MÉTODO DE COLORAÇÃO DO XILEMA, PELO FLUXO TRANSPIRATÓRIO, APLICADO NA DETERMINAÇÃO DE INFECÇÃO DO RAQUITISMO DA SOQUEIRA EM CANA-DE-AÇÚCAR

PAULO ROBERTO RIBEIRO CHAGAS

Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. HASIME TOKESHI

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.

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Abril - 1986

Ao meu pai e meus sogros (in memorian)

À minha mãe

minha homenagem

À minha esposa Sônia Regina

Aos meus filhos Fabrício ,

Fabiano e Paula Regina

DEDICO

AGRADECIMENTOS

- À Esposa Sônia Régina Venâncio Chagas, pela dedicação, incentivo e sacrifício durante o desenvolvimento do presente trabalho.
- Ao Professor Dr. Hasine Tokeshi, pela eficiente orientação, apoio, valiosas sugestões e estímulo constante; a ele, esposa e filhos, pela amizade.
- Ao Programa Nacional de Melhoramento da Cana-de-Açúcar, IAA/PLANALSUCAR, pela possibilidade do treinamento.
- Ao Engº Agrº James Pimentel Santos, Superintendente Geral do IAA/PLANALSUCAR, pelo incentivo e apoio; a ele esposa e filhos pela amizade e convívio.
- Aos Supervisores de Melhoramento Centro-Sul, Dr. Sizuo Matsuo-ka e Engº Agrº Antonio Lazarini Segalla, pelo apoio, sugestões e amizade.
- À Coordenadoria Regional Leste, e em especial ao Engº Agrº Carlos Alberto Barbosa Zacarias, pelo apoio, solidariedade e amizade.
- À Seção de Melhoramento da Coordenadoria Regional Sul do IAA/PLANALSUCAR, pela excelente colaboração no fornecimento de material.
- À Usina da Barra S/A, em especial ao Engº Agrº Massahiro Nagumo, pela excelente colaboração no fornecimento de mudas, para o desenvolvimento do presente trabalho.

À Estação Experimental de Piracicaba, pela excelente contri-
buição no desenvolvimento do presente trabalho, pelo forne-
cimento de mudas.

À Ailton José, Vera Lúcia, Cláudia Márcia, Maria da Glória,
Venício Arújo, Eunície Maria pelo inesgotável apoio, cari-
nho e amizade dispensados durante o curso.

Aos meus irmãos, cunhado, cunhadas pela amizade e consideração.

Ao Engº Agrº Aldo Alves Peixoto, pelo incentivo, apoio e ami-
zade.

Ao Engº Agrº Norberto Antonio Lavoretti, pelas sugestões e co-
laborações nas análises estatísticas.

Ao Sr. José do Nascimento Rodrigues de Abreu e Sra. Guida Ma-
ria Correia Pinto de Abreu pelo apoio, amizade, considera-
ção e convívio.

Aos Colegas do curso e em especial aos Engºs Agrºs Hermann Pau-
lo Hoffmann, Rêne de Assis Sordi e Wagner Bettiol, pela tro-
ca de idéias e excelente convívio mantido durante o curso.

Aos Professores do Departamento de Fitopatologia da ESALQ, pe-
los valiosos ensinamentos.

Às Secretárias Maria do Carmo Maluli Delgado, Vera Lúcia de O-
liveira e Aparecida de Fátima Gonçalves Ferraz de Campos, pe-
los valiosos trabalhos de datilografia durante o curso e
tradução do resumo para o Inglês.

À Bibliotecária Maria Aparecida Remédio, pela colaboração da
correção da literatura citada.

Aos Funcionários do Departamento de Fitopatologia da ESALQ, pela colaboração nos trabalhos de campo e laboratório.

Aos Motoristas da Superintendência Geral do IAA/PLANALSUCAR , João, Messias e Alício, pelo apoio, consideração e amizade dispensado durante o curso.

Ao Desenhista Hêlio Oliveira Junior, pela colaboração nos desenhos apresentados.

Í N D I C E

	Pág.
RESUMO	x
SUMMARY	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	04
2.1. Agente Causal	04
2.2. Disseminação	07
2.3. Diagnose da Doença	09
2.3.1. Fatores que Interferem na Expressão dos Sintomas	09
2.3.2. Reprodução de Sintomas na Diagnose da Doença	11
2.3.3. Diagnose através de Testes Químicos e Biológicos	12
2.3.4. Testes Serológicos na Diagnose da Doença	13
2.3.5. Diagnose através da Microscopia	14
2.4. Controle	16
2.4.1. Plantio de Material Sadio	18
a) Tratamento térmico com água quente ...	19
b) Tratamento à vapor	22
c) Tratamento com ar quente	23
2.5. Movimento de Água na Planta e Função da Anatomia Vascular na Resistência ao RS	24
2.6. Medidas da Intensidade de Doença pela Observação Visual	27
3. MATERIAL E MÉTODO	30
3.1. Variedades	30
3.2. Obtenção do Inóculo e Inoculação	31
3.3. Soluções Corante e Diluições	31
3.4. Métodos	31

3.4.1. Método de Vazão de Água em Colmos de Cana-de-Açúcar	31
3.4.2. Método de Vazão de Solução Corante	32
3.4.2.1. Padronização da Escala de Sintomas do RS, pela Coloração do Xilema	32
3.4.2.2. Tempo Mínimo Necessário na Coloração do Xilema, pelo Método de Vazão de Solução Corante	33
3.4.3. Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório	34
3.5. Fatores que Interferem no Método de Coloração do Xilema, pelo Fluxo Transpiratório	34
3.5.1. Altura de Recorte do Colmo	35
3.5.2. Hora de Corte da Muda	35
3.5.3. Tempo de Cavitação	35
3.5.4. Corantes	36
3.5.5. Tempo de Coloração do Xilema	36
3.5.6. Interferência de Brocas (<i>Diatraea spp</i>) ..	36
3.5.7. Umidade do Solo	37
3.6. Avaliação da Eficiência dos Três Métodos na Determinação de Sanidade de Colmos Tratados Termicamente (TT) e inoculados com Caldo Bruto (RS) .	37
3.6.1. Determinação da Vazão de Água em Colmos Sadios (TT) e Doentes (RS)	38
3.6.2. Determinação da Percentagem Média de Vasos Coloridos, pelo Método de Vazão de Solução Corante	38
3.6.3. Determinação da Percentagem Média de Vasos Coloridos, pelo Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório	39

3.6.4. Comparação entre os Métodos: Vazão de Solução Corante e do Fluxo Transpiratório, na Determinação de Sanidade de Colmos Sadios (TT) e Doentes (RS)	39
3.7. Aplicação do Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório, no Controle de Qualidade de Viveiros e Canaviais Comerciais de Cana-de-Açúcar	39
3.8. Análise Estatística	40
4. RESULTADOS	42
4.1. Padronização da Escala de Sintomas do RS, pela Coloração do Xilema	42
4.2. Tempo Mínimo Necessário na Coloração do Xilema pelo Método de Vazão de Solução Corante	44
4.3. Fatores que Interferem no Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório	45
4.3.1. Altura de Recorte do Colmo	45
4.3.2. Hora de Corte da Muda	47
4.3.3. Tempo de Cavitação	50
4.3.4. Corantes	53
4.3.5. Tempo de Coloração do Xilema	59
4.3.6. Ataque de Broca (<i>Diatraea spp</i>)	62
4.4. Avaliação da Eficiência dos Três Métodos na Determinação de Sanidade de Colmos Tratados Termicamente (TT) e Inoculados com Caldo Bruto (RS) .	64
4.4.1. Determinação da Vazão de Água em Colmos Sadios (TT) e Doentes (RS)	64
4.4.2. Determinação da Percentagem Média de Vasos Coloridos, pelo Método de Vazão de Solução Corante	67
4.4.3. Determinação da Percentagem Média de Vasos Coloridos, pelo Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório	70

4.4.4. Comparação entre os Métodos: Vazão de Solução Corante e do Fluxo Transpiratório na Determinação de Sanidade de Colmos Sadios (TT) e Doentes (RS)	70
4.5. Aplicação do Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório, no Controle de Qualidade de Viveiros e Canaviais Comerciais de Cana-de-Açúcar	77
5. DISCUSSÃO	80
5.1. Padronização da Escala de Sintomas do RS, pela coloração do Xilema	80
5.2. Tempo Mínimo Necessário na Coloração do Xilema, pelo Método de Vazão de Solução Corante	81
5.3. Fatores que Interferem no Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório	82
5.3.1. Altura de Recorte do Colmo	82
5.3.2. Hora de Corte da Muda	82
5.3.3. Tempo de Cavitação	83
5.3.4. Corantes	84
5.3.5. Tempo de Coloração do Xilema	85
5.3.6. Ataque de Broca (<i>Diatraea spp</i>)	86
5.3.7. Umidade do Solo	87
5.4. Avaliação da Eficiência dos Três Métodos, na Determinação de Sanidade de Colmos Tratados Termicamente (TT) e Inoculados com Caldo Bruto (RS) .	88
5.4.1. Método de Vazão de Água	88
5.4.2. Método de Vazão de Solução Corante	89
5.4.3. Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório	90
5.4.4. Comparação entre os Métodos: Vazão de Solução Corante e do Fluxo Transpiratório na Coloração do Xilema	90

5.5. Aplicação do Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório, no Controle de Qualidade de Viveiros e Canaviais Comerciais de Cana-de-Açúcar	90
6. CONCLUSÕES	92
7. LITERATURA CITADA	94
8. APÊNDICES	111

MÉTODO DE COLORAÇÃO DO XILEMA, PELO FLUXO TRANSPIRATÓRIO,
APLICADO NA DETERMINAÇÃO DE INFECÇÃO DO RAQUITISMO DA
SOQUEIRA EM CANA-DE-AÇÚCAR

Autor: PAULO ROBERTO RIBEIRO CHAGAS

Orientador: Prof. Dr. HASIME TOKESHI

RESUMO

O trabalho teve como objetivo desenvolver um método simples de avaliação dos níveis de contaminação do Raquitismo da Soqueira em viveiros e canaviais comerciais. O método foi baseado na determinação da condutividade de água pelos vasos do xilema no colmo de cana-de-açúcar. A condutividade foi medida pela sucção da solução corante através de meios naturais de tensão do fluxo transpiratório.

O teste de coloração foi feito comparando colmos adultos obtidos a partir de viveiros aparentemente sadios (canas tratadas termicamente - 50,5º C/2 horas) e colmos obtidos de viveiros doentes (inoculados com caldo bruto - RS). Para isto, a extremidade basal de colmos inteiros das variedades CB 41-76 e NA 56-79 foram mantidos em recipientes contendo diferentes soluções corantes, por 60 minutos. Feito isto, a percentagem de vasos coloridos no primeiro nó basal, foi determinada através de uma escala de sintomas pré-estabelecida.

Os resultados mostraram que a altura onde o colmo é novamente cortado, o tempo de cavitação, corantes, a hora do dia que é colhido o colmo ou usado o método, o ataque de broca (*Diatraeae spp*) e a umidade do solo no momento do corte do colmo, são alguns dos fatores que interferem na precisão da coloração do xilema pelo método do fluxo transpiratório.

O novo método foi comparado aos métodos de ava-

liação de resistência ao raquitismo da soqueira pela vazão de água e vazão de solução corante, ambos usando a pressão de vácuo. Os resultados mostraram que os três métodos são equivalentes. Entretanto, o novo método mostrou ser mais preciso, mais eficiente, mais econômico e mais prático do que os dois outros na determinação do índice de contaminação do raquitismo da soqueira em viveiros e canaviais comerciais. A simplicidade e ausência de equipamentos complexos e sofisticados torna viável seu uso por extensionistas ou mesmo por produtores para o controle de sanidade de viveiros e canaviais comerciais de cana-de-açúcar.

METHOD OF XYLEM COLORATION, BY THE AID OF THE TRANSPIRATORY
FLUX, APPLIED TO THE DETERMINATION OF
RATOON STUNTING DISEASE INFECTION IN SUGARCANE

Author: PAULO ROBERTO RIBEIRO CHAGAS

Orientador: Prof. Dr. HASIME TOKESHI

SUMMARY

The objective of this work was to develop a simple method for the evaluation of the level of contamination of commercial sugarcane nurseries by the ratoon stunting disease. The method was based on the determination of the water conductivity of the xylem vessels in the sugarcane stalks. Conductivity was measured by the sucking of a dyed solution by means of the natural transpiratory flux tension.

The dyeing test was made comparing adult stalks obtained from apparently healthy nursery (progeny of long hot water treated canes - 50,5°C/2 hours) with those obtained from diseased (inoculated) nursery. The basal portion of stalks of the varieties CB41-76 and NA56-79 was maintained for 60 minutes in containers with different dyeing solution. Later on, the percentage of dyed vessels in basal nodes was evaluated by the aid of a predetermined visual scale.

The results showed that the height where the stalk is cut, the cavitation period, dyes, the time of the day the stalk is collected or used to apply the method, the borer attack and the soil moisture just before the stalk is cut, are some of the factors that interfere in the precision of the xylem coloration by the aid of the transpiratory flux.

This new method was compared to the methods of e

valuation of ratoon stunting disease resistance by the water flow and the dyed solution flow, both using vacuum pressure.

The results showed that all the three methods are equivalent. Nevertheless, the new method showed to be more precise, more efficient, more economic and more practical than the two others in the determination of the ratoon stunting disease incidence in nurseries or cane field. The simplicity and the exemption of sophisticated and complex equipments make it viable to be used by the extensionists or even the own producers to control the sanity of the commercial sugarcane fields or nurseries.

1. INTRODUÇÃO

A importância social e econômica da cultura canavieira no Brasil, cresceu com a crise energética mundial e a criação do Programa Nacional do Alcool (PROÁLCOOL). Para a produção no ano de 1983/84 de 8,5 milhões de toneladas de açúcar e 9,5 bilhões de litros de álcool, foi necessário a ocupação de 3,8 milhões de hectares de terra. A produção de 9,5 bilhões de litros de álcool, correspondeu a uma oferta de gasolina da ordem de 50 milhões de barris/ano, economizando para o Brasil em torno de 2 bilhões de dólares em divisas. O consumo global de álcool em 1984 foi da ordem de 8 bilhões de litros, dos quais 6,6 bilhões foi de álcool anidro e hidratado utilizados como carburantes, possibilitando a fabricação de aproximadamente mil veículos movidos exclusivamente a álcool, além de toda a gasolina consumida no país levar uma mistura de 20% de álcool, gerando a criação de centenas de milhares de empregos indiretos. Ainda, na indústria química foram consumidos 600 milhões de litros e exportados em torno de 1 bilhão de litros, correspondendo a ingresso de divisas da ordem de 250 milhões de dólares (BERTELLI, 1985). No entanto, apesar de cifras tão elevadas, ao comparar-se o potencial genético de produtividade da planta, com os recordes obtidos no Brasil e em outros países na produção de açúcar, por área, estes são pelo menos três vezes maiores que as 4, 5 e 7,7 t/ha obtidas

atualmente no Nordeste e em São Paulo, respectivamente (CRUZ et alii, 1985).

Entre os fatores responsáveis pela baixa produtividade agrícola e industrial da cana-de-açúcar, encontram-se as doenças. Entre elas, o raquitismo da soqueira, por não apresentar sintomas específicos, é seguramente a que maiores prejuízos tem causado, pelo fato de estar presente em todos os canaviais, sem, no entanto, ser notada (HUGHES, 1958) e suas perdas oscilaram entre 10% a 60% (MATSUOKA, 1976 e TOKESHI, 1980). Deste modo, a disseminação do RS, que se dá através de mudas doentes e por instrumento de corte por ocasião de plantio e colheita (STEINDL e HUGHES, 1953; HUGHES e STEINDL, 1955; TODD, 1960; STEINDL, 1961; GALLI, et alii, 1968 e MATSUOKA, 1975) torna-se rápida e eficiente, chegando o material sadio após poucos cortes, a níveis altíssimos de contaminação (MATSUOKA, 1983, 1984).

Como no Brasil os métodos de melhoramento empregados não dirigem suas seleções especificamente para a obtenção de variedades tolerantes ou resistentes ao RS, a única medida de controle da doença, recomendada é o tratamento das mudas em água quente a 50,5°C por 2 horas (TOKESHI, 1980; MATSUOKA, 1983 e MASUDA, 1984). Apesar dessa prática realmente proporcionar a obtenção de mudas de boa sanidade, sabe-se que a cura não é completa (HUGHES e STEINDL, 1955 e STEINDL, 1961; HUGHES et alii, 1964; LOPES - ROSA e ADSUAR, 1970; MATSUOKA, 1982, 1983, 1984 e MASUDA, 1984). Não foi desenvolvido, até o presente um meio seguro de baixo custo e de fácil execução para o controle de qualidade das mudas obtidas através da termoterapia.

Utilizando o fluxo transpiratório como bomba de sucção de solução corante coloriu-se os vasos do xilema para detectar falhas no tratamento térmico no controle do RS. O método foi comparado com os métodos de vazão de água e vazão de solução corante. Os resultados mostraram que o método de coloração do xilema pelo fluxo transpiratório é mais simples, pre

ciso, rápido, econômico e prático, na detecção de contaminação de viveiros e canaviais comerciais. Determinou-se também alguns fatores que interferem na eficiência e eficácia do método.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Agente Causal

O Raquitismo da Soqueira foi considerado desde sua constatação na Austrália, nos anos de 1944-45, pela maioria dos autores, como sendo doença causada por vírus (STEINDL, 1950; HUGHES e STEINDL, 1955; SCHEXNAYDER, 1956, FORBES e LING, 1960, STEINDL, 1961; GILLASPIE et alii, 1966; GILLASPIE, 1971; MATSUOKA, 1972) sem que o possível vírus envolvido tivesse sido isolado e caracterizado.

STEIB e TANTERA (1970) já suspeitavam da doença estar associada a um micoplasma, porém, esta suspeita foi alterada com a suposição de um complexo de dois patógenos, um vírus e um micoplasma (KHURANA, 1972).

PLAVSIC - BANJAC e MARAMOROSCH (1972) revelaram a presença de corpos pleomórficos no xilema de canas maduras afetadas, semelhantes a uma pequena bactéria ou organismo do tipo micoplasma, hipótese esta, confirmada mais tarde (MARAMOROSCH et alii, 1973; GILLASPIE et alii, 1973). Estes autores, através de estudos em microscópio eletrônico encontraram evidências indicando estar a doença associada a uma bactéria do grupo corineforme ou organismo semelhante a ricketsia, no xilema de colmos infectados com RS, porém, não em colmos sadio de cana-de-açúcar.

Segundo TEAKLE (1974), a pequena bactéria associada ao RS na Austrália era possivelmente igual ao microorganismo observado em colmos doentes de cana-de-açúcar, em Porto Rico por PLAVSIC - BANJAC e MARAMOROSCH (1972), devido as semelhanças nas propriedades de sedimentação durante a centrifugação, dificuldade na passagem pelo filtro bacteriológico e sensibilidade para bactericidas, mas não a enzimas de ácidos nucleicos, rejeitando assim, a hipótese de estar envolvido um vírus, um viróide ou micoplasma, como agente causal do RS.

Organismos semelhantes a *Xanthomonas vasculorum*, foram isoladas de feixes vasculares de colmos de cana-de-açúcar infectados pelo RS (LIU et alii, 1974). Mais tarde, esta teoria foi confirmada por TOKESHI et alii (1974), porém, com fortes evidências de que um dos agentes causal da doença fosse *Xanthomonas albilineans*.

WEAVER et alii (1977) constataram que a bactéria é do tipo Gram positivo e, de acordo com KAO e DAMANN (1978) formam microcolônias filamentosas no xilema, as quais, se fragmentam facilmente nas extrações a vácuo dando origem aos talos bacterianos.

Segundo CHEN et alii (1975) em vasos do xilema do capim elefante, em Taiwan, foi encontrada uma bactéria semelhante a bactéria do RS. Sendo esta bactéria também isolada em cultura pura sobre o mesmo meio complexo usado para cultivar a bactéria do RS (DAVIS et alii, 1980; LIAO e CHEN, 1981).

SUDO (1980) estudando cana-de-açúcar com sintomas característicos do RS, constatou a presença das bactérias *Erwinia herbicola* e *Pseudomonas rubrisubalbicans*, evidenciando a possibilidade do RS ser causado por um complexo de bactérias.

NAYIAGER et alii (1980) estudando quatro diferentes bactérias isoladas de colmos de cana-de-açúcar infectadas com RS, em meio de Whites' modificado, verificaram que através de microscópio eletrônico e de contraste de fase havia algumas similaridades morfológicas entre estas bactérias

e aquela associada ao RS. Porém, inoculando as quatro separadamente em cana-de-açúcar, uma delas produziu sintomas característicos na região nodal do colmo. Esta bactéria em meio de cultura apresentou todas as características morfológicas, como organismo geralmente delgado, formando hastes pleomórficas, produzindo septos e messossamas, como descrita por BAILEY (1976); DAMANN e DERRICK (1976); GILLASPIE e BLIZZARD (1976); CHEN et alii (1975) e RICAUD et alii (1976).

DAVIS et alii (1980) concluíram que a bactéria associada ao RS é o agente causal da doença, estabelecendo a identidade morfológica e serológica da bactéria associada ao RS e a bactéria cultivada em meio de cultura. Afirmações confirmadas por GILLASPIE et alii (1981) que após sucessivos isolamentos da bactéria a partir de canas doentes com RS, encontraram as seguintes características: células em forma de bastonetes retos ou ligeiramente curvos, medindo 0,25 a 0,35 x 1,0 a 4,0 nm; parecem se multiplicar por divisão dos septos e presença de messossamas, colocando-as como membro do grupo das bactérias coriniformes fitopatogênicas, isto é: aeróbicas, imóveis, gram-positiva, não formam esporos, catalase positiva e oxidase negativa.

Todos os strains da bactéria agente causal do raquitismo do grama seda e da cana-de-açúcar, apresentam características similares. Porém, strain da bactéria de cana-de-açúcar difere do strain da bactéria do grama seda em que o strain do grama seda cresce rápido em meio de cultura e produz um pigmento não difuso amarelo. As duas bactérias relatadas foram determinadas serologicamente, pelos testes de imunofluorescência e dupla difusão. No teste de dupla difusão em gel, o strain do grama seda contém um determinado antígeno adicional que não está presente no strain da cana-de-açúcar (DAVIS et alii, 1980; LIAO e CHEN, 1981; DAVIS et alii, 1983).

DAVIS et alii (1983) demonstraram experimentalmente que a bactéria isolada do grama seda, mostrou ser patogênica, causando a doença denominada "Bermuda grass stunting."

