a produção do inóculo.

Para o preparo do meio CLA, foram utilizadas 300g de folhas aparentemente sadias da variedade CB41-76, as quais foram destituídas da nervura central e cortadas em pedaços de aproximadamente 2 cm; lavadas em água corrente e fervidas durante 20 minutos em 1 litro de água destilada. Ao extrato coado resultante foram adicionados 10g de sacarose, 1g de nitrato de sódio, 20g de agar e o volume completado para 1

litro, sendo em seguida esterilizado em autoclave por 20 minutos a 1 atm.

3.3 - Teste de patogenicidade

Testou-se a patogenicidade do fungo na variedade CB41-76 a qual, segundo SANGUINO (1976), é suscetível à mancha ocular. As plantas foram inoculadas com a idade de 45 dias e mantidas em câmara úmida por 7 dias. Neste período foram feitas observações da evolução dos sintomas foliares.

3.4 - Efeito de meios de cultura e regimes de luz na esporulação de Bipolaris sacchari

O fungo foi isolado em agar-água, como descrito no item 3.2, a partir de lesões foliares da variedade CB41-76 usada no teste de patogenicidade. Posteriormente o fungo foi transferido para os meios BDA, CLA e LCH, e mantido por 4 dias em estufa a 26°C. Após este período, discos de micélio de 6 mm de diâmetro foram removidos das margens das colônias e

transferidos para placas de Petri marca Pirex contendo 20 ml, dos referidos meios de cultura. Tomou-se o cuidado de cultivar B. sacchari no mesmo meio em que seria posteriormente repicado, porque o crescimento pode ser influenciado pelos componentes do meio de cultura no qual o inóculo foi produzido (PARRIS, 1942).

Após este procedimento, as placas foram mantidas a 20°C (± 2) nos seguintes tratamentos: luz contínua, escuro contínuo e fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. Como fontes de luz foram utilizadas 2 lâmpadas fluorescentes (40 Watts), mantidas a 35 cm de distância das placas. Com 12 dias de incubação os esporos foram retirados pela lavagem das placas com 40 ml de água e contados nos diversos tratamentos com o auxílio de um hemacitômetro Newbauer e microscópio ótico.

3.5 - Produção e padronização do inóculo

A produção do inóculo foi feita transferindo-se para placas de Petri, contendo aproximadamente 20 ml de meio CLA, discos de micélio de 6 mm de diâmetro oriundos das margens das colônias obtidas do isolamento direto. As placas

foram então mantidas por 15 à 20 dias à temperatura de 22°C, sob fotoperíodo de 12 horas de luz branca e 12 horas de escuro. Após este período, as colônias se apresentavam com crescimento que correspondia à totalidade do diâmetro das placas e com grande quantidade de esporos, às quais foram adicionados aproximadamente 40 ml de água destilada e, com o auxílio de um pincel de cerdas macias, os conídios foram suspensos e transferidos para frascos erlenmeyers. A suspensão obtida foi filtrada em camada dupla de gase, a fim de se reduzir o excesso de micélio que, por ser infectivo (DEAN & MILLER, 1975), poderia dificultar a dosagem de concentração do inóculo, além de entupir o bico pulverizador no momento da inoculação das plantas.

A suspensão de esporos resultante foi amostrada e determinada a sua concentração com o auxílio de um hemacitômetro Neubauer e, através de diluição, regulada para $2,0 \times 10^4$ esporos por ml que, em teste preliminar mostrou-se útil em separar variedade resistente de suscetível.

Ao inóculo foi acrescentado Tween 20 na proporção de 1 gota por 100 ml de suspensão, com o objetivo de favorecer a distribuição dos esporos sobre a folhagem das plantas.

3.6 - Preservação do isolado

A preservação do isolado de B. sacchari foi feita em tecido vegetal doente. Seções de folhas com lesões apresentando conidióforos e conídios foram transferidas para sacos de papel, e mantidas em dessecadores com sílica gel à temperatura ambiente. Durante o desenvolvimento dos trabalhos experimentais, novos isolamentos foram conduzidos a partir destes materiais preservados.

3.7 - Experimentos conduzidos em casa de vegetação

Em casa de vegetação foram conduzidos dois experimentos visando testar a resistência à mancha ocular das principais variedades de cana-de-açúcar, de interesse comercial e genético.

O primeiro experimento foi realizado entre os dias 21 e 28 de junho de 1989 e o segundo entre os dias 25 de julho e 02 de agosto de 1989. Foram incluídas nesses experimentos, as variedades C87-51, C0419, IAC53-340, NC0310, NA56-79, SP70-1143, SP70-3370, SP71-345, SP71-1406, SP71-1632,

SP71-3146, SP71-6163, SP71-6180, SP71-8210, SP72-1861, SP72-4928, SP75-3046 e SP79-1230, além das variedades padrões CB41-76 e PR980, suscetível e resistente, respectivamente, de acordo com diversos autores. As variedades Co419, NCo310, SP70-1143 e SP75-3046 participaram em apenas um dos experimentos conduzidos em casa de vegetação.

3.7.1 - Produção das plantas

O plantio das variedades foi feito em vasos de polietileno contendo 2 litros de substrato constituído de uma mistura de torta de filtro curtida e terra, na proporção de 3:1. Em cada vaso foram plantados três toletes de 1 gema previamente brotada. A brotação prévia dos toletes, feita com o objetivo de manter o número e desenvolvimento uniforme das plantas nos vasos, foi conseguida envolvendo os toletes em folhas de jornal úmido, os quais foram mantidos em caixas de plástico num dos compartimentos da casa de vegetação, equipada com aquecedores que entravam em funcionamento quando temperatura era inferior a 32°C.

O delineamento experimental dos ensaios foi o inteiramente casualizado, apresentando cada variedade 6 repetições no primeiro experimento e 3 repetições no segundo.

Considerou-se como repetição 1 vaso contendo 3 plantas.

