

**OBTENÇÃO DE INÓCULO DE *Xanthomonas albilineans* (ASHBY)  
DOWSON *in vitro* E METODOLOGIA DE INOCULAÇÃO**

**RITA DE CÂSSIA PANIZZI**  
Engenheira Agrônoma

**Orientador : Dr. HIROSHI KIMATI**

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  
Novembro - 1983

Aos meus pais, Gelson e Maria Aparecida,  
minhas irmãs, cunhados e sobrinhos

Dedico

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que direta ou indiretamente colaboraram na realização deste trabalho, em especial às seguintes pessoas:

Ao prof. Dr. Hiroshi Kimati pela orientação, estímulo e amizade,

Ao prof. Dr. Humberto de Campos pelos ensinamentos e orientação na parte estatística,

À Universidade Estadual Paulista "Campus" de Ilha Solteira pela possibilidade de fazer o curso de pós-graduação,

À eng<sup>a</sup> agr<sup>a</sup> Rosa Maria Valdebenito Sanhueza pelas sugestões e amizade,

Ao Dr. Hasime Tokeshi pelo fornecimento das mudas de cana-de-açúcar,

Aos colegas Marco Eustáquio de Sá e José Luis Tucci

Turco pelo apoio e estímulo,

Aos colegas do laboratório de Fitopatologia Samuel  
Martins, Pedro da Silva, José Pereira Sobrinho,, Armando Adilson de Oliveira  
e Marta Lúcia Tagliati pela ajuda,convívio e amizade,

À CAPES/PICD pela bolsa de estudo,

Ao convênio PLANALSUCAR-FEALQ que subvencionou par-  
cialmente a pesquisa,

Aos colegas de turma pela convivência.

## ÍNDICE

	Pág.
1. Resumo .....	1
2. Introdução .....	3
3. Revisão de Literatura .....	5
4. Materiais e Métodos .....	18
4.1. Isolamento de <i>Xanthomonas albilineans</i> .....	18
4.2. Experimentos .....	19
4.2.1. Influência de diferentes fontes de nitrogênio orgânico no crescimento de <i>X. albilineans</i> .....	20
4.2.2. Influência da concentração de sacarose e soytona no crescimento de <i>X. albilineans</i> .....	21
4.2.3. Influência da alta concentração de sacarose no crescimento de <i>X. albilineans</i> , usando-se duas fontes de nitrogênio.....	21
4.2.4. Influência do corte das folhas e do uso da capa de alumínio na eficiência do método de inoculação para algumas cultivares de cana-de-açúcar.....	22
4.2.5. Influência do uso da capa de alumínio na eficiência do método de inoculação para algumas cultivares de cana-de-açúcar cujo palmito foliar foi cortado na altura do vértice foliar.....	28
4.2.6. Inoculação de <i>Xanthomonas albilineans</i> em variedades de cana-de-açúcar, milho e sorgo .....	29

	Pág.
5. Resultados e Discussão .....	31
5.1. Influência de diferentes fontes de nitrogênio orgânico no crescimento de <i>Xanthomonas albilineans</i> .....	31
5.2. Influência da concentração de sacarose e soytona no crescimento de <i>X. albilineans</i> . .....	34
5.3. Influência da alta concentração de sacarose no crescimento de <i>X. albilineans</i> usando-se 2 fontes de nitrogênio.....	36
5.4. Influência do corte das folhas e da eficiência da capa de alumínio em métodos de inoculação para algumas cultivares de cana-de-açúcar.....	37
5.5. Influência do uso da capa de alumínio na eficiência do método de inoculação para algumas cultivares de cana-de-açúcar cujo palmito foliar foi cortado na altura do vértice.....	45
5.6. Inoculação de <i>Xanthomonas albilineans</i> em variedades de cana-de-açúcar, milho e sorgo .....	52
6. Conclusões.....	54
7. Summary .....	56
8. Literatura Citada .....	58
9. Apêndice .....	65

## LISTA DE QUADROS

Quadro		Página
1	Influência de fontes de nitrogênio orgânico em meio basal de Wilbrink, no crescimento de <i>X. albilineans</i> . Experimento I.....	33
2	Influência da concentração de sacarose e soytona no crescimento de <i>X. albilineans</i> . Experimento II...	35
3	Influência da alta concentração de sacarose no crescimento de <i>X. albilineans</i> , usando-se 2 fontes de nitrogênio.....	37
4	Influência de métodos de inoculação na manifestação de sintomas externos em 4 variedades de cana-de-açúcar à <i>X. albilineans</i> .....	39
5	Influência de métodos de inoculação na recuperação de sintomas externos em 4 variedades de cana-de-açúcar à <i>X. albilineans</i> .....	40
6	Influência de métodos de inoculação na manifestação de sintoma interno em 4 variedades de cana-de-açúcar à <i>X. albilineans</i> .....	42
7	Influência de métodos de inoculação na manifestação de sintomas externos em 3 grupos de variedades de cana-de-açúcar à <i>X. albilineans</i> .....	46
8	Influência de métodos de inoculação na recuperação dos sintomas externos em 3 grupos de variedades de cana-de-açúcar à <i>X. albilineans</i> .....	47

Quadro	Página
9      Influência de métodos de inoculação na manifestação de sintoma interno em 3 grupos de variedades de cana-de-açúcar à <i>X. albilineans</i> .....	51
10     Reação de variedades de milho, sorgo e cana-de-açúcar à <i>X. albilineans</i> .....	53

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Pág.
1 - Planta de cana-de-açúcar com nota 0 (zero) - ausência de sintomas nas folhas.....	26
2 - Planta de cana-de-açúcar com nota 1 - presença de estrias brancas e finas nas folhas.....	26
3 - Planta de cana-de-açúcar com nota 2 - presença de estrias largas e amareladas nas folhas.....	27
4 - Planta de cana-de-açúcar com nota 3 - presença de estrias largas, amareladas e necrosadas nas folhas.....	27
5 - Porcentagem de plantas com sintomas externos de escaldadura das folhas em 4 variedades de cana-de-açúcar, utilizando-se 3 métodos de inoculação ( $M_1$ , $M_2$ e $M_3$ ).....	41
6 - Porcentagem de plantas com recuperação de sintomas externos de escaldadura das folhas em 4 variedades de cana-de-açúcar utilizando-se 3 métodos de inoculação ( $M_1$ , $M_2$ e $M_3$ ).....	43
7 - Porcentagem de plantas com sintomas internos de escaldadura das folhas em 4 variedades de cana-de-açúcar utilizando-se 3 métodos de inoculação ( $M_1$ , $M_2$ e $M_3$ ).....	43
8 - Porcentagem de plantas com sintomas externos de escaldadura das folhas em 7 variedades de cana-de-açúcar utilizando-se 2 métodos de inoculação ( $M_1$ e $M_2$ ).....	48

Figura	Pág.
9 - Porcentagem de plantas com recuperação de sintomas externos de escaldadura das folhas em 7 variedades de cana-de-açúcar utilizando-se 2 métodos de inoculação ( $M_1$ e $M_2$ )...	49
10 - Porcentagem de plantas com sintomas internos de escaldadura das folhas com 7 variedades de cana-de-açúcar utilizando-se 2 métodos de inoculação ( $M_1$ e $M_2$ ).....	51
11 - Porcentagem de plantas com sintomas externos de escaldadura das folhas em variedades de cana-de-açúcar, milho e sorgo.....	53

LISTA DE TABELAS

Tabela	Pág.
1 - Classificação de resistência de variedades de cana-de-açúcar em testes de inoculação com <i>X. albilineans</i> .....	23