Porém, essa doença não ocorre na natureza. Neste mesmo trabalho, observou que as bactérias causadoras do BS e do RS são patologicamente distintas, cada uma induzindo sintomas no seu hospedeiro natural, mas nunca no hospedeiro natural da outra bactéria. Entretanto, ambas as bactérias são capazes de se multiplicarem nos vasos do xilema de ambos hospedeiros. No entanto, o agente causal do RS é experimentalmente transmissível para várias espécies de gramíneas, permanecendo em muitas partes sem sintomas (STEINDL, 1961 e TOKESHI, 1980). Porém, não é conhecido o grupo de hospedeiros do strain do grama seda.

DAVIS et alii (1984) baseados nos estudos realizados em strains da bactéria de várias regiões do mundo, inclusive do Brasil, que causam o RS, em strains causadores do BS e em dados passados, propuseram a criação de um novo gênero, *Clavibacter*, que acomodasse as bactérias corineforme fitopatogênicas contendo o ácido 2,4 - diaminobutírico na camada peptidoglycans da parede celular, incluindo as bactérias do BS e do RS. Sendo proposto pelos autores, o reconhecimento das bactérias do BS e do RS como: *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* sp. nov., subsp. nov., o tipo do strain da espécie e subespécie no qual está o strain da cana-de-açúcar e *Clavibacter xyli* subsp. *cynodontis* subsp. nov., o tipo de strain da subespécie na qual está o strain do grama seda.

Pela revisão da literatura verifica-se que a hipótese de que o agente causal do RS seria uma bactéria corineforme foi confirmada e o seu cultivo em meio artificial não deixa mais dúvidas sobre a sua taxonomia e perfeita identificação.

2.2. Disseminação

O raquitismo da soqueira, por ser uma doença que não causa sintoma externo característico, é facilmente disseminado por tolete, a partir de colmos afetados e por instrumento de corte, por ocasião da colheita, plantio e tratos cul

turais, de um lote para outro ou mesmo dentro do próprio lote (STEINDL e HUGHES, 1953; HUGHES e STEINDL, 1955; TODD, 1960; STEINDL, 1961; GALLI et alii, 1968; MATSUOKA, 1975).

Segundo HUGHES e STEINDL (1955) a transmissão é bastante acentuada quando se faz o plantio mecânico. Porém, não existem dados experimentais publicados na disseminação do RS nos plantios manuais em que as canas são cortadas no interior do sulco.

FORBES et alii (1960) verificaram em trabalhos realizados na Louisiana, U.S.A., que cana-planta com 5,4% de plantas infectadas (var. CP44-101), após colheita mecânica se obteve 15,6% de plantas contaminadas na soca. E que mudas com 5,4% de infecção deram origem a canaviais com 21,2% de plantas doentes. Evidenciaram com isto, a importância deste tipo de disseminação nas sucessivas colheitas e multiplicações. Da dos estes, contestados mais tarde por MATSUOKA (1972), por se rem observações baseadas em sintomas internos na cana e partindo de material tratado termicamente. Afirmou este autor que a avaliação da percentagem de infecção pela diagnose direta na cana não é totalmente segura, pois foi constatado que em lotes obtidos de toletes tratados termicamente, a visualização de sintomas nas canas doentes restantes é muito difícil. Deste modo, a percentagem inicial de infecção de 5,4%, poderia ser maior e explicaria melhor as elevadas percentagens observadas posteriormente, devido a manifestação posterior de sintomas por plantas infectadas desde o início.

Experimentos de transmissão do RS, envolvendo ve tores foram realizados, porém, não foram obtidos resultados conclusivos (MATSUOKA, 1975). No entanto, resultados preliminares de Charpentier e Schexnayder, citados por PEMBERTON e CHARPENTIER (1959), indicam o pulgão *Rhopalosiphum maidis* como possível vetor. Porém, resultados conclusivos sobre a exis tência de insetos vetores dessa doença não existem, devido a inexistência de sintomas externos bem definidos, dificultando em grande parte a realização destas pesquisas.

Outros meios de disseminação são citados, porém sem provas concretas: ratos (WEHLBURG, 1956; ADSUAR, 1962); solo (ADSUAR e LOPEZ - ROSA, 1962); coelho (BOURNE, 1965); ratos; raposas e outros animais roedores (GALLI et alii, 1968).

Segundo MATSUOKA (1975) a transmissão do raqui tismo da soqueira pelos instrumentos de corte se não for o único, é o meio mais eficiente de disseminação da moléstia.

Sendo o agente do RS uma bactéria sistêmica não resta dúvida de que a transmissão mecânica e por mudas conta minadas são eficientes e por isso explicam a facilidade de dispersão do RS em todo o mundo.

2.3. Diagnose da Doença

2.3.1. Fatores que Interferem na Expressão dos Sintomas

Os sintomas externos mais constantes em plantas com RS são: crescimento irregular, plantas raquí ticas, poucos perfilhos, baixa brotação de soqueira e colmos finos. Estes sintomas não são específicos da doença, sendo em consequência, de pouco valor na diagnose. (STEINDL, 1961; GILLASPIE et alii 1966; MATSUOKA, 1971 a).

Segundo HUGHES e STEINDL (1955), STEINDL (1961); CARVALHO (1963) e GILLASPIE et alii (1966) sintomas internos em colmos maduros de cana-de-açúcar como pontuações, vírgulas de cor rosados, amarelos ou avermelhados, aparecem nos feixes vasculares da região nodal, também os nōs imaturos situados logo abaixo do meristema apical podem apresentar internamente uma coloração levemente rōsea, logo apōs o corte. Porém, estes sintomas se confundem com o da escaldadura das folhas (Tō KESHI et alii, 1974).

Os sintomas de nōs maduros são os mais preferi dos, pois as descolorações em nōs imaturos são considerados menos seguros, por serem menos constantes, nem sempre visíveis

e, frequentemente, não ocorrem em colmos imaturos (HUGHES, 1956, 1960).

Segundo HUGHES e STEINDL (1955) o sintoma do RS varia com a idade do colmo e condições climáticas. RICAUD (1974) confirma que além desses fatores, as características varietais e o estado fisiológico da planta, também pode interferir na expressão dos sintomas. THOMPSON (1960) observou que os sintomas do RS foram claramente visíveis, sob condições de estufa, quando não se forneceu água às plantas inoculadas com RS. Sendo estas observações confirmadas mais tarde por STEINDL (1961) e ROSSLER (1974), submetendo variedades de cana aos efeitos do RS a diferentes níveis de irrigação.

HUGHES e STEINDL (1955) citaram que descoloração de feixes vasculares não é uma reação específica do RS, podendo ocorrer em várias doenças, como: Fusariose, Podridão Vermelha, Gomose, Escaldadura das Folhas e Estrias Cloróticas, sendo a descoloração vascular, normalmente, mais constantes nos nós mais maduros da base do colmo estas observações foram confirmadas por TOKESHI et alii (1974).

MATSUOKA (1971, 1972 a) revelou que nos ensaios conduzidos com duas cultivares de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum) e um híbrido de capim elefante em condições favoráveis à maturação precoce, aumentaram a intensidade e a expressão de sintomas de descoloração vascular devido a infecção do RS em capim elefante.

Segundo IRVINE (1975) a expressão sintomatológica em plantas novas infectadas por RS, foi acentuada após a aplicação de fertilizantes nitrogenados e mantidas à sombra e que essa expressão de sintomas típicos do RS, pode indicar concentração do agente da doença.

A revisão da literatura mostra que através da sintomatologia do RS, não é possível avaliar o grau de sanidade das diferentes variedades de cana-de-açúcar.

2.3.2. Reprodução de Sintomas na Diagnose da Doença

Devido a não apresentação de sintomas externo típico para a diagnose do RS, vários trabalhos tem sido relatados procurando solucionar o problema. Os primeiros trabalhos com esta finalidade foram baseados nos sintomas de descoloração vascular, relatados como características da doença (STEINDL, 1950) e confirmado por HUGHES e STEINDL (1955, 1956); ADSUAR e LOPEZ-ROSA (1962).

Diante dessa dificuldade, alguns autores procuraram desenvolver técnicas que permitissem um diagnóstico seguro da doença, pela utilização de plantas indicadoras: HUGHES e STEINDL (1956) testaram *Nicotiana glutinosa*, tomate e beringela; STEIB e FORBES (1957) milho e sorgo halepense; MATSUOKA (1972) *Pennisetum purpureum*, *Echinochloa colonum* e *Panicum maximum*, entre outras; STEINDL e TEAKLE (1974) "bana grass", híbrido de *Pennisetum purpureum* e *P. americanum*. Em testes de patogenicidade, TOKESHI et alii (1974) utilizaram capim elefante, milho doce e algumas variedades de cana-de-açúcar.

Sintomas do RS em híbridos de sorgo x capim sua são bastante acurados e são caracterizados pelo murchamento e morte da planta (BENDA, 1971). Já BECHET (1976) sugeriu uma série de variedades de cana-de-açúcar e um clone de "bana grass" como indicadores, para rápidas diagnoses.

Segundo VALARINI (1978) apesar de todos esses esforços, na procura de uma planta que permitisse uma sintomatologia característica para diagnose segura da doença, a própria cana-de-açúcar ainda é a melhor planta indicadora, embora não apresente sintomas específicos.

SUDO (1980) menciona em seu trabalho que o teste com o capim elefante é inespecífico para a bactéria do RS, reagindo positivamente para diversas bactérias, fungos e leveduras.

Segundo TOKESHI (1980) é possível infectar artificialmente em torno de 14 espécies de gramíneas. Porém, todos esses testes biológicos são falhos por não serem especí-

ficos para a bactéria do RS.

BETTI et alii (1980) confirmam que testes com capim elefante, mesmo apresentando riscas de coloração vermelho alaranjada na região vascular dos nós basais, não é específico para o agente ou agentes causais do RS.

2.3.3. Diagnose através de Testes Químicos e Biológicos

ANTOINE (1957) procurou utilizar a técnica colorimétrica, através do uso de 2, 3, 5 - cloreto trifenil tetrazólico, que em contacto com tecido vivo produz um pigmento vermelho insolúvel, sendo esta alteração mais lenta em tecido sadio do que em tecidos de cana doente. FARRAR (1957), observou que, quando secções longitudinais, retirados da periferia de nós maduros da parte basal de colmos da cana-de-açúcar, eram tratados com peróxido de hidrogênio a 3% combinado com ácido clorídrico hidratado, manifestavam uma coloração vermelho azulado no tecido parenquimatoso vizinho aos feixes vasculares, enquanto em tecidos de cana doente nada ocorria. Porém, HUGHES (1958) utilizou as técnicas descritas acima, chegando a conclusão que nenhum dos testes oferece resultados seguros.

FIFE e STOKES (1959) com métodos de cromatografia, mostraram que a concentração de aminoácidos foi maior em extratos de folhas de cana-de-açúcar com RS, do que em extratos de folhas de plantas sadias. Porém, os autores sugerem a necessidade de novos estudos para avaliar a eficiência do método.

ROTH e WHITEHEAD (1965) trataram a parte periférica do colmo, com uma solução de nitrato de prata e amônia e uma solução a 20% de hidróxido de potássio. A reação consistia numa coloração amarela nos tecidos sadios enquanto nos locais onde os feixes fibrovasculares estavam infectados surgiam estrias avermelhadas de fundo amarelo. Porém, devido a

resultados contraditórios, os autores alegaram a necessidade de maiores estudos.

Os dados disponíveis na literatura mostram que a diagnose por testes químicos e biológicos não tem precisão suficiente para detectar estado sanitário de mudas com baixos níveis de infecção.

2.3.4. Testes Serológicos na Diagnose da Doença

GILLASPIE et alii (1966) realizaram trabalhos de purificação do vírus tido como provável agente causal do RS e tentaram desenvolver um antissoro para este vírus, visando uma possível identificação no laboratório e no campo. Em tentativa de purificação, antissoro foi produzido por GILLASPIE (1971) para dissolver preparações infectivas de plantas doentes e alternativamente, frações de gama-globulina do antissoro produzido de plantas sadias foram separadas e usadas para absorção dos preparados. No entanto, nenhum método obteve sucesso, pois reduziram a infectividade.

Segundo DAMANN et alii (1977) a associação da técnica de serologia e microscopia eletrônica (SSEM) constituiu-se num método efetivo em mostrar uma bactéria característica associada com o RS e concluíram que esta técnica podia ser usada para diagnosticar esta doença com sensibilidade maior do que a técnica de microscopia eletrônica com imersão rápida.

HARRIS e GILLASPIE (1978) utilizaram a técnica de imunofluorescência com antissoro específico para a diagnose da bactéria corineforme na diagnose do RS. Sendo um teste mais sensível que a microscopia de contraste de fase, alegaram que podia ser usado rotineiramente com amostras de caldo bruto, mesmo contendo baixas concentrações da bactéria.

GILLASPIE (1978a) produziu antissoro obtido da bactéria associada com RS em plantas doentes da cana-de-açúcar.

car e um híbrido de capim sudão (*Sorghum vulgare sudanensis*). Observou-se que o antissoro causando um agregado da bactéria remove a infectividade do caldo obtido de cana-de-açúcar ou híbrido do capim sudão infectado pela bactéria. Nenhuma reação serológica foi detectada entre a bactéria associada ao RS e *Corynebacterium flaccunfaciens*, *C. michiganense* ou *C. fascians*, pelos testes de microaglutinação. GILLASPIE (1978b) afirma ainda, que além das observações citadas anteriormente não houve evidências de reação entre a bactéria do RS e *Mycobacterium paratuberculosis*, *M. tuberculosis*, *Erwinia amylovora*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Xanthomonas pruni*, *Streptomyces scabies* e *S. sp.*, pelo teste de microaglutinação.

Baseados no teste ELISA (The Enzyme Linked Immunosorbent Assay), em que a intensidade do desenvolvimento da coloração é diretamente relacionada com o número de bactérias presentes na amostra, GILLASPIE e HARRIS (1978) sugeriram um método de seleção para resistência ao RS em grande escala. O teste ELISA detectou em torno de 4×10^6 células por mililitro ou em torno de três bactérias por campo de microscópio de contraste de fase. Entretanto, GILLASPIE e HARRIS (1979), relataram possíveis limitações do método, como baixa sensibilidade, alta absorção de fundo e resultados inconsistentes.

2.3.5. Diagnose através de Microscopia

Através de exames em microscópio eletrônico e eletromicrografia, vários autores tem observado bactérias nos xilemas de canas infectadas com RS (PLAVSIC - BANJAC e MARAMOROCH, 1972; MARAMOROCH et alii, 1973; TEAKLE et alii, 1973, CHEN et alii, 1975; WORLEY e GILLASPIE, 1975; KAMIUNTEN e WAKIMOTO, 1976).

De acordo com GILLASPIE et alii (1973) e STEINDL (1976) o RS pode ser diagnosticado através do exame de exudados do xilema, empregando-se microscopia de contraste de fase

ou campo escuro, sendo estes métodos mais acessíveis, menos dispendiosos, fáceis e rápidos, do que microscopia eletrônica que, além de requerer equipamentos caros, também requer pessoal treinado (STEINDL, 1976). Além disso a tecnologia envolvida limita severamente o número de amostras a serem examinadas (GILLASPIE, 1978).

Segundo BAILEY (1976) exames de bactérias pela microscopia de contraste de fase, em infusão de tecido contaminado parece ser um meio útil de diagnosticar o RS principalmente em variedades que não apresentam sintomas nodais conspícuos e também para confirmar diagnose baseado em sintomas nodais.

Para GILLASPIE et alii (1976) o número de bactérias existentes no caldo bruto de colmos suscetíveis inoculados com RS era maior que o número de bactérias existentes em caldo bruto de colmos sadios.

RICAUD et alii (1976) revelaram que o organismo associado ao RS é facilmente distinguido das outras bactérias contaminantes, com o emprego de microscopia de campo escuro, devido as suas formas características e sua morfologia comumente filiforme.

O RS pode ser diagnosticado pelo exame de exudados do xilema, pelo uso de microscopia de contraste de fase através da presença de bactéria constantemente associada a doença, observada em toda parte da planta. Entretanto, devido ao baixo número de bactérias observadas em tecidos da parte apical do colmo e em tecidos de colmos jovens, torna-se necessário o uso de secções de colmos maduros, para uma maior segurança na diagnose (BAILEY, 1977).

RICHARDSON (1978) descreveu um método de extração de seiva do xilema do colmo de cana-de-açúcar, usando a pressão positiva, na qual um grande número de bactérias são obtidas sem a necessidade de centrifugação, fazendo os exames diretamente em microscópio de contraste de fase.

KAO e DAMANN (1980a) observaram a presença da

bactéria associada ao RS, em vasos do xilema, através de exames em microscópio eletrônico de varredura.

A revisão da literatura mostrou que a diagnose pela visualização da bactéria do RS requer microscopia ótica ou eletrônica. Os custos são elevados necessitando de pessoal especializado o que o torna inviável para a maioria dos países produtores de cana-de-açúcar. Constata-se, portanto, falta de um método de avaliação de sanidade de mudas mais eficiente e de baixo custo, adequado para países sub-desenvolvidos.

2.4. Controle

O emprego de variedades resistentes, tolerantes ou imunes é prática citada por muitos autores (HUGHES e STEINDL, 1953; STEINDL, 1961, 1974; STEIB e CHILTON, 1968; WISMER e URA TA, 1967 e WISMER, 1971). Porém, estas variedades não eram obtidas em programas dirigidos de melhoramento.

Posteriormente, STEINDL (1974) relatou que o controle do RS com variedades tolerantes, poderia ser desenvolvido desde que se estivesse preparado para conviver com a doença e depender inteiramente desta variedade.

Segundo MATSUOKA (1975) é bem possível que estudando a árvore genealógica da variedade H60-6909, seja encontrado o espécimen do qual foi herdado o caráter de imunidade, sendo provavelmente de valor adicional para posteriores trabalhos de melhoramento visando o controle do RS.

TEAKLE et alii (1975) baseados nas informações de STEINDL (1961) e WISMER (1971) testaram a resistência de variedades à passagem de água em seções de colmos e suspeitaram que a anatomia vascular possivelmente estaria envolvida na resistência ao RS. Diante dos resultados, levantaram a hipótese do movimento de água ser paralelo a resistência ao movimento da bactéria, podendo isto limitar a colonização na planta. Comprovando a hipótese, os autores observaram existir

correlação entre a vazão de água em secção de colmos sadios e a resistência ao RS: variedades imunes apresentaram alta resistência ao movimento de água; variedades resistentes foram moderadamente resistentes a vazão de água; finalmente, variedades susceptíveis apresentaram uma baixa resistência ao movimento de água. Utilizando da mesma metodologia, estudaram a propriedade da tinta nanquim passar através das secções dos colmos, colorindo os vasos funcionais, tendo observado que variedades imunes, com alta resistência ao movimento de água, apresentavam poucos feixes vasculares escurecidos, em comparação às variedades suscetíveis de alto fluxo.

VALARINI (1978) modificando a metodologia de TEAKLE et alii (1975) concluiu existir uma relação entre a diferença da vazão de água em colmos de cana-de-açúcar sadios e doentes e o grau de suscetibilidade. Sugeriu com isto, a possibilidade de se avaliar a suscetibilidade de variedades ao RS, pela determinação da vazão de água. Segundo este autor, esta técnica seria um método rápido, econômico e eficiente na seleção de plantas resistentes ao RS. Esta sugestão foi confirmada por DOUGLAS (1981) e CRUZ (1983).

Segundo VALARINI e TOKESHI (1980) os fatores pressão de vácuo, posição do nó no colmo e período de armazenamento, interferem na avaliação da resistência ao RS, pelo método de vazão de água.

TEAKLE et alii (1978) observaram através de estudos em microscópio que variedades resistentes com baixa taxa de fluxo de água, apresentavam maior número de ramificações nos vasos do metaxilema em comparação com nós de variedades suscetíveis. Segundo STEINDL (1961), substâncias como tilose e gomas são comumente produzidas pela planta em reação ao agente do RS, cujo mecanismo de defesa são possíveis de explicar o bloqueio mais rápido dos pequenos poros das variedades resistentes do que os grandes poros das variedades suscetíveis.

Um método de seleção de variedades tolerantes ao

RS através de microparcelas, comparando o peso de colmos tratados termicamente e inoculados (RS), foi sugerido por MATSUOKA (1980).

DOUGLAS (1981) concluiu que a anatomia vascular não é suficiente, por si só, para explicar o grau de suscetibilidade entre as variedades e que a contagem de bactérias no xilema de variedades suscetíveis e tolerantes, não é um bom critério de avaliação. Apontando como tolerantes as variedades CB45-3, CB47-355, CB49-62, C0775, H69-3775, H60-6909 e IAC52-150 e suscetíveis ao RS, as variedades CB41-76, CB45-155, CB 53-98, IAC 50-134 e NA56-79. As reações dessas variedades foram confirmadas por CRUZ (1983).

Segundo CRUZ (1983) o método de vazão de água em colmos de cana-de-açúcar mostrou ser mais preciso que o método de produção de colmos (kg/parcela) em microparcelas, nas avaliações de níveis de resistência ao RS. Afirma ainda, que através da coloração do xilema é possível visualizar falhas do tratamento térmico no controle do RS.

Os autores que procuraram avaliar o nível de resistência de variedades ao RS levam a um ponto comum, ou seja, que a anatomia e fisiologia vascular estão diretamente relacionada com o nível de resistência ao RS. Medindo-se a eficiência do sistema vascular em transportar água em plantas sadias e doentes, tem-se um retrato do nível de resistência das plantas a esta doença.

2.4.1. Plantio de Material Sadio

O plantio de material sadio e prevenção da disseminação do agente causal são as principais medidas de controle do raquitismo da soqueira (STEINDL e HUGHES, 1953).

Segundo HUGHES e STEINDL (1955), devido a ausência de sintomas externos de fácil identificação, a obtenção de material sadio pela prática do "roguing" não é aplicável.

Portanto, o material sadio deve ser obtido de outras maneiras. Diversos métodos têm sido testados e empregados no mundo todo. Os principais métodos de tratamento de mudas são. a) água quente a 50°C por 2 horas (HUGHES e STEINDL, 1955); b) vapor quente a 53°C por 4 horas (STEIB et alii, 1956) e; c) ar quente a 53°C por 8 horas (HUGHES e STEINDL, 1955).

a) Tratamento com água quente (50°C/2 horas)

HUGHES e STEINDL (1955) foram os pioneiros nos estudos sobre o tratamento curativo de toletes ou colmos inteiros de cana-de-açúcar infectados com RS. Desde então, tal prática tem sido adotada mundialmente, sendo o tratamento de toletes de 3 a 5 gemas a forma mais frequente. No entanto, cana inteira também podem ser tratadas, pois, o comprimento do colmo não tem influência no tratamento, sendo o diâmetro do colmo o fator de maior influência (ANTOINE, 1957 e GALLI et alii, 1968).

Segundo HUGHES e STEINDL (1955) e SCHEXNAYDER - (1956) o controle adequado da temperatura é importante pois o binômio temperatura/tempo recomendado está no limite de tolerância das mudas de cana, acima do qual a germinação será excessivamente baixa ou até nula. Também está no limite mínimo exigido para a inativação do agente causal do RS (HUGHES e STEINDL, 1955; FARRAR, 1957; HUGHES, 1958).