3.7.2 - Controle do ambiente de incubação

O fungo B. sacchari é exigente quanto a temperatura e umidade para seu desenvolvimento nos tecidos do hospedeiro (MARTIN, 1961). Visando proporcionar condições ambientais que se aproximassem daquelas verificadas ao nível de campo, propícias à ocorrência de surtos epidêmicos de mancha ocular, procurou-se utilizar dos artifícios empregados por SANGUINO (1976), com algumas modificações.

Inicialmente, foram pintados com cal os vidros de um dos compartimentos da casa de vegetação onde havia maior incidência de raios solares, com o objetivo de diminuir o aquecimento interno. No interior deste compartimento foi construída uma câmara úmida de plástico transparente medindo 2,5 x 2,5 x 5,0m. Todo o piso da câmara foi recoberto com uma camada de aproximadamente 10 cm de raspa de madeira, mantida constantemente úmida. Nas horas mais quentes do dia, procedia-se a freqüentes nebulizações de água fria através de um revólver de pintura, acoplado a um compressor de ar.

Estes procedimentos contribuíram para a manutenção de gotículas de água na superfície das folhas no período de incubação, alta umidade relativa (60 à 80%) e impediram que a temperatura ultrapassasse os 28°C.

3.7.3 - Inoculação

Os vasos com as plantas a serem testadas foram transferidos para a câmara úmida 24 a 48 horas antes da inoculação, a fim de se evitar o fenômeno da indução térmica da resistência (BYTHER & STEINER, 1975), que poderia mascarar os resultados. As inoculações foram feitas quando as plantas contavam com 60 dias de idade. Para tanto, a suspensão de esporos, preparada conforme indicado no item 3.5, foi pulverizada nas folhas das plantas até o ponto de escoamento com o auxílio de um revólver de pintura marca De Villbis, capacidade de 1 litro, a uma pressão de 30 libras/pol². Após as inoculações, realizadas a partir das 18:00 horas, as plantas foram mantidas na câmara úmida por 7 dias, quando procederam-se as avaliações. Durante esse período, o termohigrógrafo registrou temperaturas entre 10°C e 28°C, e umidade relativa entre 60 e 80%.

3.8 - Experimento conduzido em condições de campo

A nível de campo realizou-se um único teste, onde participaram as variedades: CB41-76, PR980, SP70-1143, SP70-3370, SP71-345, SP71-1406, SP71-3146, SP71-6163, SP71-6180, SP71-8210, SP72-1861, SP72-4928, SP75-3046 e SP79-1230.

O ensaio foi conduzido em áreas de viveiro e coleção de progenitores do Centro de Tecnologia Copersucar, quando as plantas contavam com 4 meses de idade.

3.8.1 - Inoculação

Foram selecionadas 10 touceiras individualizadas de cada variedade, as quais foram preparadas destacando-se manualmente as folhas mais velhas ou senescentes, que freqüentemente encontravam-se atacadas por outros patógenos.

A inoculação foi feita pulverizando-se, até o ponto de escorrimento, as folhas dos perfilhos mais desenvolvidos de cada touceira com uma suspensão de esporos

preparada conforme indicado no item 3.5. Foram inoculadas 5 touceiras de cada variedade sendo que as 5 restantes receberam água destilada.

Logo após a inoculação, realizada a partir das 17:00 horas, foi introduzido um saco de plástico transparente em cada touceira, para a formação de câmara úmida, o qual foi mantido por 12 dias, até o momento da avaliação.

Durante este período, o posto metereológico, localizado a aproximadamente 500m do local dos testes, revelou as informações climáticas constantes na Tabela 1.

3.9 - Critério de avaliação da resistência

A avaliação da resistência das variedades à mancha ocular foi feita baseada nos sintomas foliares, utilizando-se uma escala de severidade com notas de 1 a 5, oriunda de um padrão fotográfico (Figura 1; Tabela 2).

TABELA 1. Precipitação pluviométrica e temperaturas máximas e mínimas diárias observadas no posto meteorológico do Centro de Tecnologia Copersucar, Piracicaba, no período de 20 de agosto a 03 de setembro de 1989.

DATA	DIAS DA INOCULAÇÃO	PRECIPITAÇÃO (mm)	TEMPERATURA	
			MÁXIMA	MÍNIMA
20.08.89	-2	0.0	30.0	13.0
21.08.89	-1	9.2	30.4	13.6
22.08.89	0	1.4	29.8	12.6
23.08.89	1	0.0	27.2	16.6
24.08.89	2	0.0	33.0	13.4
25.08.89	3	4.0	28.8	12.2
26.08.89	4	0.0	28.6	12.4
27.08.89	5	18.0	30.4	12.4
28.08.89	6	0.0	21.0	12.2
29.08.89	7	0.0	24.6	10.8
30.08.89	8	0.0	28.4	11.4
31.08.89	9	0.2	30.4	7.8
01.09.89	10	0.0	20.8	18.0
02.09.89	11	1.0	23.0	18.0
03.09.89	12	0.0	23.0	6.4

FIGURA 1. Padrão fotográfico usado para a elaboração da escala de notas utilizada na avaliação da resistência das variedades de cana-de-açúcar ao B. sacchari.

TABELA 2. Descrição dos sintomas foliares usados na avaliação da resistência da cana-de-açúcar ao B. sacchari.

=====	
NOTA	SINTOMATOLOGIA

1	Pequenas pontuações escuras, semelhantes a reação do tipo hipersensibilidade.
2	Algumas lesões dando origem à estrias avermelhadas.
3	Poucas lesões com estrias da toxina.
4	Muitas lesões com estrias da toxina.
5	Muitas lesões com estrias da toxina e necrose parcial das folhas.
=====	

Considerando-se a distribuição das notas médias obtidas nos diferentes testes, as variedades foram então classificadas de acordo com o critério proposto por SANGUINO (1976) e descrito a seguir (Tabela 3).

TABELA 3. Critério de classificação da reação da cana-de-açúcar ao B. sacchari.

=====	
MÉDIA DAS NOTAS	CLASSIFICAÇÃO

1 - 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)
=====	

4. RESULTADOS

4.1 - Teste de patogenicidade

O isolado obtido a partir de folhas da variedade RB799331 apresentando lesões de mancha ocular, induziu a formação de sintomas semelhantes na variedade CB41-76 quando as plantas inoculadas foram mantidas em câmara úmida.