## LISTA DE APÊNDICE

Apêndice		Pág.
1 -	Influência da concentração de sacarose e soytona no crescimento de <i>X. albilineans</i> (suspensão inoculada com 63% de transmitância a 625 nm). Experimento II.	66
2 -	Análise de variância dos dados do Apêndice 01 .....	67
3 -	Influência da alta concentração de sacarose no crescimento de <i>X. albilineans</i> , usando-se 2 fontes de nitrogênio (suspensão inoculada com 70% de transmitância a 580 nm.). Experimento III .....	68
4 -	Análise de variância dos dados do Apêndice 03 .....	69
5 -	Reação de 4 variedades de cana-de-açúcar à <i>X. albilineans</i> inoculadas por 3 diferentes métodos ( $M_1$ , $M_2$ e $M_3$ ). Experimento IV.....	70
6 -	Presença de feixes vasculares descoloridos (do 1º ao 5º nó), em 4 cultivares de cana-de-açúcar, 173 dias após a inoculação por diferentes métodos ( $M_1$ , $M_2$ e $M_3$ ), com uma suspensão de <i>X. albilineans</i> apresentando 61% de transmitância a 625 nm. Experimento IV..	71
7 -	Teste $X^2$ para plantas sadias e doentes utilizando -se o método de inoculação $M_1$ no experimento IV....	72
8 -	Teste $X^2$ para plantas que recuperaram sintomas e plantas doentes utilizando-se o método de inoculação $M_1$ no Experimento IV. ....	73
9 -	Teste $X^2$ para plantas com e sem sintomas interno utilizando-se o método de inoculação $M_1$ no Experimento IV. ....	74
10 -	Teste $X^2$ para plantas sadias e doentes utilizando -se o método de inoculação $M_2$ no experimento IV.....	75

	Pág.
11 - Teste $X^2$ para plantas que recuperaram sintomas e plantas doentes, utilizando-se o método de inoculação $M_2$ no experimento IV. ....	76
12 - Teste $X^2$ para plantas com e sem sintomas interno utilizando-se o método de inoculação $M_2$ no experimento IV .....	77
13 - Teste $X^2$ para plantas sadias e doentes utilizando -se o método de inoculação $M_3$ no experimento IV ...	78
14 - Teste $X^2$ para plantas que recuperaram sintomas e plantas doentes, utilizando-se o método de inoculação $M_3$ no experimento IV. ....	79
15 - Teste $X_2$ para plantas com e sem sintoma interno utilizando-se o método de inoculação $M_3$ no experimento IV .....	80
16 - Teste $X^2$ para plantas sadias e doentes utilizando -se os métodos de inoculação $M_1$ , $M_2$ , $M_3$ para as variedades $V_1$ , $V_2$ , $V_3$ , $V_4$ . Experimento IV. ....	81
17 - Teste $X_2$ para plantas que recuperaram sintomas e plantas doentes utilizando-se os métodos de inoculação $M_1$ , $M_2$ e $M_3$ para as variedades $V_1$ , $V_2$ , $V_3$ e $V_4$ . Experimento IV. ....	82
18 - Teste $X^2$ para plantas com e sem sintomas interno utilizando-se os métodos de inoculação $M_1$ , $M_2$ e $M_3$ para as variedades $V_1$ , $V_2$ , $V_3$ e $V_4$ . Experimento IV.	83
19 - Reação de 7 variedades de cana-de-açúcar à <i>X. albilineans</i> , inoculadas por 2 diferentes métodos ( $M_1$ e $M_2$ ) e cujo palmito foi cortado na altura do vértice foliar..	84
20 - Presença de feixes vasculares descoloridos (do 1º ao 3º nó) em 7 cultivares de cana de açúcar, 153 dias após a inoculação por 2 diferentes métodos ( $M_1$ e $M_2$ ), com uma suspensão de <i>X. albilineans</i> apresentando 61% de transmitância a 625 nm. Experimento V.....	85

	Pág.
21 - Teste $X^2$ para plantas sadias e doentes utilizando-se o método de inoculação $M_1$ no experimento V.	86
22 - Teste $X^2$ para plantas que recuperaram sintomas e plantas doentes utilizando-se o método de inoculação $M_1$ no experimento V. ....	87
23 - Teste $X^2$ para plantas com e sem sintomas internos utilizando-se o método de inoculação $M_1$ no experimento V. ....	88
24 - Teste $X^2$ para plantas sadias e doentes utilizando-se o método de inoculação $M_2$ no Experimento V. ...	89
25 - Teste $X^2$ para plantas com e sem sintomas interno utilizando-se o método de inoculação $M_2$ no Experimento V. ....	90
26 - Teste $X^2$ para plantas sadias e doentes utilizando-se os métodos de inoculação $M_1$ e $M_2$ para os conjuntos de variedades- Experimento V. ....	91
27 - Teste $X^2$ para plantas que recuperaram sintomas e plantas doentes utilizando-se os métodos de inoculação $M_1$ e $M_2$ para os conjuntos de variedades no Experimento V.....	92
28 - Teste $X^2$ para plantas com e sem sintomas internos utilizando-se os métodos de inoculação $M_1$ e $M_2$ para o conjunto de variedades no Experimento V. ....	93
29 - Reação de 7 espécies diferentes, quando inoculadas com suspensão de <i>X. albilineans</i> apresentando 60% de transmitância a 625 nm. Experimento VI. ....	94
30 - Teste $X^2$ para plantas sadias e doentes utilizando-se o método de inoculação $M_1$ no experimento VI. ..	95

## 1. RESUMO

*Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson foi cultivada em meio de cultura, de composição semelhante àquela do meio de Wilbrink, variando-se a fonte de nitrogênio e a quantidade de nitrogênio e de sacarose. Observou-se que: (1) neopeptona, tryptona, proteose-peptona e soytona foram melhores, em ordem decrescente, que peptona; (2) a proporção de soytona por litro de meio que proporcionou melhor crescimento de *X. albilineans* foi 20 g. A dose de sacarose para melhor crescimento da bactéria depende da dose de soytona; há combinações carbono/nitrogênio que favorecem melhor o crescimento de *X. albilineans*. Em doses de sacarose acima de 80 g por litro começa a haver inibição do crescimento da bactéria.

Variações do método de inoculação por injeção no palmito foliar (sem corte das folhas, com corte e com capa, com corte e sem capa de papel alumínio) foram testadas em 4 variedades de cana-de-açúcar (NA56-79, H 60-6909, CB47-355 e CB41-76). Observou-se que houve efeito significativo dessas variações nas variedades de resistência intermediária (NA56-79, H 60-6909 e CB47-355), porém não na variedade suscetível (CB41-76). Observou-se também que ocorre o fenômeno de recuperação de sintomas externos, mais nas

variedades NA56-79, H 60-6909 e CB47-355 do que na variedade CB41-76.

Foram testados também os métodos de inoculação (por injeção no palmito foliar) com corte do palmito foliar, com capa e sem capa de papel alumínio, para 7 variedades de cana-de-açúcar (NA56-79, CB47-355, CB 41-76, CP51-22, CB49-260, CB45-3 e CB47-89). Os métodos de inoculação não variaram entre si. Encontraram-se grupos de plantas resistentes, suscetíveis e de resistência intermediária.

Usaram-se variedades de milho, sorgo e cana-de-açúcar como plantas testes para *X. albilineans* e verificou-se que qualquer uma é passível de ser infectada artificialmente, sendo que a variedade de milho doce de Cuba e a variedade de cana CB41-76 foram as que apresentaram maior número de plantas doentes.

## 2. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de açúcar a partir da cana, embora apresente uma baixa produtividade.

Entre os numerosos fatores que afetam a produtividade encontram-se as doenças e, entre elas, merece destaque a escaldadura das folhas.

Essa doença, subestimada em importância devido aos erros de identificação e a confusão com o raquitismo da soqueira, tem sido reavaliada e considerada de importância crescente, graças aos resultados de pesquisa da última década que permitiram um diagnóstico mais rápido e seguro da doença.

A escaldadura das folhas, causada pela bactéria *Xanthomonas albilineans*, ocorria nos canaviais das áreas tradicionais de forma endêmica, sendo poucas as áreas onde a doença ocorria com mais intensidade.

Com a brusca expansão da cultura, a demanda de mudas para plantio nas novas áreas sofreu conseqüentemente um brusco aumento. Com isto, a utilização de canaviais comerciais como fonte de mudas tornou-se prática rotineira, trazendo conseqüências bastante graves no que diz respeito à sanidade dos novos canaviais implantados.

Em algumas áreas novas com plantio de cana, a escaldadura das folhas tem aparecido de forma epidêmica, causando graves prejuízos. Um dos fatores que tem concorrido para o aparecimento dessas epidemias tem sido a dificuldade de se diagnosticar corretamente a doença. Os fenômenos de latência e recuperação das plantas têm sido relatados com frequência por diversos pesquisadores, que têm mostrado que plantas aparentemente sadias podem ser portadoras de *X. albilineans*.