Porém, STEINDL (1961) ao constatar escape de bactérias em mudas tratadas a 50°C por 2 horas, relatou a necessidade de se estender o tempo de tratamento para 3 horas. Entretanto, MATSUOKA (1983, 1984) comparando a produção entre progênies de canas tratadas por duas e três horas a 50°C, realmente não verificou diferenças de produção, embora, tenha havido aumento de produção de 22% em ambos os tratamentos em relação a cana doente, com média de três cortes e de três variedades. Constatou, sim, maiores danos à germinação com o

tratamento no tempo de três horas.

Procurando explicar tal fato, FARRAR (1957) observou que era possível curar canas com RS com tratamento a 49°C por duas horas ou 58°C por uma hora. No entanto, RICAUD (1968) citado por MATSUOKA (1975), determinou que para uma temperatura de 50°C atingir o centro de um tolete de três gemas com 3,9 cm de diâmetro é necessário um tempo de 28 minutos, e de 65 minutos em toletes de 4,5 cm de diâmetro. Portanto, nas condições usuais de toletes de 2,5 a 3,5 cm de diâmetro, o tratamento por 2 horas seria o suficiente para se ter a temperatura de 50°C no centro do tolete pelo mínimo de uma hora requerida. TOKESHI (1980) concluiu que, o comprimento do tolete e diâmetro do colmo, nas condições usuais não interferem na eficiência do tratamento. Existe, portanto, um limite biológico impossível de ser suplantado fisicamente. Acima de 51°C ocorre a morte das gemas da cana e, no limite de tolerância, a cura não é total (MATSUOKA, 1983, 1984).

MATSUOKA (1976) demonstrou o grande efeito benéfico que se obtém quando se realiza o tratamento térmico em canas naturalmente infectadas. Trabalhando com toletes de 4 a 5 gemas, em tanque convencional de 10.000 litros de água, observou que o aumento médio de produção em cana-planta e cana-soca, numa variedade suscetível, a CB49-260, foi de 25 t/ha.

MATSUOKA e AGUILLERA (1981) observaram em experimento com cinco variedades, em média de planta e soca, que o raquitismo da soqueira causou perdas de mais de 20%.

CHU et alii (1959); STEINDL (1961); MATSUOKA (1980); TOKESHI (1980) recomendam que, para se ter em anos sucessivos mudas com sanidade cada vez maior, é necessário que a técnica de formação de viveiros de cana tratada termicamente (50,5 °C/2 horas) seja um processo contínuo. Observações validadas por MATSUOKA (1983, 1984) quando encontrou após cinco multiplicações de material oriundo de tratamento térmico, níveis danosos de infecção com RS.

No Brasil o material sadio é obtido através de

tratamento térmico em água aquecida a 50,5°C por 2 horas. Estas condições são críticas para o sucesso do tratamento, uma vez que temperaturas mais baixas ou menos tempo de exposição não inativam a bactéria e temperaturas mais altas e maior tempo de exposição provocam alta taxa de mortalidade das gemas (TOKESHI, 1980; MATSUOKA, 1983; MASUDA, 1984).

Segundo MATSUOKA (1983, 1984) para a formação de viveiros de mudas de cana-de-açúcar é necessário o tratamento em água aquecida a 50,5°C por 2 horas. Apesar dessa prática realmente proporcionar mudas de boa sanidade, a cura não é completa e que o retorno da doença a níveis danoso poderia estar ocorrendo em tempo relativamente curto. Portanto, o exato conhecimento desse fato torna-se necessário para um correto programa de obtenção de mudas sadias. Concluindo ainda em seu trabalho que: 1) o tratamento térmico em cana doente propicia na recuperação altamente significativa da capacidade produtiva das variedades de cana-de-açúcar; 2) não há compensação no prolongamento do tratamento térmico de duas para três horas; 3) a cura pelo tratamento em água aquecida não é total e absoluta, mesmo tratando mini-toletes; 4) reinfecção que ocorre a partir das plantas com infecção residual, é tal que, após 5 multiplicações, o material já se apresenta com nível de infecção comparável a um material não tratado.

DAMANN e BENDA (1983) trabalhando em casa de vegetação, observaram que a germinação foi melhor quando mudas de cana-de-açúcar era tratada termicamente para controlar o RS, do que não tratada. Concluíram que o tratamento térmico comercial decresce a incidência do RS, porém não elimina completamente.

Segundo CRUZ (1983) através da coloração do sistema vascular de mudas curadas pela termoterapia foi possível detectar em cana planta a ocorrência de plantas contaminadas apesar da ausência total de outros sintomas externos e internos.

Segundo MASUDA (1984) canaviais formados com mu

das não tratadas podem apresentar prejuízos da ordem de 20 a 30%, sem que o produtor perceba. A taxa de mortalidade de gemas varia de variedade para variedade, podendo ser de 40% no caso da NA56-79 ou chegar a 80% ou mais como CB47-355. Menciona também, que a idade da muda influi bastante na taxa de mortalidade das gemas. Mudanças aos 12 meses são as ideais para o tratamento. Mudanças mais novas apresentam alta taxa de mortalidade devido ao calor, enquanto que as mudanças mais velhas, embora resistam mais ao calor, fisiologicamente são menos aptas a germinar.

Segundo MATSUOKA (1984) tratando termicamente a cana inteira das variedades CB41-76; CB49-260 e IAC 52-326, obteve ganhos médios de 13, 24 e 27% em cana-planta, cana-soca e ressoça, respectivamente. Portanto, relata MATSUOKA (1983), que o tratamento térmico independentemente de ser toletes ou canas inteiras propicia mudanças com elevada capacidade produtiva, embora se saiba que a cura nunca é total, qualquer que seja o tamanho do tolete.

HEAGLER e CHAPMAN (1984) estudando o retorno econômico com o investimento do tratamento térmico (50,5°C/2 horas) no controle do RS da cana-de-açúcar na Louisiana, encontraram através da análise estatística uma resposta altamente significativa na produção, associada com o tratamento térmico no controle do RS. Numa análise econômica indicou que o tratamento térmico foi um bom investimento, com ótimos e constantes retornos em dólares, aproximadamente, um retorno de 11,5 dólares por dólar investido.

b) Tratamento com vapor quente (53°C/4 horas)

SRIVASRAVA et alii (1977) desenvolveram a unidade de tratamento a vapor, e observaram que não houve efeito negativo à germinação, quando mudanças foram tratadas a 53°C por 4 horas. Resultados similares foram encontrados por STEIB e

CIFUENTES (1976) tratando mudas em um tempo máximo de 3 a 5 horas.

SHUKLA et alii (1979); ONGAMA (1978) e DHILLON et alii (1983) relataram que o tratamento a vapor a 54°C por 4 horas foi eficiente no controle do RS, proporcionando aumento de germinação e por conseguinte, uma maior produtividade em relação a cana-de-açúcar não tratada.

SAXEN et alii (1981) revelaram que o agente do RS reduz o processo de crescimento metabólico normal das raízes de cana infectada. Porém o tratamento a vapor quente (53°C/4 horas) de colmos infectados com RS teve um efeito benéfico sobre o completo desenvolvimento radicular, quando comparado com plantas doentes. Este efeito foi maior com a aplicação de enxofre após a eliminação do agente causal do RS pelo tratamento térmico.

c) Tratamento com ar quente (58°C/3 horas)

HUGHES e STEINDL (1955) estudando o controle do RS na variedade Q28, em forno fechado, com ar na temperatura de 53°C e 54°C por 3 horas, ou a 50°C por 24 horas, verificaram que a variedade ficava livre da doença. Observaram ainda, que a germinação era bastante satisfatória, mesmo sendo utilizados toletes imaturos. Resultados semelhantes foram relatados por STEIB e CHILTON (1956) e STEIB et alii (1956) quando usaram cana jovem (imatura) em um tratamento com ar quente a 58°C por 8 horas sendo a germinação muito pouco afetada.

Pelos dados da literatura não há dúvida de que até o momento a termoterapia de mudas é o único processo comercial de cura de material infectado e que esta cura é incompleta. A infecção residual nas mudas curadas é difícil de ser detectada devido a inexistência de metodologia simples, eficiente, eficaz e aplicável em larga escala.

2.5. Movimento de Água na Planta em Função da Anatomia Vascular, na Resistência do RS

O movimento de água nas plantas é um processo complexo, que leva a seiva bruta das raízes até as folhas, sendo chamado fluxo transpiratório (SUTCLIFFE, 1980). O movimento ocorre em resposta ao gradiente de potencial de água entre as superfícies transpirantes e a solução do solo, causado principalmente pela transpiração, sendo aumentada pela pressão radicular resultante do acúmulo de solutos no xilema das raízes (VAADIA et alii, 1961; SUTCLIFFE, 1980).

LOUSTALOT (1945) demonstrou que folhas de pecan desempenharam respiração e fotossíntese subnormal, quando a umidade do solo estava entre muito baixo ou muito alto. Mostrou também, um relacionamento entre o grau de declínio de fotossíntese e a severidade dos estresse de umidades. Além disso, constatou um retardamento no restabelecimento que diferiu entre a taxa de fotossíntese de manhã e à tarde.

LUDWING (1952); WAGONER e DIMOND (1954); DIMOND (1955) citaram que a diferença na taxa de vazão entre plantas de tomate sadias e infectadas por *Fusarium* não tem sido explicada pela quantidade de micélio, mas sim pela presença nos vasos de substâncias transparentes semelhantes a goma. SAALTINE e DIMOND (1964) usando solução corante nos experimentos demonstraram que a redução na vazão de água estava correlacionada com o número de vasos em que o transporte é bloqueado.

SCHEFFER e WALKER (1953) avaliaram o bloqueio dos vasos em secções de caules e tomate sadios e atacados por *Fusarium*, pelo movimento de um corante, em condições que favoreciam a transpiração. Os autores observaram que muitos dos vasos ficavam descoloridos e que os pecíolos de folhas murchas permaneciam livres do corante. Quando as folhas estavam murchas apenas de um lado, só o lado turgido ficava colorido. Concluíram com isto que o sintoma de murcha era devido à não condução de água.

HUGHES e STEINDL (1955) observaram que, em comparação com plantas sadias, o RS causa sérios déficit de água durante as horas mais quentes do dia, em solos com baixa umidade. STEINDL (1961) fazendo exames histológicos em secções de feixes vasculares descoloridos de cana-de-açúcar afetadas pelo RS, observou que muitos dos vasos estavam obstruídos com substâncias gomosas.

ASHTON (1956) estudou o efeito da alternância do nível de água no solo na fotossíntese da cana-de-açúcar. Os resultados mostraram que o índice fotossintético declinou com o declínio da umidade do solo, do ponto máximo da capacidade de campo do solo para o ponto de murchamento permanente. Entretanto, a taxa de declínio não foi uniforme e o nível original de fotossíntese foi conservado, até que a falta de água no solo se aproximou do ponto de murchamento.

THOMPSON (1968) observou que o RS, quando combinado com fatores adversos, como seca prolongada, produz efeito desastrosos sobre a cana-de-açúcar. Porém, esses efeitos são frequentemente mascarados, quando as condições de crescimento são boas, com irrigação adequada. Essas observações foram confirmadas mais tarde por ROSSLER (1974) ao descrever os efeitos do RS no rendimento da cana-de-açúcar submetida a três regimes diferentes de irrigação.

VALARINI (1978) observou notórias diferenças de vazão de água em secções de colmos sadios e inoculados com caldo bruto (RS), em duas variedades altamente suscetíveis, e que essa obstrução à passagem de água nos vasos condutores foi devida a alterações nos feixes vasculares, da região nodal do colmo, pela presença física do patógeno ou reação da planta através da emissão de tiloses ou liberação de substâncias gomosas.

VALARINI (1978) e DOUGLAS (1981) observaram que a vazão aumentou após ter chovido, independentemente do tratamento e da época de determinação da vazão. A tensão provocada pela falta prolongada de água no solo e na planta, causava fe

chamento dos estômatos, não ocorrendo a fotossíntese e, em consequência, diminuía o fluxo de água na planta. A respiração também seria diminuída devido a deficiência de oxigênio (SUTCLIFFE, 1980).

TEAKLE et alii (1975) comentaram a possibilidade de a anatomia vascular estar envolvida na resistência ao RS, baseados na hipótese de que a resistência ao movimento de água seria paralela a resistência ao movimento do agente do raquitismo. Concluíram que a anatomia vascular, possivelmente na forma de um pequeno número de vasos contínuos, que passam através dos nós, possa ser um fator de resistência, imunidade e tolerância de clones ao RS.

VALARINI (1978) determinou que, com exceção do diâmetro do colmo, os fatores armazenamento, pressão de vácuo, sentido do colmo, localização do nó no colmo, idade do colmo, distribuição da doença dentro da touceira, colmos injuriados por brocas (*Diatraea spp*) e outras doenças vasculares interferem na avaliação da vazão do colmo. Nas variedades tolerantes a queda de vazão de água entre colmos sadios e inoculados foi pequena em relação às variedades suscetíveis. A variedade NA56-79, que não apresenta sintomas internos apreciáveis, mostrou-se bastante suscetível ao RS, por esse método, levando o autor a concluir que existe correlação entre a diferença de vazão de água em colmos sadios e doentes de cana-de-açúcar e o grau de suscetibilidade ao RS; a vazão de água em colmos é diretamente proporcional ao número de vasos funcionais e, por esse método, é possível avaliar o grau de suscetibilidade das variedades.

KAO e DAMANN (1980) revelaram que a velocidade de transpiração de brotos cortados de cana, são significativamente inferiores nas canas com RS e a pressão nas raízes da cana doente é também significativamente menor que nas canas sadias. Por conseguinte, a enfermidade afeta a habilidade da planta para absorver e transpirar água.

Os resultados dos autores citados na revisão mos

tram que o movimento de água na planta é alterado em plantas com doenças vasculares e que a medida da vazão de água ou números de vasos funcionais permite avaliar melhor os efeitos do RS na intensidade de doença.

2.6. Medidas da Intensidade da Doença pela Observação Visual

O primeiro e mais notável exemplo histórico de um diagrama de escala para medir intensidade de doença de plantas, foi o de Nathan Cobb publicado em 1892, denominado escala de Cobb, para ferrugem de folhas de trigo. Ele apresentou folhas de trigo infectadas, mostrando diagramaticamente cinco graus de variação de ferrugem, com 1, 5, 10, 20 e 50 por cento, respectivamente, de área ocupada pela pústula (CHESTER, 1959; LARGE, 1966; HORSFALL e COWLING, 1978).

LARGE (1966) cita que Melchers e Parker (1922) publicaram uma modificação da escala de Cobb a qual tem sido usada desde 1917 nos Estados Unidos para estimativa de ferrugem em caule de trigo. Escalas representando 5, 10, 25, 40, 65 e 100 por cento de ferrugem no caule, foram então preparadas simplesmente copiando a escala de Cobb para ferrugem de folha, com a adição ou emissão de pequenas pústulas. As duas escalas foram reproduzidas e discutidas por Peterson *et alii* (1948), que desde então mostraram várias séries de escalas apresentando 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 por cento cobertas com pústulas de ferrugem de vários tamanhos.

McKNNEY (1923) demonstrou ser possível estimar as doenças quantitativamente, pelo aspecto visual. Para isso, "seedlings" de trigo infectados por podridão de raízes, foram separados em cinco classes de acordo com o grau de infecção, e a cada "seedling" foi dado um índice numérico. As classes foram descritas como: 0,00 = sem doença; 0,75 = muito leve; 1,00 = leve; 2,00 = moderada e, 3,00 = infecção abundante, sen

do então conhecido como "Índice de McKNNEY", também chamada "Classificação numérica".

Algumas outras escalas de interesse ou de valor histórico como exemplo, foram as de Theon e Stout (1930) para sarna de maçã e de Veestrup et alii (1945) para requeima de folha de milho, ambas reproduzidas por Chester (1950) e Croseall et alii (1952) para sarna de frutos e folhas de maçã; Large e Honey (1955) para sarna comum da batata; Clarke e Corke (1956) para infecção e defoliação da groselha preta, pela mancha das folhas, citados por LARGE (1966).

Segundo LARGE (1966) a variação entre 1 e 100 por cento ilustrados nas escalas de doença, deveria não ser muito ampla, devendo ser claramente distinguível pelo olho humano. Cita ainda, que Horsfall (1945) havia demonstrado que ela não era adequada, fazendo duas importantes considerações em seu sistema de classificação: a) que de acordo com a regra de Weber-Fechner, a variação visual progride em passos logarítmicos e, b) que a classe de variação é muito ampla. Concordando com HORSFALL e BARRATT (1945) que perceberam que a acuidade do olho humano realmente ver tecido doente abaixo de 50% e tecido sadio acima de 50%. Sendo, 50% o ponto médio da escala que deverá ser ilustrado. Deste modo, as classes de variação são: 0-3; 3-6; 6-12; 12-25; 25-50; 50-75; 75-87; 87-94 e 97-100%. Assim sendo, a escala considera os tecidos doentes na unidade logarítmica abaixo de 50%, e tecidos sadios, na mesma unidade, acima de 50% (CHESTER, 1959; LARGE, 1966; HORSFALL e COWLING, 1978).

CHESTER (1959) comenta que um bom meio para medir doença de planta, onde plantas ou órgãos diferem no grau de ataque, é registrar o número de plantas ou órgãos em cada classe de percentagem de doenças como: 0-10%; 10.1-20%; 20.1-30%; 30.1-40%; 40.1-50%; 50.1-60%; 60.1-70%; 70.1-80%; 80.1-90% e 90.1-100% e reduz estas classes para uma simples expressão numérica de intensidade de doença, como: 1.0; 2.0; 3.0; 4.0; 5.0; 6.0; 7.0; 8.0; 9.0 e 10.0, respectivamente.

Ainda, segundo CHESTER (1959) a escala descrita pode ser útil se as classes são realísticas, bem distintas, usáveis na prática, comparáveis com outros operadores, em um ou mais locais ou estações.

Marh et alii (1937), citado por HORSFALL e COWLING (1978) usaram classes de requeima e defoliação de batata, como segue: 0 = sem requeima; 2 = lesões escaças; 4 = lesões de requeima frequentes; 8 = lesões de requeimas abundantes, algumas defoliações e, 10 = defoliação completa.

Observa-se pelos dados da literatura que a avaliação do nível de doença empregando escalas padrões é prática comum para muitas doenças. A falta de uma escala padrão para avaliar o nível de obstrução vascular causado pelo RS foi uma das dificuldades superada pela presente pesquisa.

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1. Variedades

Na padronização de sintomas do RS, na determinação de fatores que interferem na coloração do xilema pelo método do fluxo transpiratório e na comparação dentro de cada método, foram utilizados colmos das variedades CB41-76 e NA56-79 originados de viveiros tratados termicamente (TT) a 50,5°C por 2 horas e de viveiros inoculados com caldo bruto de colmos doentes (RS), sendo o experimento instalado em área do Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz - SP.

Para o teste de aplicação do método de coloração do xilema pelo fluxo transpiratório, no controle de qualidade de viveiros e canaviais comerciais de cana-de-açúcar usou-se canas das variedades IAC51-205 e da NA56-79, retiradas de viveiros tratados termicamente, pertencentes à Estação Experimental de Piracicaba, em Piracicaba, SP; Estação Central do IAA/PLANALSUCAR em Araras, SP e Usina da Barra S/A., Barra Bonita, SP.

3.2. Obtenção do Inóculo e Inoculação

O inóculo utilizado foi obtido a partir de caldo bruto das variedades CB41-76 e CB49-260, inoculados com RS e acrescido de água na proporção 2:1, respectivamente. O mêtodo de inoculação foi o de imersão dos minitoletes na suspensão de inóculos por 15 minutos.

3.3. Soluções Corantes e Diluições

Diferentes soluções corantes foram testadas no desenvolvimento do presente trabalho: Safranina O e Anilina Vermelho 145 na concentração 2,5% em etanol 95%; Vermelho Bordeaux-S (C-2) e tinta nanquim na concentração 2,5% em água destilada; Corante Azul HEINE e Tingecor Vermelho 9 na concentração 2,5% em água aquecida (TUIE, 1969). Todas elas foram diluídas na proporção 1:10, em água destilada.

3.4. Métodos

Na realização do trabalho foram utilizados três mêtodos: 1) Vazão de água (VALARINI, 1978); 2) Vazão de solução corante (VALARINI, 1978 e CRUZ, 1983) e, 3) Coloração do xilema de colmos de cana-de-açúcar pelo fluxo transpiratório.

3.4.1. Método de Vazão de Água em Colmos de Cana-de-Açúcar

A metodologia empregada foi a descrita por TEAKLE et alii (1975), modificado por VALARINI (1978). O aparelho de nominado fluxômetro, utilizado para medir a vazão de água através do colmo de cana-de-açúcar, foi o mesmo usado por VALARINI

(1978), VALARINI e TOKESHI (1920), DOUGLAS (1931) e CRUZ (1983).

A vazão de água foi avaliada em secções de colmos tratados termicamente (TT) e inoculados com caldo bruto (RS) medindo 8 cm de comprimento, compreendendo o 4º ou 5º nō basal, sob uma pressão de vácuo constante de 30 mm de Hg por 15 minutos.

A extremidade superior da secção do colmo foi inserida em uma luva de borracha e encaixada no frasco de vácuo através de um funil metálico. A outra extremidade foi adaptada em uma outra luva de borracha que permanecia constantemente cheia de água destilada, ficando assim a secção do colmo invertido em relação ao colmo na planta, permitindo a passagem de água no mesmo sentido da seiva bruta.

3.4.2. Método de Vazão de Solução Corante

A metodologia empregada neste caso foi a mesma do ítem 3.4.1., apenas substituindo a água destilada por solução aquosa de Safranina O, citada no ítem 3.3.

3.4.2.1. Padronização da Escala de Sintomas do RS, pela Coloração do Xilema

Após a coloração do xilema as secções de colmos foram cortadas transversalmente no anel de cera, próximo a região do nō, para observação visual da variação de disfunção dos vasos, representados pelos espaços não coloridos do nō, sendo então, desenhados em plásticos transparente. A essas variações foram atribuídas notas em uma escala de sintomas variando de 1 a 6 conforme índice de Micknney, MICKNNEY (1923), onde 1 e 6 equivalem a 16,33% e 100% de vasos coloridos, respectivamente. Elaborada a escala de sintomas esta foi fotografada, usando-se uma câmara fotográfica NIKKON AS, com lente

Micro-NIKKON 33 min 1:35, com filme diapositivo Fuji chrome 100 ASA e Fujicolor 100 ASA.