No acompanhamento da evolução dos sintomas foi observada a formação de pontos encharcados (1,0 x 2,0 mm) e de forma elíptica a partir de 15 horas após a inoculação. Sob condições favoráveis, as lesões evoluíram adquirindo coloração vermelha escura na região central com a formação de um pequeno halo amarelado, ao redor de 48 horas após a inoculação. No avanço da colonização dos tecidos foliares pelo patógeno observou-se uma gradual redução no tamanho do halo, o qual desapareceu a partir de 5 dias. Após este período, pequenas estrias vermelhas

oriundas das lesões, resultado provavelmente da ação das toxinas produzidas pelo patógeno durante o processo de colonização dos tecidos foliares, se dirigiam ao ápice das folhas. Com 7 dias de inoculação muitas lesões encontravam-se coalescidas com início da formação de necrose foliar. Confirmou-se, com a inoculação, a patogenicidade do isolado empregado nos posteriores testes de resistência varietal.

4.2 - Efeito de meios de cultura e regimes de luz na esporulação de B. sacchari

Na Tabela 4 encontram-se os resultados da avaliação da esporulação de B. sacchari em 3 meios de cultura sob 3 regimes de luz. Os dados originais juntamente com a análise estatística encontram-se na Tabela 1 do Apêndice.

A análise da variância mostra, para os três meios de cultura estudados, que a produção de conídios sob luz contínua e sob luz alternada foi significativamente maior que sob escuro contínuo. Com exceção do BDA, não houve diferença significativa entre os regimes de luz contínua e luz alternada na esporulação do patógeno.

TABELA 4. Efeito de meios de cultura e de regimes de luz na esporulação de B. sacchari.

=====				
MEIO	NÚMERO DE CONÍDIOS ($\times 10^4$) POR ml SOB (1)			
DE	----- Média			
CULTURA	Luz contínua	Luz alternada(2)	Escuro contínuo	

LCH	16,88 a(a)(3)	14,49 a(a)	0,73 a(b)	10,70
CLA	10,83 b(a)	13,01 a(a)	0,45 a(b)	8,09
BDA	8,06 b(b)	11,77 a(a)	0,53 a(c)	6,78
Média	11,92	13,09	0,57	
=====				

(1) Média de quatro repetições. Os conídios foram contados com auxílio de hemacitômetro, após um período de 12 dias de incubação.

(2) Regime de luz correspondente a 12 horas de luz branca contínua e 12 horas de escuro contínuo.

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente ao nível de 1% de probabilidade (Teste de Tukey).

(3) Comparação dos regimes de luz dentro de meio de cultura.

LCH - lactose, caseína hidrolizada e agar; CLA - folha de cana-de-açúcar e agar; BDA - batata, dextrose e agar.

C.V. = 7,64%

Quando se compara as médias dos três meios em cada regime de luz, observa-se que sob luz contínua o melhor meio foi o LCH, que diferiu significativamente de CLA e BDA. Nos demais regimes de luz, os meios testados não diferiram entre si.

4.3 - Testes de resistência varietal conduzidos em casa de vegetação

Os resultados dos dois ensaios instalados em casa de vegetação encontram-se nas Tabelas 5 e 6.

Comparando-se as médias das notas, atribuídas de acordo com a escala dos sintomas foliares (Figura 1; Tabela 2) observa-se que houve ampla variação nos índices de doença, com as variedades sendo classificadas entre altamente resistente e altamente suscetível.

TABELA 5. Reação de variedades de cana-de-açúcar à mancha ocular. (Primeiro teste conduzido em casa de vegetação).

=====								
ÍNDICE DE DOENÇA NAS REPETIÇÕES(1)								
Variedade	-----						Média Reação(2)	
	A	B	C	D	E	F		

PR980	1	1	1	1	1	1	1,00	AR
SP71-1406	2	2	2	2	2	2	2,00	R
SP71-3146	2	2	2	2	2	2	2,00	R
SP70-3370	2	2	2	2	3	2	2,17	R
SP71-6180	3	3	3	3	3	3	3,00	MR
C87-51	3	3	3	3	3	3	3,00	MR
SP71-6163	3	3	3	3	3	3	3,00	MR
SP75-3046	3	3	3	3	3	4	3,17	MR
SP71-8210	3	3	4	3	3	4	3,33	MR
IAC53-340	4	4	3	4	3	4	3,67	S
NA56-79	4	3	4	4	3	4	3,67	S
SP79-1230	4	4	3	4	3	4	3,67	S
SP72-4928	4	4	4	4	4	4	4,00	S
C0419	5	4	4	5	4	5	4,50	S
SP72-1861	4	5	5	4	5	4	4,50	S
CB41-76	5	5	5	5	5	4	4,83	AS
SP71-1632	5	4	5	5	5	5	4,83	AS
SP71-345	5	5	5	5	5	4	4,83	AS

(1) Cada repetição é representada por um vaso contendo três plantas. A avaliação foi feita atribuindo-se às mesmas notas de 1 à 5 de acordo com a escala mostrada na figura 1.

(2) Critério: médias de 1-1,5 AR; 1,6-2,5 R; 2,6-3,5 MR; 3,6-4,5 S e 4,6-5,0 AS. AR - altamente resistente; R - resistente; MR - medianamente resistente; S - suscetível e AS - altamente suscetível (SANGUINO, 1976).

TABELA 6. Reação de variedades de cana-de-açúcar à mancha ocular. (Segundo teste conduzido em casa de vegetação).