As pesquisas feitas se referem principalmente à metodologia de isolamento e de identificação de *X. albilineans*, entretanto, com relação à composição do meio de cultura, poucas pesquisas foram feitas e, com pequenas modificações, o meio de Wilbrink é utilizado desde sua descoberta.

O presente trabalho tem como objetivo, em primeiro lugar, encontrar um meio de cultura que propicie um melhor crescimento de *X. albilineans*.

Um outro aspecto da escaldadura pesquisado ultimamente, se refere à metodologia de inoculação, tendo-se encontrado que os métodos mais eficientes são o da capa de alumínio e o da injeção sob pressão, porém, os resultados são às vezes contraditórios. O segundo objetivo do trabalho é então encontrar um método quantitativamente melhor para seleção de variedades resistentes.

### 3. REVISÃO DA LITERATURA

A escaldadura das folhas em cana-de-açúcar chamou a atenção inesperadamente durante os anos de 1920 a 1926. A doença estava presente em numerosos países entre eles Java, Austrália, Fiji, Mauritius e as Filipinas, mas não tinha ainda sido definitivamente reconhecida como uma doença distinta (EDGERTON, 1958).

No Brasil, ARRUDA (1944) chegou à conclusão que a introdução da bactéria no país se deu em 1929, com a importação da variedade Baidila da Austrália. Foi primeiramente constatada em Piracicaba, São Paulo, e em localidades próximas a esse município, também se confirmando sua presença em Campos, Estado do Rio de Janeiro.

Segundo DANTAS (1958), a escaldadura das folhas é reconhecida no mundo inteiro como uma das mais importantes doenças da cana-de-açúcar e seus prejuízos são tanto de ordem agrícola, como industrial. O au

tor afirma que canas severamente infectadas sofrem 22% de redução na sacarose em decorrência da doença.

Trabalhando com escaldadura das folhas em cana-de-açúcar, SINGH *et alii* (1981) observaram que em plantas doentes há um decréscimo de 32,6% em peso de colmo e de 50,6% na extração de caldo e um aumento de 89,6 % no conteúdo de fibras quando comparadas com plantas sadias.

Em Java, 1915, Groenewege isolou uma bactéria como sendo o agente causal da escaldadura das folhas, mas confundiu a doença com a gomo se causada por *Bacterium vasculorum* (Cobb) (ARRUDA, 1944). Em 1920, Wilbrink, reestudando a doença em Java, pelos sintomas e pelos caracteres morfológi - cos e culturais de *Xanthomonas albilineans*, concluiu que esta bactéria não é idêntica a *B. vasculorum* e que também o que Groenewege referiu como *Bacte*ri*um* sp não é o agente da escaldadura das folhas.

A classificação da bactéria, agente causal da escaldadura das folhas da cana-de-açúcar, no gênero *Xanthomonas* foi proposta por DOWSON (1943) principalmente pelo fato de apresentar, em cultivo, colônias amarelas e um flagelo polar, sendo, então, nomeada *Xanthomonas albilineans* (Ashby, 1929) Dowson (1943). DYE (1966) reestudando o gênero *Xanthomonas*, classificou-a como uma espécie atípica deste gênero.

*X. albilineans* (Ashby) Dowson, segundo TOKESHI (1980), é de crescimento lento, em meio de Wilbrink, produz colônias amarelas brilhantes, convexas, bordos lisos e é deficiente em metionina. Quando recentemente isolada é vagarosa e as colônias se tornam visíveis após 3 a 4 dias de crescimento. O talo bacteriano é bastonete medindo 250-300 nm de largura por

O talo bacteriano é bastonete medindo 250-300 nm de largura por 600 a 1000 nm de comprimento, possuindo um flagelo polar. É Gram

negativa e cresce entre 25 a 37°C (TOKESHI, 1980 e BREED *et alii*, 1957).

Segundo BREED *et alii* (1957), a bactéria não cresce em sais de amônia, nitratos ou asparagina como fonte de nitrogênio. Não cresce em água-peptonizada sem carboidratos. Em meio com agar, de 7 a 10 dias após a inoculação, observam-se colônias na forma de minúsculas gotas transparentes, úmidas e brilhosas.

KOIKE e ROGERS (1967) estudando a patogenicidade de alguns isolados de *X. albilineans* concluíram que as diferenças na reação de variedades de cana-de-açúcar à escaldadura das folhas em diferentes localidades, podem ter sido devido a diferenças de "strains" da bactéria, método de inoculação e fatores ambientes ou ecológicos afetando a resistência de variedades do hospedeiro à doença.

Mauritius, segundo EGAN (1969), foi o primeiro país onde se descobriu o problema de "strains". Segundo o autor, precisa-se conhecer mais a respeito da distribuição geográfica de "strains" para se determinar e regulamentar variedades diferenciadoras.

Trabalhando com patogenicidade de isolados de *X. albilineans*, RICAUD e PAULO (1970) afirmam que a diferença entre isolados na produção de clorose é devido à diferença de virulência. Concluíram ainda que culturas em meio artificial pode resultar na seleção de células menos patogênicas.

KOIKE (1971) é de opinião que uma variedade não deve ser aceita ou rejeitada por um país com base na reação de variedades em outro país. Uma variedade suscetível em um país pode não reagir da mesma maneira em outro, devido à presença de diferentes "strains" do organismo causal ou

devido a diferentes condições ambientes. Quanto a uma variedade ser ou não aceita em um país ou região, a decisão deveria ser baseada em resultados de experimentos conduzidos com "strains" do organismo causal presente no local, sob condições ambientes mais favoráveis ao desenvolvimento da doença e métodos que produzam resultados tão reais quanto possíveis. EGAN (1971a), também, é de opinião que há diferença nos "strains" de *X. albilineans* nos vários países produtores de açúcar, pois ocorre o fato de que variedades altamente resistentes em um país, podem ser totalmente suscetíveis em outro.

RICAUD e PAULO (1970) afirmam que a quebra na resistência de uma variedade pode ser devida a uma mudança na população do patógeno, resultando na dominância de um isolado de maior agressividade. Os autores consideram que tal comportamento é responsável pela presente epifitotia de escaldadura das folhas em Mauritius, onde muitas variedades previamente consideradas resistentes têm apresentado desenvolvimento da doença. Esta conclusão concorda com PERSLEY (1973a) que, trabalhando com 4 isolados de *X. albilineans*, afirma que estes mostraram considerável variação na agressividade em muitas variedades. Isto indica, segundo o autor, que a população de *X. albilineans* não é homogênea. A existência de isolados com diferentes agressividades tem implicação na epifitotia da doença e na seleção de variedades resistentes.

A escaldadura das folhas, relata KOIKE (1968), é uma doença cujo sintoma pode ser severo ou não de acordo com certas condições. Muitas vezes a planta doente pode não apresentar sintomas visíveis.

Uma das dificuldades na identificação de plantas atacadas pelo agente da escaldadura advém, segundo TOKESHI (1980), do fato destas apresentarem três tipos básicos de sintomas. O sintoma latente é o que preva-

lece na maioria dos casos e com maior frequência em variedades comerciais tolerantes ao patógeno que são portadoras, sem sintomas externos. Internamente em colmos maduros observa-se, ocasionalmente, descoloração vascular na região nodal e que se assemelha àquela descrita como vírgula, no nó em plantas com ataque de raquitismo da soqueira.

STEINDL (1971) afirma que, devido ao sintoma latente, a doença é mascarada por um longo período na planta, sendo portanto difícil estar certo de que o material a ser plantado está livre do patógeno.

MARTIN e ROBINSON (1961) descreveram os sintomas causados por *X. albilineans* em 2 fases distintas: a fase crônica e a fase aguda, e afirmam que antes da descoberta da etiologia da escaldadura das folhas, as duas fases eram consideradas como doenças distintas.