A determinação do índice de contaminação (IC) do RS é dado pelas fórmulas:

$$\text{Percentagens de vasos coloridos (VC)} = \frac{\Sigma \text{ das notas} \times 100}{\text{n}^\circ \text{ de colmos testados} \times 6} \%$$

e,

$$\text{IC} = 100 - \text{VC} \%$$

Para o corte das secções do colmo foi usado o instrumento denominado "guilhotina", que consiste de um facão fixado a duas lâminas de ferro galvanizado (Apêndice 1), sendo que, na região pontilhada, uma lâmina será dobrada para a esquerda e a outra dobrada para a direita e estas presas a um suporte de madeira de 35 x 200 x 800 mm de espessura, largura e comprimento, respectivamente, conforme Apêndice 2.

Para facilitar os 10.000 desenhos de nós coloridos, o plástico transparente foi bobinado em canudos de 50 mm de diâmetro por 650 mm de comprimento, denominados "papiros". Estes "papiros" foram encaixados nas extremidades de um quadro de madeira, em forma de retângulo, com 500 x 400 mm de comprimento e largura, respectivamente, ficando desse modo, o plástico completamente esticado, conforme Apêndice 3.

3.4.2.2. Tempo Mínimo Necessário para Coloração do Xilema, pelo Método de Vazão de Solução Corante

Após a padronização dos sintomas do RS, no tempo de 15 minutos à pressão de vácuo constante de 30 mm de Hg, parcelou-se o tempo em intervalos de 2, 4, 6 e 8 minutos, afim de se determinar o tempo mínimo na coloração do xilema sem que esta diminuição no tempo de coloração interferisse na eficiência do método.

Para cada tempo de coloração foram utilizados 2 secções de colmos de 8 cm de comprimento, compreendendo um único n^o e partes de internódios adjacentes da variedade NA56-79, tanto tratadas termicamente (TT) como inoculadas com caldo bruto (RS), distribuídas ao acaso para os oito bicos do fluxômetro. Cada tratamento foi repetido dez vezes, em um delineamento estatístico fatorial e, os resultados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey, para comparação de médias, conforme esquema estatístico representado no Quadro 1.

3.4.3. Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório

Neste método, a solução corante foi succionada pelo fluxo transpiratório natural do colmo, substituindo a bomba à vácuo. Para isto, colmos inteiros de viveiros formados com cana tratadas termicamente (TT) e colmos de viveiros inoculados com caldo bruto (RS), após novamente cortados no internódio entre os n^{os} 3 e 4 foram introduzidos imediatamente em recipientes (balde plásticos, capacidade 10 litros), contendo 1,5 litros da solução corante, permanecendo em imersão por 60 minutos, sendo amparados por um suporte de madeira com 1200 x 400 x 400 mm de altura, comprimento e largura, respectivamente, conforme Apêndice 4.

Após os 60 minutos, os colmos foram retirados da solução corante, cortados transversalmente no anel de cera, próximo à região do primeiro n^o basal colorido e classificados de acordo com a escala de sintomas, descrita em 3.4.2.1.

3.5. Fatores que Interferem no Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório

A metodologia descrita no item 3.4.3., foi a mes

ma empregada na determinação dos fatores a seguir: altura de recorte do colmo, hora de corte da muda, tempo de cavitação, corantes, tempo de coloração, interferência de broças e umidade do solo.

Os resultados obtidos foram avaliados através da escala de sintomas descrita no item 3.4.2.1. para cada fator estudado. Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey para comparação de médias, nos delineamentos estatísticos fatorial e inteiramente casualizado, conforme Quadros 1 e 2, respectivamente. As notas foram transformadas em percentagens de vasos coloridos e representadas graficamente, na forma de Figuras.

3.5.1. Altura de Recorte do Colmo

Antes dos colmos serem mergulhados no corante, foram novamente cortados para eliminar a cavitação dos vasos. Este corte foi determinado na variedade CB41-76, em dez repetições de colmos cortados no internódio 1 e 2 e dez repetições cortados no internódio 3 e 4. Para cada tratamento, cada repetição foi composta de um colmo TT e um colmo RS.

3.5.2. Hora de Corte da Muda

Dez repetições da variedade CB41-76 sendo cada repetição composta de um colmo TT e um colmo RS, cortados às 8:00; 11:00; 13:30 e 15:30 horas foram utilizadas na determinação da interferência da hora de corte da muda, na coloração do xilema.

3.5.3. Tempo de Cavitação

É o tempo gasto desde o recorte do colmo até a

imersão na solução corante proporcionando a formação de espaço no xilema pela quebra da coluna de água. Para a avaliação do tempo de cavitação, nove colmos TT da variedade NA56-79, correspondendo a nove repetições, foram analisadas nos tempos de 0-5, 30, 60, 90 e 120 segundos. Do mesmo modo, dez colmos TT e RS da variedade CB41-76, correspondendo a dez repetições foram analisados nos tempos de 0-5, 30 e 60 segundos.

3.5.4. Corantes

A eficiência dos corantes descritos no item 3.3 foi avaliada na determinação da percentagem média de vasos coloridos em colmos de cana-de-açúcar. Para cada corante, foram analisados quinze colmos TT da variedade NA56-79, correspondendo a quinze repetições. Igualmente, na variedade CB41-76 foram analisadas dez repetições, sendo cada repetição composta de um colmo TT e um colmo RS.

3.5.5. Tempo de Coloração do Xilema

É o tempo necessário para que o fluxo da corrente transpiratória no colmo succione a solução corante. Para isto, sete repetições da variedade CB41-76, sendo cada repetição composta de um colmo TT e um colmo RS, foram analisados nos tempos de 15, 30, 45 e 60 minutos. Da mesma maneira, na variedade NA56-79 foram analisados nos mesmos tratamentos, nove colmos TT, onde cada colmo correspondeu a uma repetição.

3.5.6. Interferência de Brocas (*Diatraea spp*)

Para a avaliação da interferência da broca (*Dia*traea spp) na coloração do xilema, pelo fluxo transpiratô

rio, colmos da variedade NA56-79 tratadas termicamente (TT), pertencentes a viveiro primário com alta infestação de brocas, foram analisados conforme as amostras a seguir:

- Amostra 1: 66 colmos, sendo 32 apresentando perfurações da broca e 34 sem brocas.
- Amostra 2: 64 colmos, sendo 26 apresentando perfurações da broca e 38 sem brocas.
- Amostra 3: 20 touceiras indexadas, sendo analisado de cada touceira um colmo com e um sem perfurações de brocas.

Os resultados obtidos em cada amostra foram submetidos à análise de variância para comparação de médias em um delineamento estatístico inteiramente casualizado.

3.5.7. Umidade do Solo

Na determinação da influência da umidade do solo na coloração do xilema, lançou-se mão das observações realizadas por ocasião da coleta dos resultados nos métodos de vazão de água, vazão de solução corante e de coloração do xilema pelo fluxo transpiratório, aplicados para se determinar o estado de sanidade de colmo TT e RS e no controle de qualidade de viveiros de cana-de-açúcar. Relacionaram-se os resultados obtidos em cada método com a quantidade de chuva em mm ocorrida no período das avaliações, (Apêndices 5 a 12).

3.6. Avaliação da Eficiência dos Três Métodos na Determinação de Sanidade de Colmos Tratados Termicamente (TT) e Inoculados com Caldo Bruto (RS).

Para os métodos de vazão de água, vazão de solu

ção corante e de coloração do xilema pelo fluxo transpiratório foram empregadas as metodologias descritas nos itens 3.4.1., 3.4.2. e 3.4.3., respectivamente.

Para que houvesse uniformidade do material utilizado nas avaliações, touceiras sadias (TT) e touceiras doentes (RS) foram divididas no mesmo número de colmos, para cada método.

Os resultados obtidos em cada método foram submetidos à análise de variância, para comparação de médias no delineamento estatístico inteiramente casualizado, conforme Quadro 2.

3.6.1. Determinação da Vazão de Água em Colmos Sadios (TT) e Doentes (RS)

As determinações foram feitas medindo-se o volume da solução corante em ml durante 15 minutos, em vinte repetições na variedade CB41-76 e vinte repetições na variedade NA56-79. Cada repetição foi composta de quatro seções de colmos TT e quatro seções de colmos RS, distribuídos ao acaso nos oito bicos do fluxômetro.

3.6.2. Determinação da Porcentagem Média de Vasos Coloridos pelo Método de Vazão de Solução Corante.

A porcentagem média de vasos coloridos foi determinada aproveitando-se do material utilizado no item 3.6.1. Após a determinação da vazão da solução corante, as seções de colmos foram cortados transversalmente próximo a região do nã e avaliados através da escala de sintomas descrita no item 3.4.2.1. Foram avaliadas vinte repetições para cada variedade.

3.6.3. Determinação da Percentagem Média de Vasos Co loridos, pelo Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório.

Foram analisadas vinte repetições na variedade CB41-76 e vinte repetições na variedade NA56-79. Cada repeti
ção foi composta de quatro colmos inteiros TT e quatro colmos
inteiros RS. Após o tempo de coloração de 60 minutos, os col
mos foram cortados transversalmente no primeiro no basal e
avaliados através da escala de sintomas descrita no ítem 3.4.2.1.

3.6.4. Comparação entre os Métodos: Vazão de Solução Corante e de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório, na Determinação de Sanidade e Colmos TT e RS.

Na comparação dos métodos citados, aproveitou-se
dos resultados obtidos nos ítems 3.6.2. e 3.6.3., respectivamente.

3.7. Aplicação do Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório, no Controle de Qualidade do Viveiros e Canaviais Comerciais de Cana-de-Açúcar.

Para aplicação deste método foram realizadas cinco
amostragens, as quais, são descritas a seguir:

- Amostragem 1: 79 colmos da variedade IAC52-150 de viveiro se
cundário, com 13 meses de idade.
- Amostragem 2: 80 colmos da variedade NA56-79 de viveiro se
cundário, com 13 meses de idade.
- Amostragem 3: 128 colmos da variedade NA56-79 de viveiro pri
mário, com 11 meses de idade, solo seco.

- Amostragem 4: 66 colmos da variedade NA56-79 de viveiro primário, com 11 meses de idade, solo úmido.
- Amostragem 5: 225 colmos da variedade NA56-79, campo comercial de 2º corte, com 13 meses de idade.

3.8. Análise Estatística

No quadro 1 e 2 encontram-se os esquemas da análise de variância adotados para os ensaios com esquema fatorial e inteiramente casualizado, respectivamente.

Quadro 1. Esquema da análise de variância adotado para os ensaios com esquema fatorial.

Causa de Variação	G.L.
Primeiro fator (A)	a - 1
Segundo fator (B)	b - 1
Interação A x B	(a - 1) (b - 1)
Resíduo	ab (r - 1)
Total	abr - 1

onde:

a = número de níveis do primeiro fator,
 b = número de níveis do segundo fator;
 r = número de repetições.

Para os casos em que o teste foi significativo, e tendo-se mais de dois tratamentos, a comparação entre as médias dos tratamentos foram feitas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Quadro 2. Esquema da análise de variância adotado para os en
saios realizados no delineamento inteiramente casual
lizado.

Causa da Variação	G.L.
Tratamentos	t-1
Resíduo	p-t
Total	p-1

onde:

t = número de tratamentos

p = número total de parcelas existentes

4. RESULTADOS

Os dados apresentados na forma de Tabelas são destinados a análise de variância e teste de Tukey, para comparação de médias. Com exceção do método de vazão de água, apresentado em volume (ml), os demais, foram obtidos através da escala de sintomas (notas), descrita em 3.4.2.1. Para o fator altura de recorte do colmo a avaliação foi feita no 2º e 4º nō e nos demais testes, somente, no 4º nō, correspondendo ao primeiro nō basal colorido, para cada teste estudado. Estas notas transformadas em percentagem de vasos coloridos, são apresentados graficamente na forma de Figuras.

4.1. Padronização da Escala de Sintomas do RS pela Coloração do Xilema

Na Figura 1 são exemplificadas as variações das disfunções dos vasos do xilema, no nō de colmos de cana-de-açúcar, representados pelas regiões escurecidas, as quais, foram classificadas de acordo com a escala de sintomas descrita em 3.4.2.1.

o = Região apresentando vasos coloridos.
 • = Região apresentando vasos não coloridos
 V-(ml) = Volume de Água

Figura 1. Representação gráfica de nós de colmo (NA56-79); apresentando variações de disfunções dos vasos do xilema, com as respectivas notas e vazão de água pelo fluxômetro.

A Figura 2 apresenta os padrões gráficos do índice de contaminação do RS (disfunção dos vasos do xilema), elaborados de acordo com os resultados da Figura 1.

Superior: esquerda para a direita nota 1, 2 e 3.

Inferior: esquerda para a direita nota 4, 5 e 6.

Figura 2. Escala padrão de sintomas do RS, onde a nota 1 equivale a 16,33% e 6 equivale a 100% de vasos coloridos.

4.2. Tempo Mínimo Necessário na Coloração do Xilema, pelo Método de Vazão de Solução Corante.

A Tabela 1, apresenta as notas médias e respectivas percentagens de vasos coloridos, na região do nódulo de colmos TT e RS.

A análise de variância não acusou diferenças significativas, ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste F, para tempos de coloração. Porém, acusou diferenças significativas,

ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F, para sanidade.

Tabela 1. Notas médias e percentagens de vasos coloridos na variedade NA56-79 tratada termicamente (TT) e inoculada com caldo bruto (RS); julho/84.

Tempos de coloração (minutos)	Notas Médias em 10 Repetições			
	II		RS	
	Notas	Vasos Coloridos (%)	Notas	Vasos Coloridos (%)
2	4,70a	78,33	2,20b	36,67
4	4,70a	78,33	2,70b	45,00
6	5,20a	86,67	2,90b	48,33
8	5,10a	85,00	2,50b	41,67

C.V. = 32,27%

d.m.s. (5%) = 0,54

Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

4.3. Fatores que interferem no Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório.

4.3.1. Altura de recorte do colmo.

As notas médias transformadas em percentagem de vasos coloridos, são apresentados na Figura 3.

A Tabela 2, registra as notas médias e respectivas percentagens de vasos coloridos no 2º e 4º nó, de colmos TT e RS.

A análise de variância apresentou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F, para altura de recorte do colmo e sanidade. Porém, não apresentou diferença significativa, ao nível de 5% de probabilidade, para a interação desses fatores.

Figura 3. Efeito da altura de recorte para eliminação da cavitação, dos vasos, variedade CB41-76, média de 10 repetições de colmos Tratados Termicamente (TT, _____) e inoculados com caldo bruto (RS, -----).

Tabela 2. Notas médias e percentagens de vasos coloridos na variedade CB41-76 tratada termicamente (TT) e inoculada com caldo bruto (RS); setembro/84.

Altura de recorte (nº)	Valores médios em 10 repetições obtidos no 1º nº basal colorido			
	TT		RS	
	Vasos		Vasos	
	Notas	Coloridos (%)	Notas	Coloridos (%)
2º	A4,90a	81,67	A2,10b	35,00
4º	B6,00a	100,00	B3,00b	50,00

C.V. = 18,50%

d.m.s. (5%) = 0,48

Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

4.3.2. Hora de Corte da Muda.

A Figura 4, apresenta as notas médias transformadas em percentagens de vasos coloridos, referente as mudas cortadas às 8:00; 11:00; 13:30 e 15:30 horas.

As notas médias e percentagens de vasos coloridos, de colmos TT e colmos RS, encontram-se na Tabela 3.

A análise de variância acusou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F, para hora de corte da muda e sanidade. No entanto, não houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, para a interação desses fatores.

Figura 4. Efeito da hora de corte para eliminação da cavitação dos vasos, variedades CB41-76, 10 repetições de colmos. Tratados Termicamente (TT, _____) e inoculados com caldo bruto (RS, -----).

Tabela 3. Notas médias e percentagens de vasos coloridos na variedade CB41-76 tratada termicamente (TT) e inoculada com caldo bruto (RS); setembro/84.

Hora de Corte das Mudas	Valores médios de 10 repetições obtidos 19 não basal coloridos			
	TT		RS	
	Nota	Vasos	Nota	Vasos
		Coloridos (%)		Coloridos (%)
8:00	A6,00a	100,00	AB3,00b	50,00
11:00	B4,30a	71,67	B3,60b	60,00
13:30	B4,60a	76,67	B3,70b	61,67
15:30	B4,50a	75,00	A2,40b	40,00

C.V.= 23,19%; d.m.s. (5%)A,B= 0,77; d.m.s. (5%)a,b= 0,41

Letras maiúsculas comparam duas médias de hora de corte dentro de cada sanidade, onde médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Letras minúsculas comparam duas médias de sanidade dentro de cada hora de corte, onde médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

4.3.3. Tempo de Cavitação.

Nas Figuras 5 e 6, são apresentados os resultados médios transformados em percentagem de vasos coloridos nos tempos de cavitação de 0-5, 30, 60, 90 e 120 e 0-5, 30 e 60 segundos, respectivamente.

As Tabelas 4 e 5, apresentam as notas médias e percentagens de vasos coloridos, em colmos das variedades NA56-79 TT e CB41-76 TT e RS, respectivamente.

Figura 5. Percentagem média de vasos coloridos em colmos tratados termicamente (TT) submetidos a tempos de cavitação, média de 9 repetições.

Figura 6. Percentagem média de vasos coloridos em colmos tratados termicamente (TT, —) e inoculados com caldo bruto (RS, ---) da variedade CB41-76, submetidos a tempos de cavitação, (média de 10 repetições).

Para os valores da Tabela 4, a análise de variância indicou F significativo, ao nível de 1% de probabilidade, para tempo de cavitação. A diferença mínima significativa (d.m.s.) ao nível de 5% de probabilidade, foi de 0,47.

Tabela 4. Notas médias e percentagens de vasos coloridos na variedade NA56-79 tratada termicamente (TT); abril/84.

Tempo de Cavitação (segundos)	Valores médios em 9 repetições obtidos no 1º não basal colorido	
	Notas	Vasos Coloridos (%)
0-5	5,80a	96,67
30	3,71b	61,83
60	3,51b	58,50
90	3,02c	50,33
120	2,95c	49,17

C.V. = 9,31%

d.m.s. (5%) = 0,47

Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Para os resultados da Tabela 5, a análise de variância acusou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F, para tempos de cavitação, sanidade e interação entre eles.

Tabela 5. Notas médias e percentagens de vasos coloridos na variedade CB41-76 tratada termicamente (TT) e inoculada com caldo bruto (RS); setembro/84.

Tempos de Cavitação (Segundos)	Notas médias em 10 repetições/tratamento			
	TT		RS	
	Nota	Vasos Coloridos (%)	Nota	Vasos Coloridos (%)
0-5	A 6,00 a	100,00	A 3,10 b	51,67
30	B 5,30 a	88,33	A 2,80 b	46,67
60	C 3,00 a	50,00	A 2,50 b	41,67
C.V. = 22,49;	d.m.s. (5%) A,a,C= 0,65; d.m.s.(5%)a,b= 0,44			

Letras maiúsculas comparam duas médias de tempo de cavitação dentro de cada sanidade, onde médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Letras minúsculas comparam duas médias de sanidade dentro de cada tempo de cavitação, onde médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

4.3.4. Corantes.

As Figuras 7 e 8, apresentam as notas média transformadas em percentagens de vasos coloridos nas variedades NA56-79 e CB41-76, respectivamente. As Figuras 9 e 10 mostram na variedade NA56-79 TT, a frequência de notas, em percentagem, para colmos testados com as soluções corantes saframina 0 e Vermelho 145, respectivamente.

As notas médias e percentagens de vasos coloridos nas variedades NA56-79 TT e CB41-76 TT e RS, são apresentadas nas Tabelas 6 e 7, respectivamente.

Para os resultados da Tabela 6, a análise de variância acusou diferença significativa, ao nível de 1% de pro-

babilidade, pelo teste F, para corante. Os resultados da Tabela 7, não apresentaram diferenças significativas, ao nível de 5% de probabilidade, para corantes, porém, acusaram diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F, para sanidade.

Tabela 6. Notas médias e percentagem de vasos coloridos na variedade NA56-79 tratada termicamente (TT), abril/1984.

Corantes	Notas médias de 15 repetições/tratamento	
	Nota	Vasos Coloridos (%)
Safranina 0	5,50 a	91,67
Vermelho C 2	5,20 a	86,67
Vermelho 145	4,40 b	73,33
C.V. = 17,26%	d.m.s. (5%) = 0,77	

Tratamentos com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Tabela 7. Notas médias e percentagens de vasos coloridos na variedade CB41-76 tratada termicamente (TT) e inoculada com caldo bruto (RS); setembro/84.

Corantes	Valores médios em 10 repetições obtidos no 1º nº basal colorido			
	TT		RS	
	Nota	Vasos Coloridos (%)	Nota	Vasos Coloridos (%)
Safranina 0	5,70a	95,00	2,40b	40,00
Vermelho C 2	5,20a	86,67	2,00b	33,33
Vermelho 145	5,80a	96,67	2,20b	36,67

C.V. = 22,94% d.m.s. (5%) = 0,46

Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Figura 7. Eficiência de corantes avaliados pela % de vasos coloridos na variedade NA56-79 tratada termicamente (TT) média de 15 repetições).

Figura 8. Eficiência de corantes avaliados pela % de vasos coloridos em colmos tratados termicamente (TT, _____) e inoculados com caldo bruto (RS, -----) da variedade CB41-76 (média de 10 repetições).

Figura 9. Eficiência de corantes avaliados pela % de ocorrência de notas na variedade NA56-79 tratada termicamente (TT).

Figura 10. Eficiência de corantes avaliados pela % de ocorrência de notas na variedade NA56-79 tratada termicamente (TT).

4.3.5. Tempo de Coloração do Xilema.

Na Figura 11, são apresentados os resultados médios transformados em percentagens de vasos coloridos, nos tempos de 15, 30, 45 e 60 minutos.

As notas médias e respectivas percentagens de vasos coloridos nas variedades NA56-79 TT e CB41-76 TT e RS, encontram-se nas Tabelas 8 e 9, respectivamente.

As análises de variância acusaram diferenças significativas, ao nível de 1% e 5% de probabilidade, pelo teste F, para tempo de coloração das Tabelas 8 e 9, respectivamente.

Figura 11. Percentagem média de vasos coloridos em colmos tratados termicamente (TT, _____) e inoculados com caldo bruto (RS, -----) da variedade CB41-76 (média de 7 repetições).

Tabela 8. Notas médias e percentagens de vasos coloridos na variedade NA56-79, viveiro secundário, solo seco, abril/84.

Tempos de Coloração (minutos)	Valores médios em 5 colmos/repetição obtidos no 1º n.º basal colorido	
	Nota	Vasos Coloridos (%)
15	2,40 a	40,00
30	4,13 b	68,83
45	4,27 b	71,17
60	4,67 b	77,83

C.V. = 12,66%

d.m.s. (5%) = 0,61

Tratamentos com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Tabela 9. Notas médias e percentagens de vasos coloridos na variedade CB41-76 tratada termicamente (TT) e inoculada com caldo bruto (RS); setembro/84.