=====					
ÍNDICE DE DOENÇA NAS REPETIÇÕES(1)					
Variedade	-----			Média Reação(2)	
	A	B	C		

PR980	1	1	1	1,00	AR
SP70-3370	2	2	2	2,00	R
SP71-3146	2	2	3	2,33	R
SP71-1406	2	3	3	2,67	MR
SP70-1143	3	4	3	3,33	MR
SP72-4928	3	4	3	3,33	MR
SP71-6180	4	3	3	3,33	MR
NA56-79	3	3	4	3,33	MR
C87-51	3	3	4	3,33	MR
SP71-8210	4	3	3	3,33	MR
NC0310	4	3	4	3,67	S
SP79-1230	3	4	4	3,67	S
SP71-6163	3	4	4	3,67	S
IAC53-340	4	4	4	4,00	S
SP71-345	4	4	4	4,00	S
SP71-1632	4	5	4	4,33	S
SP72-1861	5	4	5	4,67	AS
CB41-76	5	5	5	5,00	AS
=====					

(1) Cada repetição é representada por um vaso contendo três plantas. A avaliação foi feita atribuindo-se as mesmas notas de 1 à 5 de acordo com a escala mostrada na figura 1.

(2) Critério: médias de 1-1,5 AR; 1,6-2,5 R; 2,6-3,5 MR; 3,6-4,5 S e 4,6-5,0 AS. AR - altamente resistente; R - resistente; MR - medianamente resistente; S - suscetível e AS - altamente suscetível (SANGUINO, 1976).

Além do número, observou-se variação também no tipo de lesão. Na variedade PR980 os sintomas se manifestaram como pequenos pontos necróticos de coloração escura, típico da reação de hipersensibilidade (nota 1, Figura 1). Nas variedades SP71-1406 e SP70-3370 as lesões permaneceram com um halo de coloração amarelada até o momento da avaliação (nota 3, Figura 1). Nas demais variedades, as lesões evoluíram da maneira que caracteriza a doença, ou seja, o halo amarelado apresentava-se pouco visível no momento da avaliação, além da presença de pequenas estrias que originavam das lesões e se dirigiam na maioria dos casos ao ápice das folhas. Em geral as folhas mais jovens se mostraram mais suscetíveis que as folhas mais velhas.

Embora as variedades tenham apresentado comportamentos semelhantes em ambos os ensaios com relação ao tipo de lesões, o número destas nem sempre permaneceu o mesmo. Este fato ocorreu com as variedades SP71-1406, SP71-6163, NA56-79, SP72-4928, SP72-1861, SP71-1632 e SP71-345, que apresentaram diferentes reações nos dois experimentos.

4.4 - Teste de resistência varietal conduzido em condições de campo

Os resultados (Tabela 7) mostram que, em condições de campo, as variedades apresentaram, de maneira geral, as mesmas reações obtidas nos ensaios de casa de vegetação.

Embora de evolução mais lenta, as lesões foliares apresentaram, no momento da avaliação, características similares às observadas sob condições de casa de vegetação.

TABELA 7. Reação de variedades de cana-de-açúcar à mancha ocular. (Teste conduzido em condições de campo).

=====							
ÍNDICE DE DOENÇA NAS REPETIÇÕES(1)							
Variedade	-----					Média Reação(2)	
	A	B	C	D	E		

PR980	1	1	1	1	1	1,00	AR
SP71-1406	2	2	2	1	3	2,00	R
SP71-3146	3	2	3	2	2	2,40	R
SP71-6180	3	3	3	3	3	3,00	MR
SP70-1143	3	3	3	3	3	3,00	MR
SP70-3370	3	3	4	3	3	3,20	MR
SP72-4928	3	4	4	3	3	3,40	MR
SP75-3046	4	3	4	4	3	3,60	S
SP71-8210	4	4	3	4	3	3,60	S
SP71-6163	3	3	4	4	4	3,60	S
SP71-345	4	3	5	4	4	4,00	S
SP72-1861	4	4	4	4	4	4,00	S
SP79-1230	4	4	5	4	5	4,20	S
CB41-76	4	5	4	4	4	4,40	S
=====							

(1) Cada repetição é representada por uma touceira. Atribuiu-se às touceiras, notas de 1 à 5 de acordo com a escala mostrada na Figura 1.

(2) Critério: médias de 1-1,5 AR; 1,6-2,5 R; 2,6-3,5 MR; 3,6-4,5 S e 4,6-5,0 AS. AR - altamente resistente; R - resistente; MR - medianamente resistente; S - suscetível e AS - altamente suscetível (SANGUINO, 1976).

5. DISCUSSÃO

5.1 - Teste de patogenicidade

A intensidade dos sintomas observados em plantas da variedade CB41-76 caracterizou a patogenicidade do isolado de B. sacchari usado nos testes de resistência.

A evolução dos sintomas de mancha ocular apresentou-se de maneira similar aos relatados por MARTIN (1961) e TOKESHI (1980), com as folhas mais jovens sendo mais suscetíveis que as folhas mais velhas. Isto explica a facilidade com que o patógeno invade o cartucho foliar de variedades suscetíveis causando a podridão do topo das plantas.

Esta forma severa de ataque da doença pode ser melhor compreendida ao se analisar as temperaturas ótimas para desenvolvimento tanto do hospedeiro como do patógeno.

A faixa de temperatura ideal ao desenvolvimento da cana-de-açúcar situa-se entre 30 e 34°C (FAUCONIER, 1975), na qual o desenvolvimento da doença é lento pois os tecidos do hospedeiro tornam-se resistentes às toxinas produzidas pelo fungo (BYTHER & STEINER, 1975 e 1976). Por outro lado, a 20°C ocorre paralização do crescimento da cultura (BARBIERI et alii*, citados por ALFONSI et alii, 1987) com rápido desenvolvimento do patógeno, causando os maiores índices de doença em variedades suscetíveis (LIU, 1968).

Dessa maneira, a maior suscetibilidade das folhas mais jovens em períodos com condições ambientais extremamente favoráveis ao patógeno e desfavoráveis ao hospedeiro, incapacitando-o de emitir nova folhagem, explica o potencial de danos da mancha ocular em variedades altamente suscetíveis.

* BARBIERI, V.; BACCHI, O. O. S.; VILLA NOVA, N. A.

Análise do fator temperatura média do ar no desenvolvimento da cana-de-açúcar. In: I Congresso Brasileiro de Agrometereologia. Mossoró, 1979

5.2 - Efeito de meios de cultura e regimes de luz na esporulação de B. sacchari

Os resultados apresentados na Tabela 4 demonstram a importância da luz na esporulação de B. sacchari em meios de cultura. Enquanto que sob luz alternada ou contínua a esporulação foi intensa para os três meios estudados, sob escuro contínuo a esporulação foi escassa.