O sintoma crônico, segundo TOKESHI (1980), é aquele no qual aparecem estrias brancas, finas ou largas que se estendem por extensas áreas do limbo foliar, podendo atingir a bainha. Estas estrias podem evoluir para diversos graus de clorose foliar de bordos indefinidos até a necrose das folhas mais atacadas. Nos colmos afetados há, geralmente, brotações laterais iniciando de preferência nas gemas basais. Cortando-se o colmo brotado lateralmente observa-se, na região nodal, descoloração vascular do xilema que, neste caso, tende a se estender pelo nó, podendo atingir o entre-nó. Sintomas agudos só ocorrem em variedades suscetíveis ou variedades de resistência intermediária como a NA 56-79, em condições extremamente favoráveis ao patógeno. Neste caso, há queima das folhas como se a planta tivesse sido escaldada, às vezes sem manifestar sintomas crônicos de brotação lateral do colmo. É frequente a manifestação dos sintomas agudos de colmos em germinação causando a morte dos brotos e falhas nos campos plantados com mu

das doentes. Os sintomas causados por *X. albilineans* podem ser confundidos com sintomas de estrias cloróticas, *Fusarium moniliiforme*, raquitismo da soqueira, injúria de frio e toxina de cigarrinha das folhas.

DAL PICCOLO *et alii* (1980) trabalhando com herbicida Round-up em cana-de-açúcar, verificaram que touceiras vizinhas àquelas que receberam aplicação do produto apresentavam mal formações e estrias brancas nas folhas, semelhantes àquelas causadas pela escaldadura das folhas.

Os dados de literatura são contraditórios e, segundo TOKESHII (1980), há evidências da ocorrência de interação entre as bactérias habitantes do xilema, fato que poderia explicar o caráter errático do aparecimento dos sintomas agudos em canaviais suscetíveis. Dependendo das condições ambientes, variedades suscetíveis podem estar contaminadas e não exibirem sintomas agudos durante anos e só mostrarem a sua suscetibilidade quando cultivadas em larga extensão.

ARRUDA (1944) e MASUDA (1980) observaram um fenômeno bastante comum em escaldadura das folhas que é a recuperação de sintomas. Segundo ARRUDA (1944), cultivares com resistência de campo mostraram, inicialmente, uma alta porcentagem de infecção, mas recuperaram-se rapidamente e os sintomas desapareceram. Este fato foi também observado por KOIKE (1965b) quando duas cultivares classificadas como resistentes, mostraram sintomas da doença 3 semanas após a inoculação, mas os sintomas tinham praticamente desaparecido ao final de 6 semanas, enquanto que duas cultivares moderadamente suscetíveis mostraram sintomas severos da doença somente nas folhas inoculadas, sendo que as folhas novas, não inoculadas, apresentaram-se sem sintomas.

Segundo DANTAS (1956), a transmissão de *X. albilineans* é

feita facilmente por meios mecânicos, mas não o é por inseto. O autor afirma que estaca oriunda de colmo doente dá origem a colmo doente, embora a porcentagem de transmissão não seja muito elevada'. A ocorrência da moléstia em "seedlings" locais deixa evidente que deve existir outro meio de transmissão na natureza.

HUTCHINSON e ROBERTSON (1953) suspeitam que ratos são capazes de transmitir o patógeno *X. albilineans* para plantas sadias. Observações de campo confirmam este fato e salientam que são eficientes vetores.

AKIBA (1978) afirma que o facão de corte utilizado na colheita da cana-de-açúcar não só transmite a bactéria de planta para planta como também possibilita, com sua (da bactéria) prolongada viabilidade ( 6 dias), disseminar a bactéria a longa distância. Segundo TOKESHI (1980), *X. albilineans* é transmitida principalmente por mudas contaminadas, facões de corte e colhedoras mecânicas.

Um método de isolamento para a bactéria *X. albilineans* foi desenvolvido por MASUDA e TOKESHI (1978), o qual consiste basicamente em se observar a exsudação da bactéria em secções de folhas de cana-de-açúcar, com o auxílio de uma lupa e retirar-se uma gota do exsudado com uma pipeta de Pasteur e fazer-se a riscagem do material coletado sobre meio de Wilbrink.

AKIBA (1978) afirma que o "Método da pipeta" para isolamento direto da bactéria proporciona isolamento com grande facilidade de obtenção de culturas puras tanto de materiais doentes de folhas com pequenas estrias como das grandes necroses, assim como dos feixes vasculares de colmos infectados.

Para *X. albilineans*, PERSLEY (1972) recomenda que as pla-

cas de Petri inoculadas devem ser incubadas a uma temperatura de 28°C.

*Xanthomonas albilineans* tem melhor crescimento em meio de Wilbrink embora seja de crescimento lento (TOKESHI, 1980).

Procurando uma composição de nutrientes que diminuísse o tempo de incubação e favorecesse o desenvolvimento da bactéria, AKIBA (1978) experimentou várias fontes de aminoácidos e vitaminas, resultando a elaboração de um novo meio que foi identificado como meio de Wilbrink modificado 2 (W-2).

Trabalhando com quantidades de vitamina B em ingredientes de meio de cultura microbiológica, STOKES *et alii* (1944) afirmam que as substâncias neopeptona, proteose-peptona e tryptose apresentam maior abundância em vitaminas do complexo B que a peptona e tryptona.

Segundo BREED *et alii* (1957), a bactéria *X. albilineans* cresce pobremente em nutriente agar. O crescimento é melhor, mas ainda pouco em 2% de sacarose, 1% de peptona agar e requer ácido glutâmico e metionina para crescer.

PANAGOPOULOS (1969) afirma que a bactéria *Xanthomonas albilineans* pode crescer em uma solução de sais, cloreto de amônia e glucose ou galactose, contanto que se adicione ácido glutâmico (0,1%) e metionina.

Para os testes de patogenicidade da bactéria e reprodução dos sintomas de doença, North (1925) (citado por AKIBA, 1978) afirma a necessidade de facilitar o acesso aos tecidos embrionários em estado ativo de crescimento. Assim, o autor utilizou com grande sucesso, a injeção de suspensão de bactérias através de seringas hipodérmicas na extremidade de plantas em estado ativo de crescimento.

BELL (1935) desenvolveu técnicas especiais de inoculação

para reprodução do quadro sintomológico com algum sucesso.

Métodos de inoculação foram testados por ANTOINE e RICAUD (1961), que obtiveram como resultado, para plantas inoculadas acima do ponto de crescimento, 50% das plantas com severos sintomas de doença e 2% de plantas com sintomas quando inoculadas no topo. Dois meses após a inoculação, a doença se tornou sistêmica em 25% das plantas inoculadas acima do ponto de crescimento e em apenas 5% das plantas inoculadas no topo.

Os métodos de inoculação para *X. albilineans* usados no passado têm, segundo KOIKE (1965a), sido insatisfatórios. Com o método da injeção sob pressão às vezes a bactéria torna-se insuficientemente estabelecida devido à competição ou inibição por outros organismos invasores, provavelmente às extremidades cortadas não protegidas. Segundo o autor, os métodos de inoculação para *X. albilineans* que usam a capa de alumínio após a inoculação, minimizam infecções nos cortes por organismos do solo.

EGAN (1968) utilizando o método da capa de alumínio para teste de resistência à escaldadura das folhas em cana-de-açúcar, afirma que o número e o tipo de riscas produzidas nas folhas de plantas inoculadas mostraram pouca correlação com a relativa suscetibilidade, embora variedades resistentes tendessem a produzir sintomas pouco definidos. Segundo o autor, consegue-se separar variedades resistentes de variedades altamente suscetíveis, porém é impossível separar grupos de variedades intermediárias e suscetíveis ao patógeno. Sob as condições de Queensland a modificação no método da capa de alumínio oferece um rápido e eficiente meio de seleção de variedades resistentes e altamente suscetíveis. Os métodos para teste de resistência variam de país para país, mas nenhum é plenamente satisfatório.

Trabalhando com três métodos de inoculação para *X. albi-*

*lineans* e 138 variedades de cana-de-açúcar, WISMER (1969) concluiu que os sintomas foram mais severos em 7,6% de plantas inoculadas com o método da capa de alumínio; 17,9% com o método do algodão e 46,2% com o método de injeção sob pressão. O autor afirma que é muito difícil correlacionar reação de variedades a doenças por inoculação artificial com suas reações no campo. Isto porque algumas variedades mostram sintomas nas folhas quando inocula - das artificialmente com *X. albilineans* e podem permanecer sem sintomas quan do plantadas no campo. Entretanto outras variedades com semelhantes testes de reação podem mostrar severos sintomas de escaldadura das folhas no campo.