Tempos de Coloração (minutos)	Valores médios em 7 repetições obtidos no 1º n.º basal colorido			
	TT		RS	
	Nota	Vasos Coloridos (%)	Nota	Vasos Coloridos (%)
15	A 5,40 a	90,00	A 2,10 b	35,00
30	A 5,90 a	98,33	AB 2,60 b	43,33
45	A 6,00 a	100,00	B 2,90 b	48,33
60	A 5,70 a	95,00	B 2,90 b	48,33

C.V. = 13,16

d.m.s. (5%) A, B = 0,78; d.m.s. (5%) a, b = 0,59

Letras maiúsculas comparam duas médias de tempo de coloração dentro de cada sanidade, onde médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Letras minúsculas comparam duas médias de sanidade dentro de cada tempo de coloração, onde médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

4.3.6. Ataque de Broca (*Diatraea* spp).

As notas médias transformadas em percentagens de vasos coloridos no quarto n^o das amostras descritas em 3.5.7., são apresentados na Figura 12.

As notas médias e respectivas percentagens de vasos coloridos, das amostras descritas em 3.5.7., são apresentados na Tabela 10.

A análise de variância acusou diferenças significativas, pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade, para os resultados da Tabela 10.

Figura 12. Inteferência da broca (*Diatraea spp*) na coloração do xilema avaliada pela percentagem de vasos coloridos na variedade NA56-79 tratada termicamente (TT).

Tabela 10. Interferência da Broca (*Diatraea spp*) na Coloração do xilema, avaliada pela percentagem de vasos coloridos na variedade NA56-79 tratada termicamente (TT).

Brocas	Total de Colmos	Nota	Vasos Coloridos (%)	C.V. (%)	d.m.s. (5%)
AMOSTRA 1					
SEM	34	5,60a	93,33	14,18	0,37
COM	32	4,70b	78,33		
AMOSTRA 2					
SEM	38	5,50a	91,67	12,79	0,34
COM	26	4,65b	77,50		
AMOSTRA 3					
SEM	20	5,60a	93,33	14,37	0,48
COM	20	4,65b	77,50		

Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

4.4. Avaliação da Eficiência dos Três Métodos na Determinação de Sanidade de Colmos Tratados Termicamente (TT) e Inoculados com Caldo Bruto (RS).

4.4.1. Determinação da Vazão de Água em Colmos TT e RS.

As notas médias de vazão de água nas variedades CB41-76 e NA56-79, encontram-se nas Tabelas 11 e 12, respectivamente.

Na Tabela 11, a análise de variância acusou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F, para os resultados do experimento 1 e 5% de probabilidade, para os resultados do experimento 2. No entanto, para os experimentos 1 e 2 da Tabela 12, o teste F foi significativo, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 11. Vazão de água na variedade CB41-76 tratada termicamente (TT) e inoculada com caldo bruto (RS), julho/84.

Média de 4 colmos por repetição e tempo de 15 min. à pressão negativa de 30mm de Hg					
Repetições	Experimento 1		Experimento 2		
	Volume de água em ml		Volume de água em ml		
	TT	RS	TT	RS	RS
1	2,25	1,00	1,50	1,00	1,00
2	2,75	1,00	1,17	1,00	1,00
3	2,00	1,00	1,00	0,75	0,75
4	3,75	1,00	0,87	0,62	0,62
5	4,75	1,87	0,67	0,50	0,50
6	4,75	2,50	1,00	1,25	1,25
7	1,62	0,75	1,25	1,00	1,00
8	1,87	0,50	1,00	0,62	0,62
9	1,12	1,12	1,25	0,62	0,62
10	1,12	0,50	1,50	1,00	1,00
Médias	2,60 a	1,12 b	1,12 a	0,84 b	

CV= 56,99% d.m.s. (5%)= 0,10 CV= 25,51% d.m.s. (5%)= 0,24

Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Tabela 12. Vazão de água na variedade NA56-79 tratada termicamente (TT) e inoculada com caldo bruto (RS), julho/84.

Média de 4 colmos por repetição e tempo de 15 minutos à pressão negativa de 30mm de Hg					
Repetições	Experimento 1		Experimento 2		
	Volume de água em ml		Volume de água em ml		
	TT	RS	TT	TT	RS
1	3,75	1,37	1,75		0,62
2	2,87	1,50	1,87		0,75
3	3,12	1,50	1,37		1,12
4	3,12	2,12	2,00		1,00
5	3,25	0,75	1,37		1,50
6	3,62	1,50	2,75		1,12
7	3,50	1,50	1,50		1,00
8	4,62	0,75	1,12		1,25
9	3,00	1,37	1,12		1,12
10	2,87	1,00	1,62		1,25
Médias	3,37 a	1,34 b	1,65 a		1,07 b

CV= 20,42% d.m.s. (5%)= 0,45 CV= 28,68% d.m.s. (5%)= 0,36

Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

4.4.2. Determinação da Percentagem Média de Vasos Coloridos pelo Método de Vazão de Solução Corante.

As notas médias e respectivas percentagens de vasos coloridos nas variedades CB41-76 e NA56-79, são apresentados nas Tabelas 13 e 14, respectivamente.

A análise de variância acusou valores de F significativos, ao nível de 1% de probabilidade, para os resultados do experimento 2 e ao nível de 5% de probabilidade, para os resultados do experimento 1 da Tabela 13. Porém, para os resultados dos experimentos 1 e 2 da Tabela 14, a análise de variância mostrou F significativo, ao nível de 1% de probabilidade.

Tabela 13. Notas e respectivas percentagens de vasos coloridos obtidos pelo método de vazão de solução corante na variedade CB41-76 tratada termicamente (TT) e inoculada com caldo bruto (RS), julho/84.

Média de 4 colmos por repetição de tempo de 15 min. à pressão negativa de 30mm de Hg										
Repetições	Experimento 1				Experimento 2					
	TT		RS		TT		RS			
	Nota	Vasos Coloridos (%)	Nota	Vasos Coloridos (%)	Nota	Vasos Coloridos (%)	Nota	Vasos Coloridos (%)	Nota	Vasos Coloridos (%)
1	2,75	45,83	2,75	45,83	3,25	54,17	1,25	20,83		
2	4,25	70,83	1,25	20,83	2,75	45,83	2,50	41,67		
3	3,75	62,50	2,50	41,67	1,00	16,67	2,00	33,33		
4	4,50	75,00	2,00	33,33	2,00	33,33	1,50	25,00		
5	3,75	62,50	3,00	50,00	2,25	37,50	1,00	16,67		
6	3,75	62,50	3,25	54,17	2,25	37,50	2,50	41,67		
7	2,50	41,67	1,00	16,67	2,50	41,67	2,25	37,50		
8	2,74	45,83	1,00	16,67	2,00	33,33	1,50	25,00		
9	1,25	20,83	1,50	25,00	2,25	37,50	1,00	16,67		
10	1,75	29,17	1,00	16,67	3,25	54,17	2,75	45,83		
Médias	3,10 a	51,67	1,92 b	32,00	2,35 a	39,17	1,82 a	30,30		

CV= 39,44% d.m.s. (5%)= 0,93 CV= 31,58%

Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Tabela 14. Notas e percentagens de vasos coloridos obtidas pelo método de vazão de solução corante na variedade NA56-79 tratada termicamente (TT) inoculada com caldo bruto (RS), julho/84.

Médias de 4 colmos por repetição, tempo de 15 min. à pressão necessária de 30mm de Hg										
Repetições	Experimento 1					Experimento 2				
	TT		RS			TT		RS		
	Vasos Coloridos (%)		Vasos Coloridos (%)			Vasos Coloridos (%)		Vasos Coloridos (%)		
	Nota	Coloridos (%)	Nota	Coloridos (%)	Nota	Coloridos (%)	Nota	Coloridos (%)	Nota	Coloridos (%)
1	4,75	79,17	3,00	50,00	2,25	37,50	1,75	29,17	1,75	29,17
2	5,25	87,50	2,50	41,67	2,50	41,67	2,25	37,50	2,25	37,50
3	5,00	83,33	2,25	37,50	2,25	37,50	2,00	33,33	2,00	33,33
4	4,25	70,83	3,25	54,17	3,50	58,33	2,25	37,50	2,25	37,50
5	4,50	75,00	1,75	29,17	2,75	45,83	2,25	37,50	2,25	37,50
6	4,75	79,17	2,50	41,67	3,00	50,00	2,00	33,33	2,00	33,33
7	5,75	95,83	2,50	41,67	2,75	45,83	2,50	41,67	2,50	41,67
8	5,75	95,83	2,25	37,50	2,00	33,33	2,25	37,50	2,25	37,50
9	5,25	87,50	2,00	33,33	2,00	33,33	2,00	33,33	2,00	33,33
10	4,00	66,67	2,00	33,33	3,25	54,17	1,75	29,17	1,75	29,17
Médias	4,92 a	82,00	2,40 b	40,00	2,62 a	43,67	2,10 b	35,00	2,10 b	35,00

CV = 14,48% d.m.s. (5%) = 0,50 CV = 16,95% d.m.s. (5%) = 0,38

Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

4.4.3. Determinação da Percentagem Média de Vasos Coloridos, pelo Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório.

As notas e respectivas percentagens de vasos coloridos nas variedades CB41-76 e NA56-79, são apresentados nas Tabelas 15 e 16, respectivamente.

As análises de variância acusaram diferenças significativas ao nível de 1% de probabilidade, pelo teste F, para os resultados encontrados nas Tabelas 15 e 16.

4.4.4. Comparação entre os Métodos: de Vazão de Solução Corante e do Fluxo Transpiratório, na Determinação de Sanidade de Colmos Sadios (TT) e Doentes (RS).

As notas e respectivas percentagens de vasos coloridos nas variedades CB41-76 e NA56-79, para os dois métodos, encontram-se nas Tabelas 17 e 18, 19 e 20, respectivamente.

As análises de variância acusaram diferenças de F significativas, para métodos, sanidade e interação entre eles, para os resultados das Tabelas 17, 18 e 19.

Porém não acusaram diferenças significativas ao nível de 5% de probabilidade, para a interação entre método e sanidade nos resultados da Tabela 20.

Tabela 15. Notas e percentagens de vasos coloridos determinadas pela coloração do xilema plo fluxo transpiratório, na variedade CB41-76 tratada termicamente (TT) e inoculada com caldo bruto (RS), julho/84.

Médias de 4 colmos por repetição no tempo de coloração 60 minutos obtidos no 1º não basal colorido										
Repetições	Experimento 1					Experimento 2				
	TT					TT				
	RS		Vasos Coloridos (%)			RS		Vasos Coloridos (%)		
	Nota	Coloridos (%)	Nota	Coloridos (%)	Vasos Coloridos (%)	Nota	Coloridos (%)	Nota	Coloridos (%)	Vasos Coloridos (%)
1	5,25	87,50	2,00	33,33	4,25	70,83	2,75	45,83		
2	5,75	95,83	3,25	54,17	4,25	70,83	3,25	54,17		
3	5,25	87,50	3,25	54,17	5,50	91,67	1,50	25,00		
4	5,75	95,83	2,00	33,33	5,75	95,83	2,50	41,67		
5	6,00	100,00	2,50	41,67	4,75	79,17	1,25	20,83		
6	4,25	78,83	2,25	37,50	3,75	62,50	2,00	33,33		
7	5,00	83,33	2,75	45,83	5,00	83,33	3,25	54,17		
8	4,75	79,17	1,75	29,17	5,75	95,83	2,50	41,67		
9	5,25	87,50	3,25	54,17	5,25	87,50	2,50	41,67		
10	5,00	83,33	2,25	37,50	6,00	100,00	2,50	41,67		
Média	5,22a	87,00	2,52b	42,00	5,02a	83,67	2,40b	40,00		

C.V. (%)= 14,21 d.m.s. (5%)= 0,51 C.V.= 19,14% d.m.s. (5%)= 0,69

Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Tabela 16. Notas e percentagens de vasos coloridos determinadas pela coloração do xilema pelo fluxo transpiratório, na variedade NA56-79 tratada termicamente (TT) e inoculada com caldo bruto (RS), julho/84.

Médias de 4 colmos por repetição no tempo de coloração 60 minutos obtidos no 1º não basal colorido										
Repetição	Experimento 1					Experimento 2				
	TT		RS			TT		RS		
	Nota	Vasos Coloridos (%)	Nota	Vasos Coloridos (%)	Vasos Coloridos (%)	Nota	Vasos Coloridos (%)	Nota	Vasos Coloridos (%)	Vasos Coloridos (%)
1	6,00	100,00	3,25	54,17	5,50	91,67	3,00	50,00		
2	6,00	100,00	2,50	41,67	5,25	87,50	2,50	41,67		
3	5,25	87,50	3,75	62,50	6,00	100,00	2,75	45,83		
4	4,50	75,00	2,75	45,83	4,50	75,00	3,00	50,00		
5	5,50	91,67	2,00	33,33	5,25	87,50	2,75	45,83		
6	5,75	95,83	2,25	37,50	5,75	95,83	3,25	54,17		
7	5,25	87,50	3,50	58,33	5,50	91,67	2,75	45,83		
8	6,00	100,00	2,50	41,67	6,00	100,00	3,50	58,33		
9	5,25	87,50	3,75	62,50	4,50	75,00	2,50	41,67		
10	5,00	83,33	3,00	50,00	5,75	95,83	2,75	45,83		
Médias	5,45a	90,83	2,92b	48,67	5,40a	90,00	2,87b	47,83		

C.V. = 13,36% d.m.s. (5%) = 0,53 C.V. = 10,63 d.m.s. (5%) = 0,42

Médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Tabela 17. Notas de vasos coloridos obtidos pelos métodos de vazão de solução corante e fluxo transpiratório na variedade CB41-76 tratada termicamente (TT) e inoculada com caldo bruto (RS), julho/84.

Repetições	Médias de 4 colmos por repetição			
	Vazão de solução corante		Fluxo Transpiratório	
	TT	RS	TT	RS
1	3,25	1,25	5,25	2,00
2	2,75	2,50	5,75	3,25
3	1,00	2,00	5,25	3,25
4	2,00	1,50	5,75	2,00
5	2,25	1,00	6,00	2,50
6	2,25	2,50	4,25	2,25
7	2,50	2,25	5,00	2,75
8	2,00	1,50	4,75	1,75
9	2,25	1,00	5,25	3,25
10	3,25	2,75	5,00	2,25
Médias	A 2,35 a	A 1,82 b	B 5,22 a	B 2,52 b

CV= 20,13%

d.m.s. (5%) A,B= 0,39

d.m.s. (5%) a,b= 0,39

Letras maiúsculas comparam duas médias de método dentro de cada sanidade, onde médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Letras minúsculas comparam duas médias de sanidade dentro do mesmo método, onde médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Tabela 18. Notas de vasos coloridos obtidas pelos métodos de vazão de solução corante e fluxo transpiratório na variedade CB41-76 tratada termicamente (TT) e inoculada com caldo bruto (RS), julho/84.

Médias de 4 colmos por repetição				
Repetições	Métodos			
	Vazão de solução corante		Fluxo transpiratório	
	TT	RS	TT	RS
1	2,75	2,75	4,25	2,75
2	4,25	1,25	4,25	3,25
3	3,75	2,50	5,50	1,50
4	4,50	2,00	5,75	2,50
5	3,75	3,00	4,75	1,25
6	2,25	2,50	4,25	2,25
7	2,50	1,00	5,00	3,25
8	2,75	1,00	5,75	2,50
9	1,25	1,50	5,25	2,50
10	1,75	1,00	6,00	2,50
Médias	A 3,10 a	A 1,92 b	B 5,02 a	B 2,40 b

CV= 27,65% d.m.s. (5%) A,B= 0,81 d.m.s. (5%) a,b= 0,81

Letras maiúsculas comparam duas médias de método dentro de cada sanidade, onde médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Letras minúsculas comparam duas médias de sanidade dentro do mesmo método, onde médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Tabela 19. Notas de vasos coloridos obtidas pelos métodos de vazão de solução corante e fluxo transpiratório na variedade NA56-79 tratada termicamente (TT) e inoculada com caldo bruto (RS), julho/84.

Repetições	Médias de 4 colmos por repetição			
	Vazão de solução corante		Fluxo transpiratório	
	Métodos			
	TT	RS	TT	RS
1	2,25	1,75	5,50	3,00
2	2,50	2,25	5,25	2,50
3	2,25	2,00	6,00	2,75
4	3,50	2,25	4,50	3,00
5	2,75	2,25	5,25	2,75
6	3,00	2,00	5,75	3,25
7	2,75	2,50	5,50	2,75
8	2,00	2,25	6,00	3,50
9	2,00	2,00	4,50	2,50
10	3,25	1,75	5,75	2,75
Médias	A 2,62 a	A 2,10 b	B 5,40 a	B 2,87 b

CV= 12,92% d.m.s. (5%) A,B= 0,38 d.m.s. (5%) a,b= 0,38

Letras maiúsculas comparam duas médias de método dentro de cada sanidade, onde médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Letras minúsculas comparam duas médias de sanidade dentro do mesmo método, onde médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Tabela 20. Notas de vasos coloridos obtidas pelos métodos de vazão de solução corante e fluxo transpiratório na variedade NA56-79 tratada termicamente (TT) e inoculadas com caldo bruto (RS), julho/84.

Médias de 4 colmos por repetição				
Repetições	Métodos			
	Vazão de solução corante		Fluxo transpiratório	
	TT	RS	TT	RS
1	4,75	3,00	6,00	3,25
2	5,25	2,50	6,00	2,50
3	5,00	2,25	5,25	3,75
4	4,25	3,25	4,50	2,75
5	4,50	1,75	5,50	2,00
6	4,75	2,50	5,75	2,25
7	5,75	2,50	5,25	3,50
8	5,75	2,25	6,00	2,50
9	5,25	2,00	5,25	3,75
10	4,00	2,00	5,00	3,00
Médias	A 4,92 a	A 2,40 b	B 5,45 a	B 2,92 b

CV= 14,03 d.m.s. (5%) A, B= 0,35

Letras maiúsculas comparam duas médias de método dentro de cada sanidade, onde médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Letras minúsculas comparam duas médias de sanidade dentro do mesmo método, onde médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

4.5. Aplicação do Método de Coloração do Xilema pelo fluxo Transpiratório, no Controle de Qualidade de Viveiros e Canaviviais Comerciais de Cana-de-Açúcar.

Os resultados médios de contaminação do RS, referentes as amostragens no item 3.6., são apresentados nas Figuras 13, 14 e 15, respectivamente.

Figura 13. Índice de contaminação (IC) em viveiro secundário de IAC52-150, 79 colmos testados, outubro/84.

Figura 14. Índice de contaminação (IC) em viveiro secundário de NA56-79, 80 colmos testados, outubro/84.

Figura 15. Índice de contaminação (IC) com raquitismo da soqueira na variedade NA 56-79; a) 120 colmos de viveiro primário; solo seco; b) 66 colmos de viveiro primário, solo úmido e c) 255 colmos sem tratamento térmico, solo úmido.

5. DISCUSSÃO

No presente trabalho as comparações foram sempre efetuadas dentro de uma mesma variedade, comparando-se colmos de viveiros tratados termicamente (TT) e colmos de viveiros inoculados com caldo bruto (RS), ou na determinação do índice de contaminação do RS em viveiros e canaviais comerciais de cana-de-açúcar, não se preocupando em avaliar o comportamento de variedades com relação à resistência ao RS. O objetivo básico foi procurar detectar parâmetros que auxiliem na determinação do índice de contaminação (IC) pelo RS em viveiro e canaviais comerciais, afim de se evitar a disseminação da doença a partir de material não curado pela termoterapia.

5.1. Padronização dos Sintomas do RS pela Coloração do Xilema

Através dos resultados de coloração do xilema exemplificados na Figura 1, onde uma gama de tons coloridos de diferentes colmos de cana-de-açúcar são apresentados graficamente, verifica-se uma variação de tons totalmente sadios, ou seja, com 100% de vasos funcionais coloridos, até totalmente contaminados, isto é, nenhum ou poucos vasos funcionais coloridos. Estas variações são observadas visualmente pela presença

no n^o de regiões escurecidas compreendendo vasos não coloridos. A estas variações foram atribuídas notas de 1 a 6, de acordo com a dimensão e número de regiões escurecidas presentes em cada n^o, conforme descrição no item 3.4.2.2.

Ainda, com relação aos resultados da Figura 1, verifica-se que n^{os} mais sadios, aqueles com maior percentagem de vasos funcionais coloridos, permitem uma maior vazão do que os n^{os} mais contaminados com menor percentagem de vasos funcionais coloridos. Estes resultados vêm corroborar as conclusões obtidas por CRUZ (1983), que afirma ser possível através da coloração do xilema comprovar de forma direta que o tratamento térmico (50,5°C/2 h), não controla totalmente o RS, conseguindo inclusive determinar o índice de contaminação do viveiro.

Os padrões gráficos representando a escala de sintomas do RS, para avaliação do índice de contaminação (IC) de viveiros e canaviais comerciais apresentados na Figura 2 foram elaborados após minuciosas observações dos n^{os} exemplificados na Figura 1 e, adicionalmente, em aproximadamente 10.000 desenhos de n^{os} de colmos TT e RS desenhados em plásticos transparentes, conforme descrito em 3.4.2.1.

5.2. Tempo Mínimo Necessário para a Coloração do Xilema, pelo Método de Vazão de Solução Corante

A análise de variância das notas dos sintomas, mostrados na Tabela 1, não acusou diferenças significativas para os tempos usados para a coloração do xilema. Porém, estas diferenças foram altamente significativas quando se comparou material TT e RS. Os dados evidenciaram ser possível quantificar os sintomas com a utilização do fluxômetro e detectar falhas do tratamento térmico no controle do RS quantificando, assim, a contaminação do viveiro. Um tempo mínimo de 2 minutos é suficiente para a coloração do xilema. Entretanto, como os resultados foram obtidos sem o controle de outros fatores que interfe

rem na coloração do xilema, maiores estudos necessitam serem realizados para a sua confirmação.

5.3. Fatores que Interferem no Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório.

5.3.1. Altura de Recorte do Colmo

Comparando-se as percentagens médias de vasos coloridos em cada nº e o número médio de nºs coloridos nos colmos TT cortados no 2º e 4º nº (Fig. 3) verifica-se o maior número de nºs e vasos coloridos, naqueles cortados no 4º nº. Evidenciando que houve interferência da altura de recorte do colmo, na coloração do xilema pelo método do fluxo transpiratório e que o corte no 4º nº é melhor que o corte no 2º nº.

Resultados semelhantes foram obtidos quando se comparou a percentagem média de vasos e número de nºs coloridos de colmos com RS, cortados no 2º e 4º nº.

Ainda com relação à Figura 3, quando se comparou separadamente colmos TT e RS, recortados no 2º e 4º nº, observou-se que a diferença entre a percentagem média de vasos coloridos dos colmos recortados no 4º nº foi maior do que a diferença encontrada entre os colmos no 2º nº.