A constatação de que a luz influenciava na esporulação foi feita logo no início dos trabalhos, quando observou-se que em placas de Petri comuns a esporulação era demorada e escassa, ao contrário do que ocorria nas de marca Pirex. As placas comuns devem impedir a passagem de ondas de luz essenciais à produção dos esporos. Estudos mais detalhados sobre a condutividade de luz monocromática nas diferentes marcas de placas existentes no mercado, como os que foram conduzidos por BHAMA (1971), provavelmente trariam mais informações sobre o assunto, facilitando a compreensão da esporogênese em B. sacchari.

A importância da luz na esporulação do fungo foi também verificada por DEAN (1987) que obteve intensa produção de esporos somente quando as placas foram mantidas sob luz ultravioleta. Foi utilizando este procedimento que o autor conseguiu esporos em quantidade suficiente para conduzir testes de resistência varietal, substituindo o uso de micélio como inóculo.

Além da esporulação, a luz influenciou também o tipo de crescimento micelial que, sob luz contínua ou escuro contínuo, foi uniforme em toda extensão da placa e sob luz alternada houve a formação de anéis concêntricos alternados, com e sem esporos, correspondendo à presença e ausência de luz respectivamente. Este comportamento também foi observado por MARTIN (1961). Este autor afirma, no entanto, que sob escuro contínuo a esporulação foi intensa e uniforme, em desacordo com o que foi verificado no presente trabalho. Como B. sacchari apresenta grande variabilidade na natureza (PARRIS, 1942), é possível que tal discordância se deva às diferenças genéticas dos isolados em estudo.

Com relação às exigências nutricionais pode-se afirmar que os três meios estudados apresentam aparentemente em sua constituição os elementos necessários ao desenvolvimento do fungo, sendo por isso empregados por

diversos autores para produção de inóculo (WISMER & KOIKE, 1965; OSADA & FLORES, 1968; SANGUINO 1976 e SANGUINO et alii 1983 e DEAN, 1987). Por serem semi-sintéticos, os meios BDA e CLA não apresentam composição totalmente definida. Portanto, não se pode garantir que uma próxima preparação apresentará a mesma composição. Apesar disso optou-se em produzir o inóculo em CLA, por ser este mais barato e de fácil preparo em laboratório.

Um aspecto importante no estudo da resistência, além da produção do inóculo, é a preservação do isolado. De acordo com STROBEL (1975) a preservação pode ser feita em meio de cultura CLA, desde que neste seja incluído extrato de folhas de variedade suscetível ao patógeno pois, em extrato de variedade resistente ou em meios sintéticos, após sucessivas transferências, o fungo perde a patogenicidade. Essa preservação pode também ser feita em folhas de cana-de-açúcar com lesões esporulantes no interior de dessecadores, que durante o tempo de desenvolvimento do presente trabalho mostrou-se útil em manter a viabilidade dos esporos e patogenicidade do isolado.

5.3 - Testes de resistência varietal

Os resultados apresentados nas Tabelas 5, 6 e 7 indicam que as condições de ambiente foram favoráveis ao desenvolvimento da mancha ocular, tanto em casa de vegetação como a nível de campo.

Através da análise dos dados observa-se que houve variação no índice de doença em diversas variedades nos três ensaios, causando alteração na reação varietal. As causas de tais variações podem ter sido pequenas variações nas condições ambientais de umidade e temperatura, que de acordo com LIU (1968) e BYTHER & STEINER (1975), constituem-se em importantes fatores no desenvolvimento da doença.

Quando se comparam essas reações com as obtidas por outros autores, observa-se a mesma tendência, (Tabela 8).

TABELA 8. Comparação entre as reações varietais obtidas nos ensaios conduzidos em casa de vegetação (A e B) e campo (C) com as reações obtidas por outros autores.

Variedades	A	B	C	Outros autores
PR980	AR	AR	AR	AR (3, 6, 7, 9); R (1)
NC0310	-	S	-	AS (6); I (3, 7)
CO419	S	-	-	AS (1, 3); S (2, 7)
C87-51	I	I	-	AS (9)
CB41-76	AS	AS	S	S (4, 6); I (5, 7)
NA56-79	S	I	-	I (8)
SP70-1143	-	I	I	I (8)
SP70-3370	R	R	I	I (8)
SP71-345	AS	S	S	S (8)
SP71-1406	R	I	R	I (8)
SP71-3146	R	R	R	R (8)
SP71-6163	I	S	S	S (8)

- 1 - FLORES & RAMIREZ (1962) - Observação de campo.
- 2 - CARVALHO et alii (1968) - Observação de campo.
- 3 - OSADA & FLORES (1968) - Ensaio de campo com infecção natural.
- 4 - WISMER (1973) - Observação de campo.
- 5 - PLANALSUCAR (1973) - Inoculações artificiais.
- 6 - SANGUINO (1976) - Ensaio em casa de vegetação com inoculação artificial.
- 7 - PLANALSUCAR (1978) - Inoculações artificiais.
- 8 - SANGUINO et alii (1983) - Ensaio em casa de vegetação com inoculação artificial.
- 9 - RAMOS LEAL et alii (1989) - Ensaio em laboratório com avaliação bioquímica da resistência.

A maior variação foi observada na variedade C87-51, que em Cuba é considerada altamente suscetível à mancha ocular (RAMOS LEAL et alii, 1989) e no presente trabalho se comportou como intermediária nos dois ensaios conduzidos em casa de vegetação. De acordo com os pesquisadores do PLANALSUCAR (1978), diferentes reações observadas em uma mesma variedade podem ser atribuídas a variações nas condições de ambiente, patogenicidade do isolado, concentração do inóculo e métodos de teste. Pode ainda estar envolvido a identificação incorreta das variedades.