KOIKE (1971) relata que o uso de inóculo constituído de caldo de cana-de-açúcar retirado de plantas doentes, ou da mistura neste cal do, de bactéria proveniente de cultura pura, diluída em água, tem sido a prá tica rotineira na avaliação de resistência varietal. Porém VALDEBENITO (1979) conclui que o uso de caldo bruto de plantas de cana-de-açúcar com es caldadura das folhas, como inóculo, não é adequada para testes de resistên cia de cultivares.

Uma técnica quantitativa para inoculação de plantas de cana-de-açúcar com *X. albilineans* é descrita por NORSE (1973), que chama a atenção para o fato de que na interpretação dos resultados de inoculação a través de sintomas internos deve-se levar em consideração que a bactéria *X. albilineans* não é o único patógeno a causar descoloração vascular em cana - -de-açúcar.

A inoculação de *X. albilineans* na concentração aproxima da de  $10^8$  células/ml feita em direção da gema apical permitiu separar clo nes de RB em 80% de plantas resistentes, 6% de intermediárias e 14% suscetí veis (PLANALSUCAR, 1976).

*X. albilineans* inoculada a partir de cultura pura, em concentração determinada, a 5 cm acima do meristema apical e a avaliação dos sintomas internos pela quantificação dos feixes vasculares descoloridos permite, segundo AKIBA (1978), a separação de variedades resistentes, tolerantes e suscetíveis. A concentração de células bacterianas no inóculo de *X. albilineans* interfere na avaliação da resistência varietal e uma concentração de inóculo de  $8.10^5$  células/ml, nas condições em que foi realizado o experimento, permite que a colonização dos feixes vasculares sejam observá - veis uniformemente em todas as variedades suscetíveis e possibilita avaliação quantitativa da resistência da variedade a níveis comparáveis aos obtidos em condições de campo.

MASUDA (1980), em pesquisas feitas com *X. albilineans*, concluiu que a concentração da bactéria de aproximadamente  $8.10^1$  células / ml é suficiente para induzir sintomas de escaldadura das folhas na cultivar NA 56-79 e que o número de plantas com sintomas nesta mesma cultivar é diretamente proporcional à concentração de *X. albilineans* inoculada.

Para avaliação dos sintomas externos desenvolvidos pela *X. albilineans*, HUTCHINSON (1968) estabelece graus de suscetibilidade e resistência ao patógeno. Os graus estabelecidos pelo autor variam de 1 - alta resistência a 9 - extrema suscetibilidade.

BISESSAR (1970) avalia resistência à escaldadura das folhas usando uma escala de notas que varia de 1 - altamente resistente a 9 - extremamente suscetível e que corresponde de 1 a 100% de folhas com sintomas externos da doença.

Embora para avaliação de resistência à escaldadura das folhas seja generalizado o uso dos sintomas externos, AKIBA (1978) recomen-

da a observação do sintoma interno por considerá-lo característica mais estável, apesar de outros organismos, entre eles bactérias da microflora natural de cana-de-açúcar, poderem induzir estes sintomas. O autor relata que a avaliação dos feixes vasculares descoloridos é mais fácil na base do colmo independente da quantidade de células bacterianas inoculadas.

CONTRELL-DORMER (1935) afirma que ocorre variabilidade na resistência varietal de cana-de-açúcar à escaldadura das folhas. Segundo o autor, Shelpherd (1931) concluiu que a variedade Malabar (White Tanna) é mais suscetível e menos tolerante à escaldadura das folhas em Mauritius do que na Austrália.

Em Alagoas, a variedade CB 45-3 mostrou-se resistente e a variedade CB 41-76 mostrou uma resistência intermediária à *X. albilineans*, (PLANALSUCAR, 1975).

A variedade de cana-de-açúcar Co 331 foi a variedade que mostrou maior resistência à *X. albilineans* quando avaliada pelos sintomas externos e internos (AKIBA, 1978).

PLANALSUCAR (1980) dá reações das variedades de cana-de-açúcar à escaldadura das folhas e cita CB 45-3 como resistente, CB 41-76 como suscetível e NA 56-79 como tendo resistência intermediária. Porém, afirma que poderá ser encontrado comportamento diferente do apresentado, devido a vários fatores como potencial de inóculo, fatores climáticos, raças do agente causal e método usado para o teste de resistência.

São citados por MARTIN e ROBINSON (1961), alguns hospedeiros como o milho (*Zea mays* L.), bambu (*Bambusa vulgaris* Schrad), sorgo selvagem (*Sorghum verticilliflorum* [(Stend) Stapf]), capim colônia (*Panicum maximum* Jacq.) e capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum), etc..

PERSLEY (1973b) verificou a ocorrência natural de *X. albilineans* em gramíneas no Queensland. Segundo o autor, o patógeno foi encontrado em *Brachiaria piligera*, *Imperata cylindrica* var. *major* e *Paspalum conjugatum*. Os isolados de *X. albilineans* foram obtidos de gramíneas e sua identidade confirmada pela patogenicidade e testes bioquímicos.

São citadas como plantas passíveis de serem contaminadas artificialmente o milho, sorgo, *Sorghum halepense*, capim elefante, erva cidreira e *Panicum maximum* (TOKESHI, 1980).

EGAN (1968) afirma que um controle efetivo para a escaldadura das folhas é o uso de variedades resistentes, embora os testes para resistência variem de país para país e nenhum seja completamente satisfatório.

Fontes de resistência à escaldadura das folhas parecem estar confinadas em clones de *Saccharum spontaneum* ou são derivadas deles. Clones de *S. robustum* e *S. officinarum* tendem a ser completamente suscetíveis embora alguns possuam considerável resistência no campo à escaldadura das folhas (EGAN, 1971b).

AKIBA (1978) afirma que *X. albilineans* apresenta estirpes com diferentes pontos de inativação térmica e que há fortes indicações de ter este processo selecionado e ainda estar selecionando estirpes termoresistentes.

Segundo TOKESHI (1980), a maioria das estirpes é resistente à termoterapia empregada para o controle do raquitismo da soqueira.

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no Departamento de Fito patologia da ESALQ/USP - Piracicaba, e os colmos de cana-de-açúcar usados nos testes foram fornecidos pela Estação Experimental da PLANALSUCAR (Ara - ras-SP).

A seguir serão descritos os materiais e métodos gerais, sendo que as informações específicas serão feitas junto à descrição de cada experimento.

##### 4.1. Isolamento de *Xanthomonas albilineans*

A bactéria *X. albilineans* (Ashby) Dowson foi isolada de folhas de cana-de-açúcar da variedade NA 56-79 exibindo sintomas da doença (listras brancas nas folhas).

O método de isolamento foi o da "pipeta de Pasteur" , onde pequenos pedaços de 0,50 cm<sup>2</sup> de folhas de cana-de-açúcar, previamente desinfectados, são imersos em gotas de água destilada e esterilizada, na superfície de uma placa de Petri esterilizada e levada ao microscópio estereoscópico para se focalizar a exsudação da bactéria. Feito isto a coleta de células bacterianas foi feita por capilaridade, diretamente deste local (MASUDA e TOKESHI, 1978) utilizando-se micropipetas para hematócrito, esterilizadas.

A suspensão bacteriana foi depositada em placas com meio de cultura de Wilbrink modificado (Neopeptonã 5,0 g; sacarose 10,0 g; fosfato de potássio (dibásico) 0,5 g; sulfato de magnésio 0,25 g; agar 15,0 g e 01 litro de água destilada), segundo AKIBA (1978) para purificação do patógeno. As placas foram conservadas em ambiente a mais ou menos 28°C. Quando as colônias da bactéria eram visíveis a olho nu elas eram repicadas para outras placas com meio de Wilbrink modificado e eram também mantidas em ambiente a mais ou menos 28°C e após 5 a 7 dias obtinham-se cultivos puros da bactéria.

As culturas originais foram mantidas em placas e tubos de ensaio com meio de Wilbrink modificado e conservadas em freezer e geladeira respectivamente.