Os resultados da análise de variância dos dados apresentados na Tabela 2, indicaram haver diferenças significativas para colmos tratados termicamente, recortados no 2º e 4º nº, diferenças significativas também foram alcançadas quando se comparou colmos TT e RS, recortados 2º e 4º.

5.3.2. Hora de Corte da Muda

Os resultados da Figura 4 mostraram que houve diferenças significativas entre a percentagem média de vasos co-

loridos para colmos cortados às 8:00 horas, em relação aos colmos cortados nos demais horários. Observa-se ainda que a diminuição da diferença de percentagem média de vasos coloridos em cada no, para os colmos cortados às 11:00: 13:30 e 15:30 horas, se deu principalmente devido à diminuição de coloração nos colmos TT, evidenciando que a hora de corte da muda interfiriu no fluxo transpiratório. Com relação a colmos com RS, as percentagens de vasos coloridos foram praticamente iguais, exceto para os colmos cortados às 15:30 horas, que apresentaram uma percentagem média de vasos coloridos inferior aos demais horários.

Os resultados da Tabela 3 confirmaram a interferência da hora de corte da muda no fluxo transpiratório, indicando haver diferenças significativas, tanto dentro de sanidade, quanto entre sanidade. Demonstram, ainda, que a nota média obtida nos colmos TT cortados às 8:00 horas foi superior às médias obtidas nos colmos cortados nos demais horários, evidenciando, para as condições do experimento, que colmos TT cortados às 8:00 horas sofreram menos interferência do que os colmos cortados nos demais horários.

Na literatura consultada não foi encontrada nenhuma referência de que a hora de corte da muda interfere na coloração do xilema pelo fluxo transpiratório. Porém, resultados semelhantes foram citados por ALEXANDER (1973) sobre a variação fotossintética com relação à intensidade de luz, em experimento de cana-de-açúcar em solo de baixa umidade, porém, a atividade fotossintética mostrou-se constante por todo o dia, quando o solo se apresentava na capacidade de campo. SUTCLIFFE (1980) revela que a maioria das plantas está sujeita a uma deficiência de água durante o dia, seguida de uma recuperação a noite.

5.3.3. Tempo de Cavitação

Os resultados apresentados na Figura 5 mostram

que a partir do tempo de 30 segundos houve alteração no fluxo transpiratório, confirmando a hipótese de que o tempo de cavitação interfere no método de coloração do xilema.

Confirmam o exposto acima, os resultados da Tabela 4 que mostrou diferenças significativas entre o tempo de 0-5 segundos e os demais tempos de cavitação. Essas diferenças são melhor evidenciadas quando se compara os resultados da Figura 6, onde a diferença da percentagem média de vasos coloridos entre colmos TT e RS foi maior no tempo de 0-5 segundos. Com o tempo de cavitação de 30 segundos esta diferença diminui para praticamente se anular com o tempo de cavitação de 60 segundos. Observa-se ainda, que o efeito de cavitação foi mais acentuado em colmos TT do que em colmos RS, evidenciando, mais ainda, a interferência do tempo de cavitação na coloração do xilema pelo fluxo transpiratório. Corroborou essas observações a análise de variância dos dados (Tabela 5) os quais acusaram haver diferenças significativas para tempo de cavitação, para sanidade e para interação entre eles.

5.3.4. Corantes

Os resultados apresentados na Figura 7 mostraram que a safranina O, coloriu maior percentagem de vasos e nós, seguida pelo vermelho C 2 e, por fim, com média bem inferior coloca-se a anilina vermelho 145. Dos corantes testados no desenvolvimento do trabalho apenas aqueles apresentados na Figura 7, originaram resultados que merecem discussão.

Entretanto, quando se estudou os três corantes em colmos TT e RS conforme os ilustrados na Figura 8, o corante anilina vermelho 145 apresentou maior percentagem de vasos coloridos, para os primeiros nós de colmos TT e, também, maior diferença de vasos coloridos entre colmos TT e RS. Porém, essa diferença diminuiu drasticamente nos nós subsequentes, tanto para anilina vermelho 145 quanto para o vermelho C 2, não aconte

cendo o mesmo com a safranina 0, que se manteve mais constante. Esses resultados, submetidos à análise de variância (Tabela 6) acusaram diferenças significantes para corantes. No entanto, o teste de Tukey demonstrou que esta diferença ocorreu entre a anilina vermelho 145 e os demais corantes, mas não entre safranina 0 e o vermelho C 2.

Apesar da análise estatística não ter acusado diferenças significativas entre os 2 corantes, com relação a percentagem de vasos coloridos, pode-se tecer alguns comentários sobre a eficiência de cada corante. O corante anilina vermelho 145, como visto nas Figuras 7 e 8, apresentou inconsistência, ora com maior, ora com menor percentagem de vasos coloridos, porém, quando coloridos, os vasos foram facilmente distinguidos dos demais tecidos do no. O corante vermelho C 2, apesar de apresentar-se constante nos dois experimentos estudados, conseguindo inclusive o mesmo percentual médio de 86,67% de vasos coloridos nas duas condições, mostrou-se impróprio por se difundir pelos tecidos adjacentes aos feixes vasculares, tornando difícil a distinção dos vasos coloridos dos demais tecidos do no. A safranina 0 foi o único produto que se manteve estável nos testes, não colorindo tecidos fora dos feixes vasculares.

Os resultados apresentados nas Figuras 9 e 10, evidenciam ainda mais a inconsistência da anilina vermelho 145 com relação à safranina 0. Enquanto com a safranina 0 se obteve os índices de contaminação de 12, 20 e 50%, com a anilina vermelho 145 obteve-se 40, 56 e 70%, respectivamente. Esta instabilidade no comportamento da anilina vermelho 145, torna o uso do produto inviável. No entanto, maiores estudos devem ser realizados com a anilina vermelho 145 por ser um produto barato e de fácil aquisição, o que tornaria o método ainda mais viável.

5.3.5. Tempo de Coloração do Xilema

Comparando-se os resultados para colmos TT apre

sentados na Figura 11, verificou-se que apenas o tempo de 15 minutos demonstrou ser insuficiente para a translocação do corante através do xilema, apresentando um menor número de nós e vasos coloridos em relação aos tempos de 30, 45 e 60 minutos, que se mostraram igualmente suficiente na coloração do xilema. Com relação a colmos RS, verificou-se o mesmo fato ocorrido para colmos TT. No entanto, quando se comparou os resultados de colmos TT e RS, observou-se diferenças significativas para todos os tempos de coloração.

Evidenciando ainda mais a interferência do tempo de coloração na translocação do corante através do xilema, os resultados das Tabelas 8 e 9, apresentaram para colmos TT valores de F, significativas ao nível de 1% e 5% de probabilidade, para tempo de coloração. No entanto, através do teste de Tukey (5%) apenas o tempo de 15 minutos diferiu estatisticamente dos demais tempos de coloração, que não diferiram entre si. Do mesmo modo, quando se comparou os resultados de colmos TT e RS da Tabela 9, as diferenças foram altamente significativas, inclusive para o tempo de coloração de 15 minutos.

5.3.6. Ataque de Broca (*Diatraea spp*)

A broca (*Diatraea spp*) interfiriu no método de coloração do xilema pela corrente transpiratória, como ficou demonstrada na Figura 12, onde colmos livres de broca apresentaram maior número de vasos funcionais do que colmos brocados. No entanto, esta interferência só foi verificada em colmos onde havia perfuração da broca na região do 4º nó ou no internódio imediato acima do internódio avaliado. Não se observou interferência quando estas perfurações se deram nos internódios mais afastados do 4º nó. Estes resultados foram confirmados pela análise de variância da Tabela 10, que acusou F significativo, ao nível de 1% de probabilidade.

Resultados semelhantes foram encontrados por BULL,

et alii (1972) trabalhando com colmo de cana-de-açúcar, onde fizeram corte rompendo o xilema em diferentes posições e fazem do passar solução corante (eosina). POSTLEWAITE e ROGERS (1958) injetando isótopo p^{32} no xilema de pinheiro, observaram que o isótopo p^{32} movia-se lateralmente quando eram feitos cortes profundos no tronco, logo acima do ponto de injeção. SUTCLIFFE (1980) demonstrou que o suprimento de água para as partes superiores em árvores não foi necessariamente paralisado, mesmo com cortes sobrepostos. Estes dados mostram a eficiência da difusão da água de feixes vasculares obstruídos para outros feixes sadios.

5.3.7. Umidade do Solo

Embora, o presente estudo não tenha sido dirigido, com o intuito de se avaliar o efeito da umidade do solo, interferindo no método de coloração do xilema pela corrente transpiratória, foi possível pelos resultados obtidos e literaturas consultadas, observações que a colocaram como um fator de extrema importância na precisão dos resultados.

Os trabalhos de LOUSTALOT (1945) demonstraram que folhas de pecan mostraram respiração e fotossíntese subnormal quando a umidade do solo estava muito baixa ou muito alta, relacionando o grau de declínio de fotossíntese e a falta de água, com a queda na taxa de respiração e fotossíntese. ASHTON (1956) estudando o efeito da umidade do solo na fotossíntese da cana-de-açúcar, constatou que a fotossíntese era máxima na capacidade de campo do solo e mínima no ponto de murchamento permanente. SUTCLIFFE (1980) mencionou que o movimento de água no xilema se dá em resposta ao potencial de água entre as superfícies transpirante e a solução do solo, causada principalmente pela transpiração e que esse movimento diminui com a queda do potencial de água do solo, ocorrendo o fechamento dos estômatos e cessando as atividades de fotossíntese.

VALARINI (1978) e DOUGLAS (1981) observaram au-

mento da vazão de água em secções de colmos de cana-de-açúcar, após ter chovido, independentemente de tratamento e época da determinação da vazão.

No presente trabalho, pelos dados colhidos em julho de 1984 (Tabela 11 e 12), mês este que foi precedido por um longo período de estiagem como pode ser observado nos dados meteorológicos apresentados no anexo 8 verificou-se que houve uma vazão bastante inferior quando comparadas às encontradas por VALARINI (1978), DOUGLAS (1981) e CRUZ (1983), em período normal de chuva. Resultados semelhantes foram encontrados quando se comparou as percentagens médias de vasos coloridos obtidas em julho de 1984, com as percentagens de vasos coloridos obtidos em setembro. Como a metodologia e o material testado foram os mesmos, os resultados podem ser atribuídos em grande parte a umidade do solo diferentes nas duas determinações.

5.4. Avaliação da Eficiência dos Três Métodos na Determinação de Sanidade de Colmos Tratados Termicamente (TT) e Inoculados com Caldo Bruto (RS)

5.4.1. Método de Vazão de Água

De acordo com os resultados (Tabelas 11 e 12), observa-se que a vazão média dos colmos TT foi sempre maior que em colmos RS, confirmando resultados obtidos por VALARINI (1978), DOUGLAS (1981) e CRUZ (1983), embora, a vazão média ora em discussão fosse inferior àquelas encontradas pelos autores citados.

O método de vazão de água com auxílio de fluxômetro determinou diferenças significativas entre a vazão média em colmos TT e RS, mas não se mostrou suficientemente eficiente e eficaz para quantificar sintomas do RS em colmos de cana-de-açúcar. Os resultados encontrados por VALARINI (1978), DOUGLAS (1981) e CRUZ (1983), demonstraram existir grandes variações na

vazão média, tanto em colmos TT quanto em colmos RS, ficando, deste modo, difícil se precisar o grau de contaminação do material testado, mesmo se comparando material TT e RS. Porém, estes resultados não são suficientes para por em risco a eficiência do método, na avaliação da resistência de variedades ao RS, determinada por VALARINI (1978). DOUGLAS (1981) e CRUZ (1983).

5.4.2. Método de Vazão de Solução Corante

Os resultados de vazão das Tabelas 13 e 14 confirmam as observações de VALARINI (1978) e CRUZ (1983), que encontraram correlações positivas entre o número de vasos coloridos e a vazão de água em colmos de cana-de-açúcar. Entretanto a baixa percentagem de vasos coloridos apresentados pelos resultados no presente trabalho, evidenciam a imprecisão do método na avaliação do índice de contaminação do RS, através da coloração do xilema. Preocupação esta, colocada por VALARINI (1978).

Mesmo tendo os resultados (Tabelas 13, experimento 1 e Tabela 14, experimentos 1 e 2) apresentados baixas percentagens de vasos coloridos, determinados através da escala de sintomas, houve diferenças altamente significativas entre colmos TT e RS. Porém, para os resultados da Tabela 13, experimento 2, a análise de variância não acusou diferenças de F significativas, ao nível de 5% de probabilidade, para colmos TT e RS.

Devido as condições de seca em que se encontrava o experimento por ocasião da colheita dos dados e, como já foi mencionado por muitos trabalhos que a umidade do solo interfere na vazão de água no colmo, apenas estes resultados não invalidam o uso do fluxômetro na coloração do xilema, para quantificar os sintomas do RS, em viveiros de cana-de-açúcar. Porém de acordo com CRUZ (1983), mais estudos bem como outros métodos devem ser utilizados.

5.4.3. Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório.

As tabelas 15 e 16 apresentam as notas médias de terminados pela escala de sintomas e respectivas percentagens de vasos coloridos onde mostram, através das análises de variância, valores de F altamente significativos, evidenciando diferenças estatísticas entre colmos TT e RS.

Ainda, com relação aos resultados das Tabelas 15 e 16, observa-se que houve regularidade nos resultados, tanto dentro de colmos TT, quanto dentro de colmos RS. Resultados estes, que comparados com os dos dois métodos anteriormente discutidos, revelam através dos coeficientes de variação, uma maior precisão na determinação de sanidade entre colmos TT e RS.

5.4.4. Comparação entre os Métodos: Vazão de Solução Corante e do Fluxo Transpiratório na Coloração do Xilema.

Observa-se nas Tabelas 17 a 20, uma maior percentagem média de vasos coloridos para os colmos TT avaliados pelo método de coloração do xilema pelo fluxo transpiratório, existindo também maior diferenças de percentagens de vasos coloridos entre colmos TT e RS, em comparação com o método vazão de solução corante. Sendo as mudas utilizadas nos dois métodos oriundas do mesmo experimento, fica evidenciado uma maior eficiência na avaliação de falhas na termoterapia de mudas contra o RS para o método de coloração do xilema pelo fluxo transpiratório.

5.5. Aplicação do Método de Coloração do Xilema pelo Fluxo Transpiratório, no Controle de Qualidade de Viveiros e Canaviais Comerciais de Cana-de-Açúcar.

Os resultados (Figuras 13 a 15) demonstram ser possível medir o nível de contaminação de mudas usando-se a escala de sintomas para o controle da disseminação RS, em viveiros de cana-de-açúcar. Estes resultados confirmam a hipótese formulada por CRUZ (1983) de que pela coloração vascular pode detectar a contaminação de mudas.

Os resultados apresentados (Figuras 13, 14 e 15b) confirmam observações de HUGHES e STEINDL (1955); STEINDL (1961); HUGHES et alii (1964); LOPES-ROSA E ADSUAR (1970), TOKESHI (1978); MATSUOKA (1972, 1983, 1984) e MASUDA (1984); que o tratamento térmico (50,5°C/2 horas), não assegura cura total do material tratado.

Com relação a Figura 15a e b, os resultados comprovam a interferência exercida pela umidade do solo no movimento de água no colmo, visto que material do mesmo viveiro, quando analisado após ter chovido, apresentou menor índice de contaminação do que quando analisado antes da chuva, com o solo seco.

As percentagens de colmos com diferentes índices de contaminação (Figura 15b e c) determinadas através do método de coloração do xilema pelo fluxo transpiratório evidenciam ainda mais, a eficiência do método no controle da disseminação do RS, dentro de viveiro e canaviais comerciais de cana-de-açúcar. Outro argumento essencial que viabiliza a utilização do método, no controle da qualidade de viveiro e canaviais comerciais, está em não ser necessário a comparação com material com RS, para se avaliar o estado de sanidade da variedade em questão.

Ante a eficiência e maior precisão apresentado pelo método de coloração do xilema pelo fluxo transpiratório, tudo indica que este método é mais preciso na avaliação de resistência de variedades ao RS que os métodos de vazão de água e microparcelas descritos por VALARINI e TOKESHI (1980) e MATSUOKA (1980).

6. CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos nas condições do presente trabalho, as seguintes conclusões podem ser inferidas:

a) O método de coloração do xilema pelo fluxo transpiratório, mostra ser eficiente no controle de qualidade de viveiros de cana-de-açúcar, permitindo quantificar a contaminação do RS em viveiros e canaviais comerciais.

b) O método de coloração do xilema pelo fluxo transpiratório, mostra ser mais preciso do que o de vazão de água e vazão de solução corante, na determinação de diferenças entre colmos sadios e com raquitismo da soqueira.

c) Existe correlação positiva entre a vazão de água e a percentagem de vasos coloridos em colmos tratados termicamente (TT) e inoculados (RS).

d) Os fatores altura de recorte do colmo, hora de corte do colmo, tempos de cavitação, corantes, tempo de coloração, ataque de brocas e umidade do solo interferem na precisão do método de coloração.

e) A associação do método proposto com as técnicas

de isolamento da bactéria causadora do RS permitirá detectar a presença deste organismo em plantações com baixos níveis de contaminação.

f) Com a aplicação do método proposto os custos de controle de qualidade de viveiros serão mínimos e aplicáveis em países com baixo nível tecnológico.

g) A precisão do método desenvolvido permite prever a sua aplicação na seleção de variedades resistentes ao RS, com índices de eficiência e eficácia maior que o de vazão de água.

h) Com o uso do método proposto não será necessário a comparação entre material sadio (TT) e material doente (RS), para se avaliar a sanidade de viveiros.

i) Através da coloração do xilema, foi elaborada uma escala de sintomas do RS, conforme Figura 2.

7. LITERATURA CITADA

ADSUAR, J., 1962. Failure rates to transmit the causal agent of the sugarcane ratoon stunting disease. Journal of Agriculture of University of Puerto Rico. Rio Piedras, 46:239-240.

ADSUAR, J. e J.H. LOPEZ-ROSA, 1962. Failure to transmit the causal agent of ratoon stunting disease of sugarcane through the soil. Journal of Agriculture of University of Puerto Rico. Rio Piedras, 46:87-90.

ANTOINE, R., 1957. A histo-chemical test for diagnosing ratoon stunting disease of sugarcane. In: 3 Congrès de la P.I.O.S.A., Tananarine, p. 155-160.

ASHTON, F.M., 1956. Effects of a series of cycles of alternating low and high soil water contents on the rate of apparent photosynthesis in sugarcane. Plant Physiology. Rockville, 31:266-273.

BAILEY, R.A., 1976. Some observations on the bacterium associated with ratoon stunting disease of sugarcane. In: Proceedings of the 50 annual Congress - South African Sugar Technologists' Association - Durban, p.60-64.

- BAILEY, R.A., 1977. The systemic distribution and relative occurrence of bacteria in sugarcane varieties affected by ratoon stunting disease. In: Proceedings of the 51 Annual Congress - South African Sugar Technologists' Association, Durban, p.55-56.
- BECHEI, G.R., 1976. Ratoon stunting disease and rapid diagnostic techniques. In: Proceedings of the 50 Annual Congress - South African Sugar Technologists' Association, Durban, 4p. (paper).
- BENDA, G.T.A. 1971. Wilting and death in the ratoon stunting of sudanglass hybrid uprighets. In: AMER. SOU. SUGAR CANE TECHNOL. Proceedings. p.39-47.
- BERTELLI, L.G., 1985. Perspectivas do proálcool. São Paulo. 16p. (Palestra proferida no IAA/PLANALSUCAR. SUPER, Piracicaba, em 08/03/85).
- BETTI, J.A., A.S. COSTA, O. PARADELA FILHO, J. SOAVE e S. MATSUOKA 1980. Descoloração vascular na região dos nós em cana-de-elefante causada por várias espécies de bactérias. Fitopatologia Brasília, 5:139-147.
- BOURNE, B.A., 1965. The failure of a species of rabbit to transmit the ratoon stunting virus of sugarcane. In: Proceedings of the XII Congress International Society of Sugar Cane Technologists', Réduit, p.1071-1077.
- CARVALHO, P.C.T., 1963. As viroses da cana-de-açúcar. In: E-SALQ/Departamento de Fitopatologia e Entomologia, Piracicaba. Pragas e Doenças da Cana-de-Açúcar. Piracicaba, p.75-90.
- CHEN, C.T., S.M. LEE e M.J. CHEN, 1975. Small coryneform bacteria in ratoon stunted sugarcane. Sugarcane pathologists'

Newsletter. Sydney, (13/14): 6-8.

- CHEN, C.T., M.J. CHEN e S.M. LEE, 1978. Studies on sugarcane ratoon stunting disease in Taiwan. I Phase - Contrast and electron microscopy of the small coryneform bacteria in the diseased sugarcane. Report of the Taiwan Sugar Research Institute. Taiwan, 80: 13-20.
- CHESTER, K.S., 1959. How sick is the plant? In: HORSFALL J. C. e A.E. DIMOND. Plant Pathology; an advanced treatise. New York, Academic Press, V.1: p.99-142.
- CHU, H.T., K.C. LING e S.M. LEE, 1959. Ratoon stunting disease control in Taiwan. In: Proceedings of the X Congress International Society of Sugar Cane Technologists', Honolulu, p.1072-1077.
- COLLINS, M.D. e D. JONES, 1980. Lipides in the classification and identification of coryneform bacteria containing peptidoglycans base on 2, 4 - diaminobutyric acid. Journal of Applied Bacteriology 48: 459-470.
- COLLINS, M.D., D. JONES e R.M. KROPENSTEDT, 1981. Reclassification of *Corynebacterium ilicis* (Marchel Guba and Litsky) in the genus *Arthrobacter*, as *Arthrobacter ilicis* comb. Nov Zentralbl. Bakteriologie. Parasitenkunde. Infektionskrankheiten. Hef 2: 318-323.
- COLLINS, M.D., 1983. Cell wall peptidoglycan and lipid composition of the phytopathogen *Corynebacterium rathayi* (Smith). Syst. Appl. Microbiol. 4: 193-198.
- CRUZ, M.M., 1983. Avaliação de Resistência ao raquitismo das quebra pela vazão de água em colmos de cana-de-açúcar e a interferência da escaldadura das folhas no método. Piracicaba ESALQ/USP, 51p (Dissertação de Mestrado).