No presente trabalho observou-se também três tipos diferentes de lesões foliares, que se repetiram nos três experimentos, quando as variedades permaneceram incubadas sob condições de temperatura e umidade favoráveis ao desenvolvimento da doença. Quando no entanto, devido a impossibilidade de controle do ambiente, a temperatura da câmara úmida se elevou, ultrapassando os 28°C, todas as variedades manifestaram lesões pequenas e escuras, semelhantes àsquelas observadas na variedade PR980 (nota 1, Figura 1). Isso ocorreu provavelmente como consequência da indução térmica da resistência, fenômeno estudado intensamente por BYTHER & STEINER (1975 e 1976).

Os resultados mostraram que testes de resistência à mancha ocular podem ser realizados através de inoculações artificiais tanto em condições de campo quanto em casa-de-vegetação contrariando os resultados de FLORES & RAMIREZ (1962).

A possibilidade de realização dos testes em condições de campo em qualquer época do ano foi uma das vantagens citadas por WISMER & KOIKE (1965) ao descreverem este método. No entanto a impossibilidade de controle ambiental dificulta a sua realização nos meses mais quentes restringindo-os basicamente aos meses de inverno, o que também foi verificado no Havaí por BYTHER & STEINER (1975).

Comparando-se a metodologia empregada por SANGUINO (1976) que consiste na inoculação e manutenção das plantas em câmara úmida no interior de casa-de-vegetação, com a empregada por WISMER & KOIKE (1965), observa-se que a necessidade de menor espaço e a possibilidade de controle ambiental são vantagens que o primeiro método oferece em relação ao segundo. Além disso, em casa-de-vegetação as plantas mantêm as folhas saudáveis até o momento da inoculação, o que dificilmente ocorre nas condições de campo. A ocorrência de lesões foliares causadas por outros patógenos que ocorrem na mesma época favorável à mancha ocular, pode dificultar a realização dos testes em variedades suscetíveis àqueles

patógenos. Podemos citar como exemplo a ferrugem causada pelo fungo Puccinia melanocephala e que se encontra amplamente disseminada.

Com base nas reações obtidas nos três experimentos e considerando-se as pequenas variações observadas, as variedades foram agrupadas em altamente resistente - PR980; resistente - SP70-3370, SP71-1406 e SP71-3146; moderadamente resistente - C87-51, NA56-79, SP70-1143, SP71-6180, SP71-8210, SP72-4928 e SP75-3046; suscetível - Co419, IAC53-340, NCo310, SP71-345, SP71-6163 e SP79-1230; e altamente suscetível - CB41-76, SP71-1632 e SP72-1861. Analisando-se somente as reações das variedades SP, observamos maior proporção de variedades suscetíveis e altamente suscetíveis do que resistentes. Essa maior proporção pode estar associada a não utilização de fontes específicas de resistência no programa de melhoramento da Copersucar, à ausência de seleção precoce visando resistência à mancha ocular e à sazonalidade da doença que pode impedir o contato entre patógeno e hospedeiro por tempo às vezes prolongado.

Para se evitar possíveis perdas com a mancha ocular, maiores cuidados deverão ser tomados com as variedades suscetíveis e altamente suscetíveis, principalmente nas regiões onde a doença ocorre com maior frequência. Nestes locais deve-se evitar o plantio daquelas variedades em vales,

baixadas ou margens de rios onde ocorre acúmulo de umidade e as temperaturas são mais baixas (TOKESHI, 1980). Por outro lado, as variedades resistentes, além de dispensarem cuidados especiais com o local de plantio, de acordo com BYTHER & STEINER (1971) constituem-se em fontes de resistência, transmitindo com maior frequência essa característica à progênie.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste trabalho permitem as seguintes conclusões:

- 1 - O isolado do fungo B. sacchari utilizado apresentou grande dependência de luz para produção de esporos em meios de cultura.
- 2 - Desde que realizado no inverno, os testes de resistência à mancha ocular podem ser conduzidos em condições de campo.
- 3 - As variedades de cana-de-açúcar testadas mostraram ampla gama de variação sendo altamente resistente a PR980; resistentes as variedades SP70-3370, SP71-1406 e SP71-3146; moderadamente resistentes as variedades C87-51, NA56-79, SP70-1143, SP71-6180, SP71-8210, SP72-4928 e SP75-3046; suscetíveis as variedades Co419, IAC53-340, NCo310, SP71-345, SP71-6163 e SP79-1230, e altamente suscetíveis as variedades CB41-76, SP71-1632 e SP72-1861.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFONSI, R.R.; JUNIOR, M.J.P.; BRUNINI, O.; BARBIERI, V.
Condições climáticas para a cana-de-açúcar. In: PARANHOS,
S.B., coord. Cana-de-açúcar, cultivo e utilização.
Campinas, Fundação Cargill, 1987. v.1, p.42-55.
- BAKER, R.E.D.; MARTYN, E.B.; STEVENSON, C.G. Sugarcane
diseases in the Caribbean. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF
SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, 8., British West Indies,
1953. Proceedings. Kingston, ISSCT, 1954. p.895-902.
- BHAMA, K.S. Suitability of different types of glassware in
sporulation studies on Cercospora personata. Current
Science, Bangalore, 40: 45, 1971.
- BOURNE, B.A. Eye spot of lemon grass. Phytopathology,
St. Paul, 31: 186-9, 1941.

BRIEGER, F.O. Mancha ocular. Boletim Informativo Copereste,
Ribeirão Preto, v.4, n.11, jun. 1965.

BRIEGER, F.O. Os sintomas da mancha ocular. Boletim Informativo Copereste, Ribeirão Preto, v. 5, n.4, fev. 1966.

BRIEGER, F.O. 10 itens a serem observados durante o plantio. Boletim Informativo Copereste, Ribeirão Preto, v.7, n.2, fev. 1968.

BRIEGER, F.O. & ZUNCKELLER, E.V. Relatório sobre o levantamento aéreo da região, observando o ataque de "mancha ocular". Boletim Informativo Copereste, Ribeirão Preto, v.4, n.13, jul. 1965.

BYTHER, R.S. & STEINER, G.W. Use of helminthosporoside to select sugarcane seedlings resistant to eye spot disease. Phytopathology, St. Paul, 62: 466-70, 1971.

BYTHER, R.S. & STEINER, G.W. Heat-induced resistance of sugarcane to Helminthosporium sacchari and helminthosporoside. Plant Physiology, Maryland, 56: 415-9, 1975.