#### 4.2. Experimentos

Nos experimentos de meio de cultura utilizou-se o meio basal de Wilbrink cuja composição foi:

K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>..... 0,5 g

MgSO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O.....	0,25 g
Sacarose .....	10,0 g
Agar.....	15,0 g
Água destilada.....	1000 ml

#### 4.2.1. Influência de diferentes fontes de nitrogênio orgânico no crescimento de *X. albilineans*

Foi usado no Experimento I o meio de cultura basal de Wilbrink variando-se a fonte de nitrogênio orgânico: neopeptona, peptona , soytona, tryptona e proteose peptona (DIFCO), na doses de 5,0 g/l totalizando 5 tratamentos com 5 repetições cada um, e o delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado, uma vez que as condições de laboratório foram sempre uniformes.

O pH dos meios variou de 6,8 a 7,0 e o experimento foi feito em placas de Petri, tendo como inóculo 0,1 ml por placa de uma suspensão bacteriana com 63% de transmitância no Colorímetro Bausch & Lomb Spectronic 20 a 580 nm.

A avaliação do experimento foi feita no 5º dia após a inoculação e as placas de Petri ficaram em um ambiente com temperatura a  $\pm 28^{\circ}\text{C}$ .

De cada placa era feita uma suspensão bacteriana utilizando-se 50 ml de água destilada. A suspensão obtida era diluída em água destilada na razão de 1:10 antes da leitura em Colorímetro onde se quantificava sua turbidez.

#### 4.2.2. Influência da concentração de sacarose e soytona no crescimento de *X. albilineans*

No Experimento II utilizou-se meio basal de Wilbrink, variando-se a concentração de sacarose (10, 20 e 40 g/l) e soytona (5, 10 e 20 g/l). A suspensão bacteriana apresentava uma transmitância de 63% no Colorímetro Bausch & Lomb Spectronic 20 e 625 nm. Segundo AKIBA (1978) uma suspensão bacteriana com 60% de transmitância no Colorímetro Bausch & Lomb Spectronic 20 a 625 nm equivale aproximadamente a  $8 \times 10^8$  células/ml para a bactéria *X. albilineans*.

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado com 9 tratamentos e 3 repetições.

As placas foram inoculadas como descrito anteriormente e foram mantidas a uma temperatura de  $\pm 30^{\circ}\text{C}$ .

A avaliação dos ensaios foi feita como no ensaio anterior.

#### 4.2.3. Influência da alta concentração de sacarose no crescimento de *X. albilineans*, usando-se duas fontes de nitrogênio

No Experimento III foi usado o meio basal de Wilbrink, fixando-se 2 fontes de nitrogênio (peptona e neopeptona) na dose de 5 g/l e variando-se as doses de sacarose desde 10 g/l (concentração original do meio de Wilbrink) até 160 g/l cada dose sendo o dobro da anterior (10, 20,

40, 80 e 160 g/l).

Usaram-se 160 g de sacarose por litro tomando por base que o teor de sacarose na cana madura, para o Estado de São Paulo, é em média de 15,5% (DELGADO e CESAR, 1977).

O pH dos meios variou de 6,8 a 7,0.

A metodologia de inoculação das placas e avaliação do experimento foi a mesma utilizada nos ensaios anteriores.

A suspensão bacteriana apresentava 70% de transmitância a 580 nm no Colorímetro Bausch & Lomb Spectronic 20 e as placas foram mantidas em condições ambientes a  $\pm 30^{\circ}\text{C}$ .

O delineamento estatístico utilizado foi o inteiramente casualizado com 10 tratamentos e 3 repetições.

#### 4.2.4. Influência do corte das folhas e do uso da capa de alumínio na eficiência do método de inoculação para algumas variedades de cana-de-açúcar

O Experimento IV foi instalado em casa de vegetação e utilizaram-se as seguintes cultivares: H60-6909, NA 56-79, CB 47-355 e CB 41-76 (Reação das variedades à *X. albilineans* - Tabela 1).

As plantas foram cultivadas a partir de gemas individualizadas e tratadas com água quente a  $50,5^{\circ}\text{C}$  durante 02 horas. Após o tratamento térmico as gemas foram imersas em uma calda com fungicida Benomyl a 0,5%.

TABELA 1 - Classificação de resistência de variedades de cana-de-açúcar em testes de inoculação com *X. albilineans*.

Variedades	Notas*	Reações*	Referências
CB 41-76	8	S	PLANALSUCAR (1980)
		S	COPERSUCAR (1981)
		R ou T	TOKESHI (1980)
CB 45-3	2	R	PLANALSUCAR (1980)
		R ou T	TOKESHI (1980)
CB 47-89	2	R	PLANALSUCAR (1980)
		S	COPERSUCAR (1981)
CB 47-355	2	R	PLANALSUCAR (1980)
		S	COPERSUCAR (1981)
		R ou T	TOKESHI (1980)
CB 49-260	5	I	PLANALSUCAR (1980)
CP 51-22	5	I	PLANALSUCAR (1980)
		S	COPERSUCAR (1981)
H60-6909	-	-	----
NA 56-79	5	I	PLANALSUCAR (1980)
		S	COPERSUCAR (1981)
		T ou S	TOKESHI (1980)

\*nota (1 a 3) = 2 Resistente (R)

(4 a 6) = 5 Intermediária (I)

(7 a 8) = 8 Suscetível (S)

Tolerante (T)

- reação e referência desconhecidas

Uma pré-germinação das gemas foi feita em incubadora e posteriormente em caixas com areia. Quando os brotos atingiam cerca de 15 cm de comprimento, as gemas foram transplantadas para vasos de alumínio (uma gema por vaso).

O ensaio foi composto de 12 tratamentos com 20 repetições cada um.

A análise estatística foi feita utilizando-se o teste  $\chi^2$  (Qui-quadrado) GOMES (1963).

A inoculação das plantas foi feita com injeção sob pressão utilizando-se seringa hipodérmica e agulha obliterada na extremidade, com abertura lateral. Em cada planta injetou-se cerca de 1 ml da suspensão bacteriana com 61% de transmitância a 625 nm no colorímetro Bausch e Lomb Spectronic 20.

As plantas foram inoculadas cerca de 40 dias após a emergência dos brotos e mediam aproximadamente 35 cm até a altura do vértice foliar.

A suspensão bacteriana foi injetada no palmito foliar, a 5 cm acima do meristema apical da planta, até o inóculo extravasar na região do vértice foliar.

Os métodos de inoculação utilizados foram: inoculação em plantas sem cortes das folhas ( $M_1$ ), inoculação em plantas com corte das folhas e sem capa de alumínio ( $M_2$ ) e inoculação com corte das folhas e com capa de alumínio ( $M_3$ ). As testemunhas foram inoculadas com água destilada e esterilizada.

As capas de alumínio foram colocadas logo após a inoculação das plantas e retiradas uma semana após. As leituras de sintomas ex-

ternos nas plantas começaram a ser feitas 21 dias após a inoculação. A leitura dos sintomas internos foi feita 6 meses após a inoculação.

Para se avaliarem os sintomas externos nas folhas foi usada uma escala de notas que varia de 0 a 4, sendo: 0 (zero) - ausência de sintomas; 1 - estrias brancas e finas; 2 - estrias largas e amareladas; 3 - estrias largas, amareladas e necrosadas e 4 - planta morta (Figuras 1 a 4).

Foi também avaliada a frequência de sintomas internos através de cortes sucessivos no colmo procurando-se observar a presença de vasos descoloridos.