- CRUZ, M.M.; BRILHO, F.F.C.; TOKESHI, H. 1985. Principais doenças da cana-de-açúcar no Estado de Alagoas. Agroquímica CIBA GEIGY, (25): 128.
- DAMANN JR., K.E. e K.S. DERRICH, 1976. Bacterium associated with ratoon stunting disease in Louisiana. Sugarcane Pathologists' Newsletter. Aiea, (15/16): 20-22.
- DAMANN, JR., K.E., K.S. DERRICH, A.G. GILLASPIE JR., B.F. FONTENOT e J. KAO, 1977. Detection of the RSD-Associated bacterium by serologically specific electron microscopy. In: Proceedings of the XVIII Congress - International Society of Sugar Cane Technologists, São Paulo, p.433-437.
- DAMANN JR., K.E. e G.T.A. BENDA, 1983. Evaluation of commercial heat - treatment methods for control of ratoon stunting disease of sugarcane. Plant Disease. St. Paul, 67:966-967.
- DAVIS, M.J., A.G. GILLASPIE, JR., R.W. HARRIS e R.H. LAWSON, 1980. Ratoon stunting disease of sugarcane; isolation of the causal bacterium. Science. Washington, 210: 1364-1367.
- DAVIS, M.J., R.H. LAWSON, A.G. GILLASPIE JR. e R.W. HARRIS, 1983. Properties and relationships of two xylem-limited bacteria and a mycoplasma-like organism infecting Bermudagrass. Phytopathology. Lancaster, 73: 341-346.
- DAVIS, M.J., A.G. GILLASPIE JR. A.K. VIDAVER e R.W. HARRIS. 1984. *Clavibacter*; a New Genus Containing Some Phytopathogenic Coryneform Bacteria, Including *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* sp. nov., subsp. nov. and *clavibacter xybi* subsp. *cynodontis* subsp. nov., Pathogens that cause Ratoon Stunting Disease of Sugarcane and Bermudagrass Stunting Disease. International Journal of Systematic Bacteriology. Lancaster, 34 (2): 107-117.

- DHILLON, P.S., R.S. KANWAR e J.S. BEDI, 1983. Effects of moist hot air treatment on the control of GSD and productivity of sugarcane. The Indian Sugar Crops Journal. Sahibabad, 9 (2): 3-6.
- DIMOND, A.E., 1955. Pathogenesis in the wilt diseases. Annual Review of Plant Physiology. Palo Alto, 6: 329-350.
- DODSON, A.K., 1973. Equipamentos para tratamento térmico desenvolvido no PLANALSUCAR. PLANALSUCAR em Notícias. (12):4.
- DOUGLAS, R.A., 1981. Correlação entre a vazão de água e resistência ao raquitismo da soqueira em cana-de-açúcar. Piracicaba, ESALQ/USP, 57p. (Dissertação de Mestrado).
- FARRAR, L.L., 1957. A chemical test for ratoon stunting disease of sugarcane. Phytopathology. Lancaster, 47: 10.
- FIFE, J.M. e I.E. STOKES, 1959, Amino acid changes identify ratoon stunting disease. Sugar y Azucar. New York, 54:27-28.
- FORBES, I.L. e K.C. LING, 1960. Practices associated with the ratoon stunting disease of sugarcane. Sugar Journal. New Orleans, 23 (2): 15.
- FORBES, I.L., R.J. STEIB e S.J.P. CHILTON, 1960. Ratoon stunting disease of sugarcane. Louisiana State University Bulletin. (532): 1-23.
- GALLI, F., H. TOKESHI, P.C.T. CARVALHO, E. BALMER, H. KIMATI, C.O.N. CARDOSO e C.L. SALGADO, 1968. Manual de Fitopatologia; Doenças das plantas e seu controle. São Paulo, Ceres, 640p.
- GILLASPIE JR., A.G., J.E. IRVINE e R.L. STEERE, 1966. Ratoon

stunting disease virus; assay technique and partial purification. Phytopathology. Lancaster, 56: 1426-1427.

GILLASPIE JR. A.G., 1970. Evidence that ratoon stunting disease of sugar cane is caused by virus and not micoplasma. phytopathology. Lancaster, 60: 1448-1450.

GILLASPIE JR, A.G., 1971. Ratoon stunting disease virus; problems in purification. In: Proceedings of the I Meetings American Society of Sugar Cane Technologists', Baton Rouge, p. 52-55.

GILLASPIE JR., A.G., R.E. DAVIS e J.F. WORLEY, 1973. Diagnosis of ratoon stunting disease based on the presence of a specific microorganism. Plant Disease Reportes. Washington, 57 (12): 987-990.

GILLASPIE JR., A.G., R.E. DAVIS e J.F. WORLEY, 1975. Nature of the ratoon stunting disease agent, Sugar Journal. New Orleans, 38: 7-10.

GILLASPIE JR., A.G., J.W. BLIZZARD, 1976. Some properties of the ratoon stunting disease agent of sugarcane. Sugarcane Pathologists' Newsletter, Aiea, (15/16): 34-36.

GILLASPIE JR., A.G., R.E. DAVIS e J.F. WORLEY, 1976a. Nature of the bacterium associated with ratoon stunting disease of sugarcane. Sugarcane Pathologists Newsletter, Aiea, (15/16): 11-15.

GILLASPIE JR., A.G., G. FLAX e H. KOIKE, 1976b. Relationship between numbers of diagnostic bacteria and injury by ratoon stunting disease in sugar cane. Plant Disease Reporter. Washington, 60 (7): 573-575.

- GILLASPIE JR. A.G. 1978a. Anantiserum to the ratoon stunting disease associated bacterium. Sugarcane Pathologists' Newsletter. Reduit, (20): 5-6.
- GILLASPIE JR., A.G., 1978b. Ratoon stunting disease of sugarcane serology. Phytopathology. Lancaster, 68: 529-532.
- GILLASPIE JR., A.G. e R.W. HARRIS, 1978. Screening for resistance to ratoon stunting disease-injury; the enzyme - linked immunosorbent assay. Sugar y Azucar. New York, 73(6): 42-43.
- GILLASPIE JR., A.G. e R.W. HARRIS, 1979. Limitations of ELISA for detection of the RSD - Associated bacterium in sugarcane and sudangrass. Sugarcane Pathologists' Newsletter. Reduit, (22): 25-28.
- GILLASPIE JR., A.G., M.J. DAVIS, R.W. HARRIS E R.H. LAWSON 1981a. Cultivation of the causal agent of ratoon stunting disease of sugarcane. Sugarcane Pathologists' Newsletter. Reduit, (26): 6-7.
- GILLASPIE JR., A.G., M.J. DAVIS, R.W. HARRIS E R.H. LAWSON, 1981b. Isolation and pathogenicity of the ratoon stunting disease bacterium. International Sugar Journal. Bucks, 83(995): 324-326.
- HARRIS, R.W. e A.G. GILLASPIE JR., 1978. Immunofluorescent diagnosis of ratoon stunting disease. Plant Disease Reporter. Washington, 62 (3): 193-196.
- HEAGLER, A.M. e B.A. CHAPMAN, 1984. An economic appraisal of the long-term returns from an investment in heat treatment of sugarcane in Louisiana. Journal of the American society of Sugar Cane Technologists'. Baton Rouge, 3: 43-9.

- HORFALL, J.G. e R.W. BARRATT, 1945. An improved grading system for measuring plant disease. Phytopathology. 35: 655. (Abstra).
- HORFSFALL, J.G. e E.B. COWLING, 1978. Pathometry; the measurement of plant disease. In: HORSFALL J.C. e G.B. COWLING, ed. Plant Disease; an Advanced Treatise. New York, Academic Press, V.II, p.119-136.
- HUGHES, C.G. e D.R.L. STEINDL, 1985. Ratoon stunting disease of sugarcane. Technical Communication Queensland Bureau of Sugar Experiment Stations. Brisbane, 2: 54.
- HUGHES, C.G., 1956. Disease investigations; ratoon stunting disease. Annual Report - Queensland Bureau of Sugar Experiment Stations. Brisbane, (56): 81-84.
- HUGHES, C.G. e D.R.L. STEINDL, 1956. Some further developments in the study of ratoon stunting disease in Queensland. In: Proceedings of the IX Congress - International Society of Sugar Cane Technologists'. New Delhi, p.1012-1022.
- HUGHES, C.G., 1958. Disease investigations; ratoon stunting disease. Annual Report - Queensland Bureau of Sugar Experiment Stations. Brisbane, (58): 68-95.
- HUGHES, C.G. 1960. Disease investigations; ratoon stunting disease. Annual Report - Queensland Bureau of Sugar Experiment Stations. Brisbane, (60): 82-83.
- IRVINE, J.E., 1975. Factors affecting the expression of juvenile symptoms of the ratoon stunting disease. In: Proceedings of the IV Meetings - American Society of Sugar Cane Technologists', Baton Rouge, p.109-113.

- KAO, J. e K.E. DAMANN JR., 1978. Microcolonies of the bacterium associated with ratoon stunting disease found in sugarcane xylem matrix. Phytopathology. Lancaster, 68: 545-551.
- KAO, J. e K.E. DAMANN JR., 1980. In situ localization and morphology of the bacterium associated with ratoon stunting disease of sugarcane. Canadian Journal of Botany. Ottawa, 58(3): 310-315.
- KAO, J., E.W. BLAKENEY, M.A. GERENCSEK e K.E. DAMANN JR. 1980. Cell wall composition, percent C.G. in the DNA and serotyping of the bacterium associated with ratoon stunting disease of sugarcane. Phytopathology. St. Paul, 70: 568.
- KAMIUNTEN, H. e S. WAKIMOTO, 1976. Coryneform bacteria found xylem of the ratoon stunting disease sugarcane. Annals of the Phytopathological Society of Japan. Tokyo, 42(4): 500-503.
- KHURANA, S.M.P., 1972. Cusal organisms of RSD. Sugar Cane Pathologists' Newsletter. Durban (8): 15.
- LARGE, E.C., 1986. Measuring plant disease. Annual Review of Phytopathology. Palo Alto, 4: 9-28.
- LIAO, C.H. e T.A. CHEN, 1981. Isolation culture and Pathogenicity to sudan grass of a Corynebacterium associated with ratoon stunting of sugar cane and with bermuda grass. Phytopathology. St. Paul, 71: 1303-1306.
- LIU, L.J., 1978. Association of a small coryform bacterium with RSD in Puert Rico. Sugarcane Pathologists' Newsletter. Redint, (20):4.
- LIU, L.J., A. CORTES-MONILLOR, K. MARAMORROSC; H. HIRUMI, J.

- E. PÉREZ e J. BIRD, 1974. Isolation of an organism resembling *xanthomonas vasculorum* from sugarcane affected by ratoon stunting disease. In: Proceedings of the XV Congress - International Society of Sugar Cane Technologists, Durban, p.234-240.
- LOUSTALOT, A.J., 1945. Influence of soil moisture condutions on apparent photosynthesis and transpiration of pecan trees. Journal Agricultural Research. 71: 519-532.
- LUDWING, R.A., 1952. Studies on the physiology of hadromy cotyledony wilting in the tomato plant. Technical Bulletin-Mac-Donald College Magill University. Montreal, (20): 1-38.
- MICKNNEY, H.H. 1923. Influence ov soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminsthorsporim sativum*. Journal Agricultural Research. 26: 195-218.
- MARAMOROSCH, K., B. PLAVSIC - BANJAC, J. BIRD e L.J. LIU. 1973. Electron microscopy of ratoon stunted sugar cane; microorganisms in xylem. Phytopathologische Zeitschript. Berlim, 77: 270-273.
- MASUDA, Y., 1984. Controle de raquitismo da soqueira. Alcool & Açúcar. São Paulo, 4: 38-40.
- MATSUOKA, S., 1971a. Elephant-grass, an indicator plant for ratoon stunting virus of sugarcane. Plant Protection Bulletin FAO. Rome, 9(5): 110-115.
- MATSUOKA, S., 1971b. Incidência do vírus do raquitismo da soqueira em canas provenientes de material propagativo tratado termicamente. Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia. Mossorô, 4: 63-64.

- MATSUOKA, S.; 1972a. Raquitismo da soqueira da cana-de-açúcar; diagnose da moléstia e estudos sobre seu agente causal. Piracicaba, ESALQ/USP, 77p. (Tese de Doutorado).
- MATSUOKA, S., 1972b. Ratoon stunting disease diagnosis with elephant-grass as um indicador plant. Sugarcane Pathologists' Newsletter. Sydney (8): 10-11.
- MATSUOKA, S., 1975. Disseminação e controle do raquitismo da soqueira da cana-de-açúcar. Suma Phytopatologica. Piracicaba, 1(4): 245-257.
- MATSUOKA, S., 1976. Recuperação da produtividade de variedades de cana-de-açúcar pelo tratamento térmico de toletes. Brasil Açucareiro. Rio de Janeiro, 87(5): 20-24.
- MATSUOKA, S., 1980. Microplots for screening sugarcane varieties for tolerance to ratoon stunting disease. In: Proceedings of the XVII Congress-International Society of Sugar Cane Technologists; Manila, p. 1628-1638.
- MATSUOKA, S. e M.M. AQUILLERA, 1981. Efeito aditivo de nematoides e raquitismo da soqueira sobre a produção de algumas variedades de cana-de-açúcar. In: Anais do II Congresso Nacional da Sociedade de Técnicos Açucareiros do Brasil, Rio de Janeiro, V-2, p.409-420.
- MATSUOKA, S., 1983. Raquitismo da soqueira; longevidade do efeito do tratamento térmico. In: Resumos dos Trabalhos do VI Congresso Paulista de Fitopatologia, Araras, p-39.
- MATSUOKA, S., 1984. Longevidade do efeito do tratamento térmico em canas infectadas pelo raquitismo da soqueira. In: Anais do III Congresso Nacional da STAB, São Paulo, p.244-249.

- NAYIAGER, M.P., R.A. OELLERMANN e G. ROTH, 1980. The isolation culture e morphology of the bactéria associated with ratoon stunting disease. Phytopathologische Zeitschrift. Berlin, 99: 273-281.
- ORGOMA, G.I.B., 1981. The effect of hot - water treatment on sugarcane germination. Sugarcane Pathologists' Newsletter. Réduit, (27): 3-6.
- PEMBERTON, C.E. e L.J. CHARPENTER, 1959. Insect vectors of sugarcane virus disease. In: WILLIAMS, J.R., J.R. MERCALFE, R.W. MUNGOMERS e R. MATHEUS, ed. Pests of Sugar Cane. Amsterdam, Elsevier, p.411-425.
- PINAZZA, A.H., 1985. A pesquisa canavieira e as produtividades agrícolas. Internotas; Atividades do PLANALSUCAR em Destaque. Piracicaba, (53): 8.
- PLAVSIC - BANJAC, B. e K. MARAMOROSCH, 1972. Electron microscopy of the xylem of ratoon stunted sugarcane. Phytopathology. Lancaster, 62: 498-499.
- RICAUD, C., 1974. Problems in the diagnosis of ratoon stunting disease. In: Proceedings of the XV Congress - International Society of Sugar Cane Technologists', Duban, p. 241-248.
- RICAUD, C., S. SULLIVAN e J.C. AUTREY, 1976. Presence of the RSD - Associated bacterium in Mauritius. Sugarcane Pathologists' Newsletter. Aiea, (17): 37-39.
- RICHARDSON, S.R., 1978. An improved method of xylem-sap extraction using positive pressure for the rapid diagnosis of ratoon stunting disease. Sugarcane Pathologists' Newsletter. Réduit, (21): 17-18.

- RISCHI, H. e P. NATH, 1978. Association of the coryneform bacterium with ratoon stunting disease of sugarcane. Sugarcane Pathologists' Newsletter. Réduit, (20): 9-10.
- ROSSLER, L.A., 1974. The effects of ratoon stunting disease on three sugarcane varieties under different irrigation regimes. In: Proceedings of the XV Congress - International Society of Sugar Cane Technologists', Durban, p. 250-257.
- ROTH, G. e C. WHITEHEAD, 1965. Virus disease sugarcane. The south African Sugar Journal. Durban, 49: 675-683.
- SAALTING, G.J. e A.E. DIMOND, 1964, 1964. Nature of plugging material in xylem and its relation to rate of water flow in Fusarium-infected tomato stems. Phytopathology. Lancaster, 54: 1137-1140.
- SAXEN, Y.R., K. SINGH, U.S. SHUKLA, H.P. PANDE e V.K. MADAN., 1981. Biochemical studies on disease of sugarcane. IV Effect of sulphur application on the roots of ratoon stunting disease - affected sugarcane. Sugarcane Pathologists' Newsletter. Réduit, (26): 3-5.
- SCHEFFER, R.P. e J.C. WALKER, 1953. The physiology of Fusarium wilt of tomato. Phytopathology. Lancaster, 43: 116-125.
- SCHEXNAYDER, C.A., 1956. The effect of stunting disease of sugarcane on yield of cane and sugar in Louisiana, and the use of heat treatment for control. The Sugar Bulletin. New Orleans, 34(22): 349-355.
- SHUKLA, U.S., K. SINGH, V.K. MADAN e V.R. SAXENA, 1979. Effect of moist hot-air-treatment on germination and activity in RSD affected sugarcane buds. Sugar-Cane Pathologists' Newsletter. Réduit, (23): 21-22.

STEIB, R.J. e S.J.P. CHILTON., 1956. Recent studies conducted on the ratoon stunting disease of sugarcane in Louisiana. The Sugar Bulletin. New Orleans, 34: 328-243.

STEIB. R.J., L.L. FARRAR, I.L. FORBERS e S.P.P. SHILTON., 1956. Occurrence of the ratoon stunting disease in Louisiana and its control by use of hot-air treatment. The Sugar Bulletin. New Orleans, 34: 302-306.

STEIB, R.J. e I.L. FORBES, 1957. Johnson grass an corn a carriers of the virus of ratoon stunting disease surgarcane. The Sugar Bulletin. New Orleans, 35: 375.

STEIB, R.J. e S.J.P. CHILTON, 1968. Ratoon stunting disease can and must be controlled in Louisiana. The Sugar Bulletin. New Orleans, 46 (21): 5-7.

STEIB, R.J.e D.M. TANTERA, 1970. Studies to determine the effect of tetracycline antibiotic on the ratoon stunting disease (RSD) of sugarcane. The Sugar Bulletin. News Orleans, 48: 217-219.

STEIB, R.J. e D.M. CIFUENTES, 1976. Control of RSD of sugarcane by use of aerated steam. Sugar Journal. New Orleans, 39: 20-23.

STEINDL, D.R.L., 1950. Ratoon stunting disease. In: Proceedings of the VII Congress International Society of Sugar Cane Technologists'. Brisbane, p. 457-465.

STEINDL, D.R.L. e C.G. HUGHES, 1953. Ratoon stunting disease. The Cane Growers' Quartely Bulletin. Brisbane, 16: 79-95.

STEINDL, D.R.L., 1961. Ratoon stunting disease. In: MARTIN, J.P., E.V. ABBOTT e C.G. HUGHES, ed. Sugar Cane Disease of

the World. Amsterdam, Elsevier, V.1. p. 433-459.

STEINDL, D.R.L., 1974. Ratoon stunting disease history, distribution and control. In: Proceedings of the XV Congress International Society of Sugar Cane Technologists, Durban, p. 210-212.

STEINDL, D.R.L. e D.S. TEAKLE, 1974. Recent developments in the identification of ratoon stunting disease. In: Proceedings of the 41 Conference - Queensland Society of Sugar Cane Technologists, Brisbane, p.101-104.

STEINDL, D.R.L., 1976. Pathology research development; New method of identifying ratoon stunting disease. The Cane Grower's Quarterly Bulletin. Brisbane, 39(4): 130-131.

SUDO, S., 1980. Bactérias associadas ao raquitismo das soqueiras da cana-de-açúcar (*Saccharum spp*) e avaliação do capim elefante (*Pennisetum purpurum schum*) como indicadora. Piracicaba, ESALQ/USP, 86p. (Dissertação de Mestrado).

SUTCLIFFE, J.F., 1980. As plantas e a água. São Paulo, Ed. Universidade de São Paulo, 126p.

TEAKLE, D.S., P.M. SMITH e D.R.L. STEINDL, 1973. Association of a small corymeform bacterium with the ratoon stunting disease of sugarcane. Australian Journal of Agricultural Research. East Melbourne, 24: 869-874.

TEAKLE, D.S., 1974. The causal agent of sugarcane ratoon stunting disease (RSD). In: Proceedings of the XV Congress - International Society of Sugar Technologists, Durban, p.225-233.

TEAKLE, D.S., P.M. SMITH e D.R.L. STEINDL, 1975. Ratoon stunting

ting disease of sugarcane: possible correlation of resistance with vascular anatomy. Phytopathology. Lancaster, 65: 138-141.

TEAKLE, D.S., J.M. APPLETON e D.R.L. STEINDL, 1978. An anatomical basis for resistance of sugarcane to ratoon stunting disease. Physiological Plant Pathology. New York, 12: 83-91.

THOMPSON, G.M., 1960. Cane disease; Ratoon stunting disease. Cane Growers' Quarterley Bulletin. Brisbane, 16: 79-95.

THOMPSON, G.M., 1968. Ratoon stunting disease and drought a disastrous combination. The South African Sugar Journal. Durban, 52: 201-203.

TOKESHI, H., A. SANGUINO e F. AKIBA, 1974, *X. albilineans*, provável agente causal do raquitismo da soqueira e escaldadura de cana-de-açúcar. Brasil Açucareiro. Rio de Janeiro, 84 (6) 28-40.

TOKESHI, H., 1980. Doenças da cana-de-açúcar. In: GALLI, F; P.C.T. CARVALHO; E. BALMER; H. KIMATI; C.O.N. CARDOSO; C.L. SALGADO; T.L. KRUGNER; E.J.B.N. CARDOSO e A.B. FILHO, Manual de Fitopatologia; doenças das plantas cultivadas. 2.ed. São Paulo, Ceres, V.2, p. 141-206.

TODD, E., 1960. The ratoon stunting disease of sugar cane and its control in Florida. Crops Research - U.S. Department of Agriculture Agricultural Research Service. Washington, (34-12):1-7.

TUITE, J. 1969. Plant Pathological Methods; Fungi and Bacteria. Minneapolis, Burgess, 239p.

- VAADIA, Y., F.C. RANEY e R.M. HAGAN, 1961. Plant water deficits and physiological process. Annual Review of Phytopathology. Palo Alto, 12: 265-292.
- VALARINI, P.J., 1978. Avaliação da resistência ao raquitismo da soqueira pelo método da vazão de água em colmos de cana-de-açúcar. Piracicaba, ESALQ/USP, 78p. (Dissertação de Mestrado).
- VALARINI, P.J. e H. TOKESHI, 1980. Factores that interfere in evaluation of ratoon stunting disease resistance by water flow in sugarcane stalks I. In: Proceedings of the XVII Congress-International Society of Sugar Cane Technologists, Manila, p.1612-1627.
- WAGGNONER, P.E. e A.E. DIMOND, 1954. Resuction in Water flow by myceli in vessels. American Journal of Botany. Lancaster, 41: 637-640.
- WEAVER, L., D.S. TEAKLE e A.C. HAYWARD, 1977. Ultrastuctural studies on the bacterium associated with ratoon stunting disease ov sugar cane. Australian Journal of Agricultural Research. Melbourne, 28: 843-852.
- WEHLBURG, C., 1956. Ratoon stunting disease in Cuba. Sugar. New Iork, 51: 27-29.
- WISMER, C.A. e R. URATA, 1967. Ratoon stunting disease. Annual Report - Hawaiian Planters' Association. Honolulu, p.37.
- WISMER, C.A., 1971. A sugarcane clone apparently immune to RSD. Sugarcane Pathologists' Newsletter. Sydney, (6): 46.
- WORLEY, J.F. e A.G. GILLASPIE JR., 1975. Electron microscopy in situ of the bacterium associated with ratoon stunting disease in sudangrass. Phytopathology. Lancaster. 65:287-295.