BYTHER, R.S. & STEINER, G.W. Summer-induced resistance to eye spot disease of sugarcane. Sugarcane Pathologists' Newsletter, 15/16: 54-6, 1976.

CARVALHO, P.C.T.; TAKATSU, A; BRINHOLI, O; RIBEIRO, I.J.A.; SUGETA, H. Doenças da cana-de-açúcar no Estado de São Paulo. Boletim Informativo Copereste, Ribeirão Preto, 11: 4-12, 1968.

CHINEA, A. & RODRIGUEZ, E. Las enfermedades de la caña de azucar en Cuba durante los ultimos 30 años. ATAC, La Habana, 41(3): 9-21, 1982.

DEAN, J.L. Improved sporulation of Bipolaris sacchari, the causal fungus of eye spot of sugarcane. Journal of the American Society of Sugarcane Technologists, 5: 111, 1985. Apud Sugarcane, Port Talbot, 3: 27, 1987.
(Resumo)

DEAN, J.L. & MILLER, J.D. Field screening for eye spot resistance. Phytopathology, St. Paul, 65: 955-8, 1975.

EDGERTON, C.W. Lesions and spots (necrosis diseases) on leaves caused by fungi. In: _____. Sugarcane and its diseases. Baton Rouge, Louisiana State University Press, 1958. p.122-41.

FARIS, J.A. Three Helminthosporium diseases of sugarcane. Phytopathology, St. Paul, 18: 753-75, 1928.

FAUCONIER, R. & BASSEREAU, D. La Caña de Azucar. Barcelona, Blune, 1975. 433p.

FLORES, S. & RAMIREZ, A. Eye spot disease in Mexico. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, 11., Mauritius, 1962. Proceedings. Amsterdam, Elsevier, 1963. p.807-9.

GALLI, F.; TOKESHI, H.; CARVALHO, P.C.T.; BALMER, E.; KIMATI, H.; CARDOSO, C.O.N.; SALGADO, C.L. Manual de fitopatologia. São Paulo, Ceres, 1968. 640p.

HUGHES, C.G. Disease reactions by observation. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, 12., Puerto Rico, 1965. Proceedings. Amsterdam, Elsevier, 1967. p.1174-7.

HUTCHINSON, P.B. A note on disease ratings for sugarcane varieties. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, 13., Taiwan, 1968. Proceedings, Amsterdam, Elsevier, 1969. p.1087-9.

KOLOBAEV, V.A.; MARTIN, O.; GONZÁLES, R. Evaluation of reaction to eye spot, Helminthosporium sacchari (van BREDA DE HAAN), BUTLER in sugarcane varieties and their parents. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, 18., Cuba, 1983, Proceedings, Habana, José Martí, 1983. p.806-11.

KOLOBAEV, V.A.; JAIME, O.C.; MARTIN, A.C.; RODRIGUEZ, F.A.; AZCUY, A.F.; LEMA, E.R. Perspectivas en la obtención de progenitores de caña de azúcar con resistencia multifacética en Cuba. ATAC, La Habana, 44(5): 2-13, 1985.

LEE, A. The toxic substance produced by the eye-spot fungus of sugarcane, Helminthosporium sacchari, BUTLER. Plant Physiology, Maryland, 4:193-212, 1929.

LIU, L.J. The effect of temperature on various aspects of the development, occurrence and pathogenicity of Helminthosporium stenospilum and Helminthosporium sacchari in Puerto Rico. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, 13., Taiwan, 1968. Proceedings. Amsterdam, Elsevier, 1969. p.1212-8.

MARTIN, J.P. Eye spot. In: MARTIN, J.P.; ABBOTT, E.V.; HUGHES, C.G. Sugarcane diseases of the world. New York, Elsevier, 1961. v.1, cap.7, p.166-85.

MILLER, J.D. Evaluation of sugarcane (Saccharum sp) selection for eye spot resistance. In: AMERICAN SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS MEETINGS, Pensacola, 1973. Proceedings. s.l., 1974. v.3, p.79-82.

NOLLA, J.A.B. Eye spot of sugarcane in western and southwestern Puerto Rico. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, 12., Puerto Rico, 1965. Proceedings. Amsterdam, Elsevier, 1967. p.1129.

OSADA, S. & FLORES, S. Varietal resistance to eye spot disease. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, 13., Taiwan, 1968. Proceedings. Amsterdam, Elsevier, 1969. p.1208-11.

PARRIS, G.K. Eye-spot of napier grass in Hawaii, caused by Helminthosporium sacchari. Phytopathology, St. Paul, 32: 46-63, 1942.

PARRIS, G.K. The Helminthosporia that attack sugarcane. Phytopathology, St. Paul, 40: 90-103, 1950.

PROGRAMA NACIONAL DE MELHORAMENTO DA CANA-DE-AÇÚCAR.
Reação de variedades de cana-de-açúcar às principais doenças no Brasil. Brasil Açucareiro, Rio de Janeiro, 91(2): 55-62, fev. 1978.

RAMOS LEAL, M.; RUIZ, A.; SANDOVAL, I.; MARIBONA, R.H.
Biochemical evaluation of fungal disease resistance in sugarcane. Plant Breeding, Hamburg, 102: 45-50, 1989.

RELATÓRIO ANUAL FLANALSUCAR - 1973, Rio de Janeiro, p.30-3, 1974.

SANGUINO, A. Patologia e controle dos fungos de sementes de cana-de-açúcar e resistência de progênies à Helminthosporium sacchari. Piracicaba, 1976. 77p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" / USP).

SANGUINO, A. & CARVALHO, P.C.T. Teste de resistência de variedades de cana-de-açúcar a: mancha ocular (Helminthosporium sacchari (van BREDA DE HAAN) BUTLER), estrias vermelhas (Xanthomonas rubrilineans (LEE et al.) STARR et BURKHE), podridão abacaxi (Thielaviopsis paradoxa (DE SEYNES) MOREAU). Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia, São Paulo, 4: 124-6, 1971.