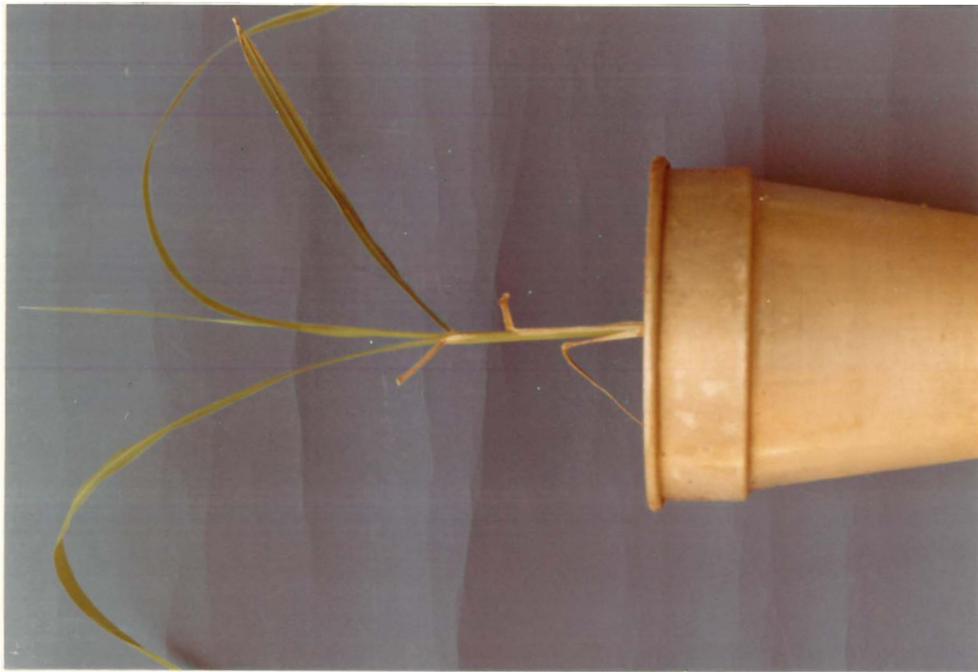


Figura 01 - Planta de cana-de-açúcar com nota 0 (zero) - ausência de sintomas nas folhas



Figura 02 - Planta de cana-de-açúcar com nota 1 - presença de estrias brancas e finas nas folhas



Figura 03 - Planta de cana-de-açúcar com nota 2  
- presença de estrias largas e amareladas nas folhas



Figura 04 - Planta de cana-de-açúcar com nota 3  
- presença de estrias largas, amareladas e necrosadas nas folhas

4.2.5. Influência do uso da capa de alumínio na eficiência do método de inoculação, para algumas cultivares de cana-de-açúcar cujo palmito foi cortado na altura do vértice foliar

O Experimento V foi instalado em casa de vegetação e utilizaram-se as variedades de cana-de-açúcar NA 56-79, CB 47-355, CP 51-22, CB 41-76, CB 45-3, CB 49-260 e CB 47-89, cuja reação à *X. albilineans* encontra-se na Tabela 1.

O ensaio foi montado em vasos (uma planta por vaso) e totalizou 14 tratamentos (7 cultivares x 2 métodos de inoculação) com 8 repetições cada um.

A análise estatística foi feita pelo teste  $\chi^2$  (Qui-  
-quadrado) como no caso anterior, porém as variedades foram agrupadas para análise, pois esse teste apresenta algumas restrições que devem ser respeitadas para se poder aplicá-lo.

Para a obtenção das plantas a partir das gemas seguiu-se a mesma metodologia do ensaio anterior.

A suspensão bacteriana apresentou 61% de transmitância no colorímetro Bausch e Lomb Spectronic 20 a 625 nm.

A inoculação das plantas foi feita com injeção sob pressão no palmito foliar, como no Experimento IV, e as plantas foram cortadas a  $\pm 3$  cm abaixo do vértice foliar. A altura das plantas (do solo até o vértice foliar) foi em média 32 cm e o diâmetro do palmito foliar na altura do corte foi de 0,5 cm.

Os métodos de inoculação utilizados foram: com corte do palmito foliar e sem capa de alumínio (M<sub>1</sub>) e com corte do palmito foliar e com capa de alumínio (M<sub>2</sub>).

A retirada da capa de alumínio e as leituras seguiram a mesma metodologia do ensaio anterior.

A leitura dos sintomas externos nas folhas começou a ser feita duas semanas após a inoculação e era feita semanalmente até que a maioria das notas dadas permanecessem constantes. A avaliação dos sintomas internos foi feita 6 meses após a inoculação.

#### 4.2.6. Inoculação de *Xanthomonas albilineans* em variedades de cana-de-açúcar, milho e sorgo

O Experimento VI foi montado em vasos sendo que cada um continha uma planta.

As variedades utilizadas foram para cana-de-açúcar: NA 56-79, CB 45-3 e CB 41-76; para milho: Composto milho doce e Doce de Cuba provenientes do Departamento de Genética da ESALQ-USP; para sorgo: sorgo sa carino cultivar contibrandes e sorgo granífero híbrido Contiouro ambos pro venientes da Contibrasil, Cravinhos - SP.

O ensaio foi composto de 7 tratamentos com 9 repetições cada um.

A análise estatística foi feita como no Experimento V.

A suspensão bacteriana apresentava 60% de transmitância no colorímetro Bausch & Lomb Spectronic 20 a 625 nm e a inoculação foi feita com injeção sob pressão, no palmito foliar, a 5 cm do meristema apical.

Fez-se o corte das folhas próximo ao palmito foliar e inoculou-se cerca de ml da suspensão bacteriana por planta,

A altura das plantas, do solo até o vértice foliar, foi para o milho e a cana 30 cm e para o sorgo 20 cm.

A leitura dos sintomas externos teve início no 12º dia após a inoculação das plantas. Foram feitas leituras semanais até que as notas dadas permanecessem constantes.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados serão apresentados sepradamente de acordo com cada experimento.

### 5.1. Influência de diferentes fontes de nitrogênio orgânico no crescimento de *Xanthomonas albilineans*

Os resultados obtidos no Experimento I, utilizando-se diferentes fontes de nitrogênio orgânico no desenvolvimento de *X. albilineans* acham-se expressos no QUADRO 01.

Analisando-se os dados observa-se que, embora *X. albilineans* tenha crescido em todas as fontes de nitrogênio orgânico utilizadas, houve variação entre as médias dos tratamentos ao nível de 5% pelo teste Tukey.

O meio basal de Wilbrink (MBW) adicionado de neopepto-

na como fonte de nitrogênio orgânico foi superior aos outros tratamentos propiciando um melhor crescimento de *X. albilineans*.

AKIBA (1978) também cita que a neopeptona é melhor que a peptona como fonte de nitrogênio e interpretou esse fato como sendo devido a maior riqueza em aminoácidos principalmente metionina e ácido glutâmico, uma vez que PANAGOPOULOS (1969) determinou que *X. albilineans* requer para crescimento metionina e ácido glutâmico.

O meio de Wilbrink com peptona como fonte de nitrogênio, embora sendo o mais usado até o momento, mostrou-se inferior a qualquer outro dos meios testados.

De uma maneira geral a peptona apresenta em sua composição menor quantidade de aminoácidos (triptofano, tirosina e cistina, MANUAL DIFCO, 1953) que as outras fontes de nitrogênio utilizadas no Experimento. Conclui-se que é importante não só a qualidade como também a quantidade dos aminoácidos no meio de cultura.

QUADRO 01 - Influência de fontes de nitrogênio orgânico em meio basal de Wilbrink, no crescimento de *X. albilineans*. Experimento I.

TRATAMENTOS	Transmitância* (%) da suspensão bacteriana					Médias
	Repetições					
	I	II	III	IV	V	
1. MBW + Neopeptona	56	60	57	57	56	57,2 c
2. MBW + Peptona	76	73	78	77	73	75,4 a
3. MBW + Soytona	70	71	71	69	70	70,2 a
4. MBW + Tryptona	61	65	56	65	59	61,2 bc
5. MBW + Proteose peptona	62	65	64	71	59	64,2 b

MBW - meio basal de Wilbrink

As médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste Tukey

\* Colorímetro Bausch & Lomb a 580 nm.

CV = 4,49

5.2. Influência da concentração de sacarose e soytona no crescimento de *X. albilineans*.

Os resultados obtidos no Experimento II encontram-se expressos no APÊNDICE 01 e no Quadro 02. Analisando-se o Quadro 02 concluiu-se, devido à diferença significativa ao nível de 5% pelo teste Tukey, que quando se usa soytona como fonte de nitrogênio orgânico no meio basal de Wilbrink (MBW) a melhor dose desta substância é 20 g por litro de meio, isto independente das doses de sacarose 10, 20 e 40 g/litro. Concluiu-se que à medida que se aumenta a concentração de sacarose (até 40 g/litro) observa-se um melhor crescimento da bactéria.