A_P_E_N_D_I_C_E_S

Apêndice 2. Desenho da guilhotina usada para o corte transversal de colmos de cana-de-açúcar.

Apêndice 3. Instrumento utilizado para o desenho de nós coloridos

Apêndice 4. Desenho do suporte de madeira utilizado para
amparar colmos de cana-de-açúcar

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIRO

DEPARTAMENTO DE FÍSICA E METEOROLOGIA

APÊNDICE 5 - DADOS METEOROLÓGICOS

MÊS - Março

ANO - 1984

Dia	Radiação Global Cal/cm ² , Dia	Insolação Hor./dia	Precipitação mm/Alt.	Umidade Relativa %	Ventos Média (km/h)	Temperaturas		
						Máx. (	Mín. °C	Média)
1	626	8.1	-	67.3	6.0	37.0	20.6	28.8
2	517	4.6	-	75.7	7.2	34.9	20.9	27.9
3	662	9.5	-	69.5	8.2	31.7	18.7	25.2
4	649	8.3	2.0	74.0	7.9	35.6	19.2	27.4
5	519	6.2	9.4	80.8	6.9	35.1	20.0	27.5
6	354	0.5	5.5	81.3	7.1	35.2	20.4	27.8
7	516	5.4	10.8	87.7	6.0	29.9	20.0	24.9
8	570	6.8	-	79.9	7.2	29.9	19.8	24.8
9	699	10.2	-	77.4	6.1	30.9	19.2	25.0
10	692	9.6	-	66.7	8.4	31.6	19.2	23.3
11	675	10.4	-	65.7	10.6	33.5	21.1	27.3
12	664	9.8	-	69.5	12.0	33.0	18.0	25.5
13	687	9.7	-	66.7	17.8	31.4	15.6	23.5
14	575	7.7	-	73.1	11.3	30.2	18.2	24.2
15	553	6.4	-	68.3	7.8	29.8	17.2	23.5
16	572	8.2	-	70.9	8.2	31.6	18.4	25.0
17	563	8.0	-	71.0	7.2	32.9	17.0	24.9
18	645	9.8	-	69.7	7.8	33.6	16.8	25.2
19	482	2.9	-	75.4	6.4	33.4	17.4	25.4
20	564	7.3	10.5	76.2	8.2	29.9	19.0	24.4
21	391	4.2	4.0	82.1	11.1	34.8	20.8	27.8
22	465	3.8	-	74.0	14.0	30.6	19.2	24.9
23	609	8.1	-	69.8	9.4	28.9	17.0	22.9
24	623	9.4	-	70.0	7.3	31.0	14.4	22.7
25	566	8.9	-	70.4	7.3	31.9	16.7	24.3
26	307	1.1	-	76.2	7.0	33.1	19.2	26.1
27	311	0.3	-	78.1	6.7	31.4	20.0	35.7
28	530	6.5	2.5	72.8	6.8	27.9	19.9	23.9
29	482	4.2	2.4	80.3	10.5	33.2	20.6	27.0
30	309	0.4	-	76.6	18.4	32.2	20.4	26.3
31	563	5.5	-	69.4	15.7	25.9	17.0	21.4
Total								
Média	546	6.5	47.1	73.3	9.1	32.0	18.7	25.3

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ"

DEPARTAMENTO DE FÍSICA E METEOROLOGIA

APÊNDICE 6 - DADOS METEOROLÓGICOS

MES — Abril

ANO — 1984

Dia	Radiação Global Cal/cm ² , Dia	Insolação Hor./dia	Precipitação mm/Alt.	Umidade Relativa %	Ventos Média (km/h)	Temperaturas		
						Máx. (	Mín. °C	Média)
1	604	8.1	-	67.3	9.1	26.6	14.9	20.7
2	334	2.2	6.4	75.3	8.6	31.0	15.6	23.6
3	279	0.3	4.1	92.1	7.7	30.2	20.2	25.2
4	219	0.1	7.0	94.0	7.0	26.4	19.2	22.8
5	660	8.4	-	71.3	6.7	23.6	14.0	18.8
6	588	8.0	-	78.4	9.4	27.6	12.4	20.0
7	492	5.3	3.7	79.9	14.6	29.0	13.5	21.2
8	480	7.1	-	75.1	11.6	27.3	17.9	22.6
9	605	10.3	-	70.8	15.9	29.2	17.2	23.2
10	635	10.1	-	69.1	18.4	28.9	16.4	22.6
11	552	9.7	-	70.4	15.0	26.9	13.4	20.1
12	603	10.1	-	68.2	9.0	25.9	13.4	19.6
13	595	10.3	-	69.0	8.9	29.2	13.8	21.5
14	450	4.6	-	67.8	8.9	30.4	15.2	22.8
15	192	0.0	-	92.5	7.7	30.4	16.9	23.6
16	512	8.1	-	82.1	9.3	23.2	18.9	21.0
17	573	10.5	-	76.6	4.9	30.4	16.2	23.3
18	510	9.7	-	70.5	2.0	31.6	17.2	24.4
19	516	7.9	-	78.7	5.7	32.6	19.0	25.8
20	462	7.3	-	80.5	4.7	32.1	17.9	25.0
21	588	8.3	-	74.5	7.2	31.7	17.1	24.4
22	445	6.8	9.2	82.2	7.9	32.1	16.7	24.4
23	489	7.1	-	73.8	5.8	32.3	17.8	25.0
24	281	2.3	20.1	89.8	8.3	32.2	18.8	25.5
25	327	0.7	-	83.4	10.6	28.6	17.0	22.8
26	499	6.6	-	81.4	6.1	22.6	12.0	17.3
27	378	4.4	-	85.7	6.6	28.9	12.9	21.4
28	509	9.5	-	79.5	7.5	27.9	17.2	22.5
29	203	0.0	-	89.6	5.1	30.9	17.4	24.1
30	336	2.4	1.0	83.5	3.5	22.9	15.8	31.4
			Total					
Média	463	6.2	51.5	78.2	8.4	28.7	16.2	22.8

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIRÓZ"

DEPARTAMENTO DE FÍSICA E METEOROLOGIA

APÊNDICE - 7 - DADOS METEOROLÓGICOS

MÊS -- Maio

ANO -- 1984

Dia	Radiação Global Cal/cm ² , Dia.	Insolação Hor/dia	Precipitação mm/Alt.	Umidade Relativa %	Ventos Média (Km/h)	Temperatura		
						Máx.	Mín.	Méd.
							°C	
1	301	2.4	0.5	87.6	5.8	28.0	16.2	22.1
2	177	0.0	9.1	98.2	6.1	25.2	17.2	21.2
3	357	3.0	-	87.2	5.0	20.6	15.9	18.2
4	465	8.3	-	80.8	4.4	28.6	16.0	28.6
5	507	9.7	-	77.5	6.4	30.5	16.8	23.6
6	501	9.5	-	74.6	6.7	31.2	14.8	23.0
7	471	9.4	-	73.9	7.9	30.2	15.0	22.6
8	468	8.9	-	72.4	7.5	31.2	16.2	23.7
9	476	9.2	-	70.5	7.9	32.2	15.9	24.0
10	387	7.6	-	75.6	8.0	32.8	15.9	24.3
11	317	2.1	-	74.1	6.7	30.9	15.4	23.1
12	329	3.8	8.5	86.8	6.9	29.6	15.6	22.6
13	245	1.3	3.2	94.0	5.5	28.9	15.6	22.2
14	210	1.1	14.4	93.8	4.7	23.9	16.4	20.1
15	382	6.2	-	82.0	6.8	26.2	17.2	21.7
16	372	4.6	-	85.1	4.7	26.0	14.2	20.1
17	410	5.8	5.1	86.8	8.3	25.9	14.8	20.2
18	400	7.4	4.5	83.0	9.7	29.9	15.5	22.7
19	459	9.7	-	79.1	6.0	28.3	15.2	21.7
20	477	8.8	-	73.3	7.0	30.7	14.4	25.5
21	481	9.8	-	69.9	7.7	31.4	14.2	22.8
22	465	9.6	-	70.9	7.1	30.9	12.6	21.7
23	449	9.7	-	73.0	8.0	30.2	11.4	20.8
24	471	9.8	-	71.3	8.9	28.9	11.4	20.1
25	443	9.7	-	72.0	5.9	30.4	12.3	21.3
26	449	8.4	-	73.8	8.0	30.0	11.8	20.9
27	398	9.3	-	76.3	7.4	30.0	11.4	20.7
28	432	8.5	-	76.7	8.9	30.0	11.9	20.9
29	417	9.5	-	59.0	9.7	30.0	12.6	21.3
30	470	0.8	0.6	86.3	7.4	30.4	15.2	22.8
31	193	9.7	-	72.8	6.6	25.0	8.4	16.7
			Total					
Média	399	6.8	45.9	78.6	7.0	28.9	14.4	21.7

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIRÔZ"

DEPARTAMENTO DE FÍSICA E METEOROLOGIA

APÊNDICE 8 - DADOS METEOROLÓGICOS

MÊS -- Junho

ANO -- 1984

Dia	Radiação Global Cal/cm ² , Dia.	Insolação Hor/dia	Precipitação mm/Alt.	Umidade Relativa %	Ventos Média (Km/h)	Temperatura		
						Máx.	Mín.	Méd.
							°C	
1	427	9.4	-	78.9	9.2	26.0	9.9	17.9
2	458	9.5	-	73.7	8.3	28.3	11.5	19.9
3	456	9.7	-	69.7	8.1	29.1	11.6	20.3
4	395	7.1	-	70.9	7.1	29.8	10.6	20.2
5	426	9.1	-	66.6	7.8	28.9	12.4	20.6
6	390	8.4	-	67.6	7.7	30.0	12.6	21.3
7	422	9.6	-	69.2	8.5	30.4	12.0	21.2
8	401	8.8	-	76.4	5.5	28.2	11.9	20.0
9	369	6.8	-	68.3	14.1	26.9	11.0	18.9
10	484	9.1	-	72.6	2.0	28.9	10.2	19.5
11	459	8.6	-	65.8	8.0	23.2	4.9	14.0
12	401	8.9	-	64.8	9.1	29.0	5.8	17.4
13	402	8.2	-	73.2	6.9	30.2	12.2	21.2
14	291	2.1	-	82.9	4.5	28.6	14.0	21.3
15	372	7.9	-	64.0	10.8	26.6	14.4	20.5
16	370	8.9	-	65.2	7.8	31.3	12.8	22.1
17	402	8.8	-	75.1	7.9	30.5	11.8	21.1
18	389	9.5	-	70.8	7.2	27.6	12.9	20.2
19	426	9.2	-	63.9	9.7	28.4	11.9	20.1
20	410	8.7	-	59.9	8.8	30.4	10.2	20.3
21	426	9.6	-	61.2	8.6	29.3	10.2	19.8
22	427	9.2	-	60.5	9.0	29.4	11.0	20.2
23	408	9.3	-	61.3	7.5	29.9	9.2	19.6
24	426	8.4	-	63.0	8.3	29.0	8.6	18.8
25	319	7.8	-	91.2	8.8	29.0	8.8	18.9
26	457	9.3	-	51.8	11.7	30.0	10.9	20.4
27	390	8.0	-	75.4	9.7	30.4	11.9	21.1
28	359	4.1	-	80.3	8.4	26.9	8.4	17.6
29	474	9.1	-	77.8	9.8	21.6	7.4	14.5
30	426	9.0	-	78.8	6.8	22.3	6.8	14.6
Média	408	8.4		70.0	8.2	28.3	10.5	19.4

.ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIRÓZ"

DEPARTAMENTO DE FÍSICA E METEOROLOGIA

.APÊNDICE 9 - DADOS METEOROLÓGICOS

MÊS -- Julho

ANO -- 1984

Dia	Radiação Global Cal/cm ² , Dia	Insolação Hort/Dia	Precipitação mm/Alt.	Umidade Relativa %	Ventos Média (km/h)	Temperatura		
						Máx.	Mín.	Méd.
1	485	5.2	-	74.4	9.9	25.2	7.8	16.5
2	435	7.7	-	70.2	14.0	26.4	8.4	17.4
3	426	9.3	-	51.9	16.5	28.8	12.6	20.7
4	357	6.0	0.6	63.0	11.0	30.0	13.9	21.9
5	453	9.8	-	53.7	12.9	30.2	15.0	22.6
6	448	9.4	-	54.5	12.8	31.9	14.6	23.2
7	398	7.8	-	72.6	9.4	31.4	12.4	21.9
8	435	8.8	-	71.2	7.5	29.4	12.2	20.8
9	467	9.6	-	55.6	11.7	29.6	11.3	20.4
10	459	9.7	-	58.7	9.2	28.4	11.2	19.8
11	419	9.6	-	55.2	10.5	29.0	9.2	19.1
12	410	8.0	-	50.2	9.5	30.2	10.0	20.1
13	414	9.7	-	65.5	8.4	31.4	11.6	21.5
14	250	0.1	-	80.7	9.1	30.5	12.5	21.5
15	423	9.1	-	58.0	7.4	23.1	13.0	18.0
16	497	6.8	-	62.1	5.7	32.0	13.8	22.9
17	375	8.1	-	58.4	7.2	30.8	12.2	21.5
18	406	7.8	-	56.7	9.2	31.2	11.8	21.5
19	437	9.3	-	51.6	8.1	31.0	11.6	21.3
20	406	8.0	-	54.2	7.3	30.6	11.6	21.1
21	428	9.2	-	56.8	14.0	29.6	11.9	20.7
22	310	3.3	-	75.8	12.5	29.6	10.2	19.9
23	399	6.7	-	78.5	13.3	18.9	7.2	13.0
24	495	9.8	-	71.4	6.2	20.9	6.9	13.9
25	429	7.4	-	70.9	7.8	25.4	7.4	16.4
26	452	9.2	-	76.2	10.8	28.9	9.2	19.0
27	344	5.2	8.3	76.5	9.0	24.2	9.8	17.0
28	446	8.5	-	76.4	9.8	28.2	10.4	19.3
29		8.8	-	77.0	13.7	25.9	11.1	18.5
30	527	10.0	-	70.2	6.8	21.9	8.2	15.0
31	482	5.9	-	63.6	8.0	25.6	7.9	16.7
			Total					
Média	420	7.8	8.9	64.8	9.9	28.0	10.8	19.4

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIRÔZ"

DEPARTAMENTO DE FÍSICA E METECROLOGIA

APÊNDICE 10 - DADOS METEOROLÓGICOS

MÊS -- Agosto

ANO -- 1984

Dia	Radiação Global Cal/cm ² , Dia	Insolação Hor./dia	Precipitação mm/Alt.	Umidade Relativa %	Ventos Média (km/h)	Temperaturas		
						Máx.	Mín.	Mín.
1	468	9.6	-	49.5	10.7	27.2	8.2	17.7
2	391	4.9	26.1	76.5	20.9	29.8	10.2	20.0
3	192	2.5	7.7	90.4	10.2	30.8	15.4	23.1
4	495	9.4	-	79.2	7.7	20.2	12.1	16.1
5	518	9.7	-	55.7	11.6	28.0	12.2	20.1
6	482	8.8	-	55.1	12.9	32.9	13.4	23.1
7	415	8.7	-	73.2	8.8	33.4	15.8	24.6
8	436	8.2	-	73.1	7.8	32.2	12.8	22.5
9	477	9.4	-	62.0	8.7	31.8	15.9	23.8
10	498	9.9	-	57.0	7.9	31.9	15.4	23.6
11	558	10.1	-	54.1	10.4	32.6	13.5	23.0
12	515	9.4	-	51.4	9.1	33.3	12.7	23.0
13	425	9.0	-	71.8	7.4	33.8	13.4	23.6
14	438	8.8	-	75.4	9.5	29.1	12.2	20.6
15	471	7.0	-	76.5	12.3	26.4	12.4	19.4
16	333	3.8	-	79.5	12.5	23.4	12.0	17.7
17	536	8.9	-	70.7	19.3	20.4	9.8	15.1
18	591	9.2	-	69.0	18.1	22.2	12.0	17.4
19	347	5.0	11.2	72.6	11.8	24.6	10.8	17.7
20	162	0.0	1.0	96.2	7.7	23.4	11.2	17.3
21	402	5.6	25.7	89.8	10.4	17.6	13.2	15.4
22	217	0.3	29.4	93.4	7.5	24.5	13.2	18.8
23	499	7.7	-	80.9	5.9	22.1	15.6	18.8
24	570	8.3	3.6	70.8	10.7	25.8	12.4	19.1
25	193	0.0	6.6	93.0	12.3	29.4	13.4	21.4
26	654	9.5	-	68.6	12.1	20.1	6.4	13.2
27	566	9.3	-	72.8	8.8	17.2	2.9	10.0
28	474	7.2	-	79.0	12.3	19.9	4.8	12.3
29	429	4.5	-	78.6	10.9	21.9	7.0	14.4
30	428	5.9	0.8	80.1	8.3	22.4	11.8	14.7
31	593	10.2	-	73.3	7.8	24.2	11.9	18.0
			Total					
Média	444	7.1	112.1	73.2	10.7	26.2	11.7	18.8

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIRÓZ"

DEPARTAMENTO DE FÍSICA E METEOROLOGIA

APÊNDICE 11 - DADOS METEOROLÓGICOS

MES -- Setembro

ANO -- 1984

Dia	Radiação Global Cal/cm ² , Dia	Insolação Hor./dia	Precipitação mm/Alt.	Umidade Relativa %	Ventos Média (km/h)	Temperatura		
						Máx.	Mín.	Méd.
1	608	9.4	-	68.8	6.8	27.2	10.2	18.7
2	577	9.6	-	61.2	6.9	26.9	10.4	18.6
3	586	8.7	-	52.4	8.5	28.4	11.9	20.1
4	600	9.9	-	52.6	7.0	28.9	10.6	19.7
5	556	9.7	-	58.8	5.9	28.8	12.2	20.5
6	402	5.5	16.4	78.6	11.7	30.8	12.2	21.5
7	287	0.7	2.1	86.6	10.6	20.2	13.2	21.2
8	124	0.0	22.7	95.9	7.7	23.9	15.9	19.9
9	570	8.5	-	64.6	8.9	20.0	13.2	16.6
10	654	10.3	-	67.5	14.9	23.2	9.4	16.3
11	680	10.3	-	66.6	7.0	22.4	8.9	15.6
12	617	9.5	-	62.8	7.2	25.2	8.2	16.7
13	612	10.1	-	48.7	7.3	28.6	9.2	18.9
14	573	9.8	-	62.2	5.0	29.9	11.6	20.7
15	514	6.7	-	54.7	9.2	31.6	12.6	22.1
16	360	4.0	0.4	79.0	8.3	31.9	13.2	22.5
17	590	5.8	-	71.3	12.7	28.6	14.2	21.4
18	597	9.7	-	72.5	9.5	26.0	11.4	18.7
19	543	8.6	0.9	64.2	18.9	29.2	13.4	21.3
20	194	0.6	25.6	92.9	9.3	24.2	17.9	23.9
21	620	9.6	-	72.2	5.2	25.1	10.0	17.5
22	690	10.8	-	57.2	7.8	25.8	9.7	17.7
23	711	10.2	-	67.5	8.4	29.4	12.9	21.1
24	645	8.7	-	73.5	8.4	32.4	15.4	23.9
25	518	4.4	6.9	63.0	12.9	31.9	17.0	24.4
26	278	1.1	12.3	91.5	8.2	28.6	17.4	23.0
27	343	1.7	3.1	90.6	11.5	24.4	13.6	19.0
28	693	9.0	-	62.7	10.7	21.9	9.9	15.9
29	774	10.9	-	64.4	11.0	24.9	10.9	17.9
30	797	10.6	-	64.4	11.6			
			Total					
Médias	543	7.4	90.4	68.9	9.3	27.0	12.3	19.8

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIRÓZ"

DEPARTAMENTO DE FÍSICA E METEOROLOGIA

APÊNDICE - 12 - DADOS METEOROLÓGICOS

MÊS -- Outubro

ANO -- 1984

Dia	Radiação Global Cal/cm ² , Dia	Insolação Hor./dia	Precipitação mm/Alt.	Umidade Relativa %	Ventos Média (km/h)	Temperatura		
						Máx.	Mín.	Méd.
1	524	10.3	-	65.7	7.8	26.2	10.0	18.1
2	519	10.0	-	66.9	6.6	30.2	11.2	20.7
3	493	10.4	-	58.9	8.5	31.9	13.8	22.8
4	481	9.9	-	53.1	8.9	33.2	15.8	24.5
5	483	9.3	-	50.7	9.9	34.4	17.2	25.8
6	426	7.8	-	63.9	15.6	34.7	18.4	26.5
7	533	9.6	-	76.9	14.5	34.8	17.6	26.2
8	399	7.7	-	73.0	7.9	29.8	15.0	22.4
9	150	0.0	-	86.1	7.1	33.2	17.6	25.4
10	348	3.1	-	75.1	8.8	25.9	18.2	22.0
11	550	10.8	-	62.3	15.6	29.4	17.2	23.3
12	563	10.1	-	67.2	10.3	30.1	13.2	21.6
13	483	9.3	-	66.5	7.5	31.4	12.4	21.9
14	393	10.3	-	60.0	10.2	33.2	14.9	24.0
15	445	6.6	-	72.3	11.8	34.8	17.4	26.1
16	457	6.9	0.4	73.3	6.7	30.2	18.4	24.3
17	504	9.0	23.4	67.4	11.9	32.9	19.8	26.3
18	146	0.0	3.2	91.3	11.0	33.2	19.4	26.3
19	207	0.4	-	82.0	16.5	24.4	17.9	21.1
20	574	10.0	-	75.8	13.7	21.0	14.2	17.6
21	556	9.8	-	67.4	8.9	25.2	14.2	19.7
22	566	10.5	-	57.4	8.5	31.2	15.9	23.5
23	562	10.2	-	59.1	10.8	32.4	17.6	25.0
24	396	5.4	-	69.6	12.8	34.0	16.0	25.0
25	512	10.8	-	68.5	13.8	30.2	17.2	23.7
26	553	10.3	-	61.8	10.7	31.2	17.0	24.1
27	570	11.1	-	60.3	9.0	31.6	15.9	23.7
28	594	11.2	-	50.6	9.8	33.4	15.9	24.6
29	530	10.0	-	47.2	8.2	34.8	17.4	26.1
30	524	10.0	-	52.5	9.3	36.0	19.4	27.7
31	552	9.9	-	71.4	21.6	36.8	19.2	28.0
Média			Total					
			27.0	66.2	10.7	31.3	16.3	23.8