SANGUINO, A.; MORAES, V.A.; TOLEDO, A.C.D. Teste de resistência à mancha ocular em variedades SP. Boletim Técnico Copersucar, São Paulo, (24): 22-3, nov. 1983.

SCHEFFER, R.P. & LIVINGSTON, R.S. Sensitivity of sugarcane clones to toxin from Helminthosporium sacchari as determined by electrolyte leakage. Phytopathology, St. Paul, 70: 400-4, 1980.

SILVA, W. M.; FERNANDES, A.C.; FIGUEIREDO FILHO, O.; BULLIO, M.T. Recent advances in agricultural technology at CTC. Sugarcane, Port Talbot, 5: 15-8, 1989.

STEINER, G.W. & BYTHER, R.S. Toxicity of culture filtrate from the eye spot fungus. In: HAWAIIAN SUGAR PLANTERS ASSOCIATION EXPERIMENT STATION. Annual report-1968. Aiea, 1969. p.70-1.

STEINER, G.W. & BYTHER, R.S. Eye spot toxin isolated. In: HAWAIIAN SUGAR PLANTERS ASSOCIATION EXPERIMENT STATION. Annual report-1969. Aiea, 1970. p.53-5.

STEINER, G.W. & BYTHER, R.S. Partial characterization and use of a host-specific toxin from Helminthosporium sacchari on sugarcane. Phytopathology, St. Paul, 61: 691-5, 1971.

STEINER, G.W. & STROBEL, G.A. Helminthosporoside, a host-specific toxin from Helminthosporium sacchari. The Journal of Biological Chemistry, Baltimore, 246(13): 4350-7, 1971.

STROBEL, G.A. A mechanism of disease resistance in plants. Scientific American, New York, 232(1): 80-8, 1975.

STROBEL, G.A.; HESS, W.M.; STEINER, G.W. Ultrastructure of cells in toxin - treated and Helminthosporium sacchari - infected sugarcane leaves. Phytophology, St. Paul, 62(3): 339-5, 1972.

TOKESHI, H. Doenças da cana-de-açúcar. In: GALLI, F., coord. Manual de fitopatologia. 2.ed. Piracicaba, Ceres, 1980. v.2, p.141-206.

VOORHEES, R.K. Eye spot disease of napier grass. Phytophology, St. Paul, 28: 438-43, 1938.

WILLCOX, T.G. & McALEESE, C.M. Eye spot disease in far north Queensland. In: QUEENSLAND SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONFERENCE, 45., Townsville, 1978. Brisbane, Watson Ferguson, 1978. p.103-6.

WISMER, C.A. Teste da mancha ocular da cana-de-açúcar usando-se a toxina produzida por Helminthosporium sacchari. Planalsucar em Notícias, Piracicaba. (18): 7-8, out. 1973.

WISMER, C.A. & KOIKE, H. Testing sugarcane varieties against eye spot, brown spot, red rot and leaf scald diseases in Hawaii. In: INTERNATIONAL SOCIETY OF SUGARCANE TECHNOLOGISTS CONGRESS, 12., Puerto Rico, 1965. Proceedings. Amsterdam, Elsevier, 1967. p.1144-53.

8. APÊNDICE

TABELA 1. Efeito do meio de cultura e regime de luz na esporulação de B. sacchari. Dados originais correspondentes aos resultados apresentados na Tabela 4 e sua análise estatística.

=====				
Meio de	Repetições	N. de conídios ($\times 10^4$) por ml		
cultura		-----		
		Luz cont.	Luz/esc.	Escuro cont.

BDA	1	6,65	11,78	0,69
	2	9,33	13,08	0,33
	3	7,98	12,85	0,25
	4	8,38	9,53	0,92
CLA	1	9,40	10,65	0,56
	2	12,93	12,25	0,75
	3	12,31	14,50	0,31
	4	8,96	14,88	0,21
LCH	1	14,31	15,56	1,00
	2	17,83	13,50	0,25
	3	18,13	15,46	0,94
	4	17,38	13,50	0,81
=====				

QUADRO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA

CAUSAS DA VARIACÃO	G.L.	S.Q.	Q.M.	VALOR F	PROB. >F
M.CULT.	2	2.0106481	1.0053240	23.0685	0.00002
LUZ	2	52.3742399	26.1871200	600.8974	0.00001
M.C*LUZ	4	1.4792716	0.3698179	8.4860	0.00028
RESIDUO	27	1.1766605	0.0435800		
TOTAL	35	57.0408200			

Coeficiente de variação = 7.635%

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE M.CULT.
DENTRO DE LUZ CONT DO FATOR LUZ

N. ORD.	N. TRAT.	NOME	N. REPET.	MÉDIAS	MÉDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	3	LCH	4	4.168613	16.877338	a	A
2	2	CLA	4	3.366485	10.833220	b	B
3	1	BDA	4	2.925302	8.057392	c	B

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ
DENTRO DE BDA DO FATOR M.CULT.

N. ORD.	N. TRAT.	NOME	N. REPET.	MÉDIAS	MÉDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	LUZ E ES	4	3.502542	11.767804	a	A
2	1	LUZ CONT	4	2.925302	8.057392	b	B
3	3	ESC. CON	4	1.014894	0.530011	c	C

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ
DENTRO DE CLA DO FATOR M.CULT.

N. ORD.	N. TRAT.	NOME	N. REPET.	MÉDIAS	MÉDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	2	LUZ E ES	4	3.676148	13.014067	a	A
2	1	LUZ CONT	4	3.366485	10.833220	a	A
3	3	ESC. CON	4	0.972553	0.445859	b	B

TESTE DE TUKEY PARA MÉDIAS DE LUZ
DENTRO DE LCH DO FATOR M.CULT.

N. ORD.	N. TRAT.	NOME	N. REPET.	MÉDIAS	MÉDIAS ORIGINAIS	5%	1%
1	1	LUZ CONT	4	4.168613	16.877338	a	A
2	2	LUZ E ES	4	3.871451	14.488132	a	A
3	3	ESC. CON	4	1.108831	0.729505	b	B

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado.

DMS 1% = .4702281256765127

DMS 5% = .3663708592951298