No meio comum de Wilbrink, isto é, quando se usa peptona como fonte de nitrogênio orgânico, é recomendado se colocar 5 g/litro de meio. Nessa é provável que, como no caso do uso de soytona (5 g/litro), o meio de Wilbrink não esteja em perfeito equilíbrio de maneira a proporcionar um melhor crescimento de *X. albilineans*, ou seja, o meio não esteja no seu ponto de máximo rendimento com relação ao crescimento da bactéria.

Com relação à dose de sacarose dentro da dose de soytona observa-se que a melhor dose foi 40 g por litro nas dose 10 e 20 de soytona e para dose 5 g de soytona/litro a melhor dose de sacarose foi 10 g. A ordem da dose de sacarose para melhor crescimento da bactéria depende da dose de soytona, isto talvez devido haver uma melhor combinação carbono/nitrogênio que favoreça o crescimento de *X. albilineans*.

QUADRO 02 - Influência da concentração de sacarose e soytone no crescimento de *X. albilineans*.  
Experimento II.

SOYTONA g/l	Transmitância <sup>1*</sup> (%) da suspensão bacteriana			médias*
	Sacarose (g/l)			
	10	20	40	
5	57,66 a B	67,00 a A	62,66 a AB	62,44 c
10	49,00 b A	46,66 b AB	42,66 b B	46,11 b
20	41,66 c AB	43,00 b A	36,33 c B	40,33 a
médias	49,44 a	52,22 b	47,22 a	

<sup>1</sup> - média de 3 repetições

\* - médias seguidas pela mesma letra (maiúscula, para doses de sacarose dentro de doses de soytone) não diferem estatisticamente ao nível de 5%

\* Colorímetro Bausch & Lomb a 625 nm.

### 5.3. Influência da alta concentração de sacarose no crescimento de *X. albilineans* usando-se 2 fontes de nitrogênio

Os resultados obtidos no Experimento III encontram-se expressos no APÊNDICE 03 e QUADRO 03.

Analisando-se o QUADRO 03 verificam-se os efeitos da peptona e neopeptona como fonte de nitrogênio para o meio basal de Wilbrink e a influência da dose crescente de sacarose e observa-se mais uma vez a superioridade da neopeptona em relação à peptona para as doses 10, 20 e 80 g de sacarose/litro no que diz respeito ao crescimento de *X. albilineans*. Isto pode ser explicado pelo fato da neopeptona apresentar em sua composição maior abundância em vitaminas do complexo B que a peptona (STOKES *et alii*, 1944) e também ser uma fonte de nitrogênio mais rica em aminoácidos, principalmente metionina e ácido glutâmico (AKIBA, 1978). Na dose 40 g de sacarose/litro não houve diferença significativa ao nível de 5% pelo teste Tukey.

Observa-se ainda (QUADRO 03) que na dose de 160 g de sacarose por litro não ocorreu crescimento da bactéria independente da fonte nitrogenada. O fato da bactéria *X. albilineans* não se desenvolver na concentração de 160 g de sacarose por litro de meio, concentração essa que pode ser atingida em caldo de cana madura (DELGADO e CESAR, 1977), leva a pensar que a bactéria esteja inativa no caldo de cana no momento da colheita e segundo TOKESHI (1980) a bactéria *X. albilineans* é encontrada na região nodal, cujo sintoma é uma descoloração vascular do xilema que pode se estender pelo nó, podendo atingir o entre nó e AKIBA (1978) afirma que a avaliação dos feixes vasculares descoloridos é mais fácil na base do colmo independente da quantidade de células bacterianas inoculadas.

QUADRO 03 -Influência da alta concentração de sacarose no crescimento de *X. albilineans*, usando-se 2 fontes de nitrogênio.

Sacarose g/l	Transmitância <sup>1**</sup> (%) da suspensão bacteriana		Médias*
	Peptona (g/l)	Neopeptona (g/l)	
	5	5	
10	82,33 bc	60,66 b	71,50 c
20	87,33 abc	62,33 b	74,84 c
40	79,66 c	68,66 b	74,16 c
80	95,00 ab	75,33 b	85,17 b
160	100,00 a	100,00 a	100,00 a

<sup>1</sup> - média de 3 repetições

\* - médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5%.

\*\* Colorímetro Bausch & Lomb a 580 nm.

#### 5.4. Influência do corte das folhas e da eficiência da capa de alumínio em métodos de inoculação para algumas variedades de cana-de-açúcar

Analisando-se os resultados encontrados no Apêndice 07 (teste  $\chi^2$  para plantas sadias e doentes) verifica-se que o método de inoculação sem corte nas folhas ( $M_1$ ) mostra que as variedades de cana-de-açúcar NA 56-79, H 60-6909 e CB 47-355 apresentaram uma maior resistência à *X. albilineans* que a variedade CB 41-76 que apresentou maior número de plantas doentes.

Esse resultado concorda em parte com a Tabela 1 principalmente quando diz respeito à variedade CB 41-76 a qual é classificada como variedade suscetível à *X. albilineans*. As variedades CB 47-355 e NA 56-79 são citadas, (dependendo da referência) como resistente, suscetível e intermediária. Essas controvérsias existem pois o comportamento de uma variedade com relação à resistência pode variar devido a fatores como: potencial de inóculo, fatores climáticos, raças do agente causal e método usado para o teste de resistência (KOIKE e ROGERS, 1967 e PLANALSUCAR, 1980).

Provavelmente as variedades NA 56-79, H 60-6909 e CB 47-355 apresentem uma resistência intermediária ao isolado de *X. albilineans* usado no Experimento.

No caso do método de inoculação com corte das folhas e sem capa de alumínio ( $M_2$ ), o teste  $\chi^2$  para plantas sadias e doentes (APÊNDICE 10) mostra que as variedades NA 56-79 e H 60-6909 tiveram o mesmo comportamento com relação a resistência à *X. albilineans* e as variedades CB 47-355 e CB 41-76 se comportaram igualmente. As variedades NA 56-79 e H 60-6909 mostraram uma maior resistência à *X. albilineans* que as variedades CB 47-355 e CB 41-76. Pelo método de inoculação  $M_2$  a variedade CB 47-355 apresentou maior número de plantas doentes quando comparada com o método de inoculação  $M_1$ , QUADRO 04.

O método de inoculação com corte das folhas e com capa de alumínio ( $M_3$ ) apresentou no teste  $\chi^2$  para plantas sadias e doentes (APÊNDICE 13) resultados diferentes dos anteriores.

Para esse método de inoculação  $M_3$  a variedade NA 56-79, H 60-6909 e CB 47-355 apresentaram o mesmo grau de resistência à *X. albili-*

QUADRO 04 - Influência de métodos de inoculação na manifestação de sintomas externos em 4 variedades de cana-de-açúcar a *X. albilineans*.

Variedades	Nº de plantas doentes* nos métodos de inoculação		
	Sem corte	Com corte	
		M <sub>1</sub>	Sem capa M <sub>2</sub>
NA56-79	9	4	7
H60-6909	8	4	3
CB47-355	7	10	8
CB41-76	15	15	13

*neans*. A variedade CB47-355 não diferiu também da variedade CB41-76 a qual se comportou diferentemente das variedades NA56-79 e H60-6909 que mostraram menor número de plantas doentes. Se fosse tomado como base apenas esse método de inoculação teríamos 3 grupos de variedades com relação ao comportamento quando inoculadas com *X. albilineans*: variedades NA56-79 e H60-69-09 com uma certa resistência, variedade CB41-76 suscetível e CB47-355 com resistência intermediária aos outros 2 grupos. Uma visão geral da eficiência dos 3 métodos de inoculação com relação ao número de plantas doentes, pode ser vista na Figura 05.

Pelos resultados obtidos fica difícil dizer qual método é mais eficiente com relação ao aparecimento de sintomas em plantas inoculadas com *X. albilineans*, porém, pelo lado prático o método de inoculação com corte das folhas permite um melhor manuseio das plantas durante a inoculação. EGAN (1968) afirma também que os métodos de inoculação para *X. albi-*

\* num total de 20 plantas inoculadas, ao fim de 12 semanas após a inoculação.

*lineans* variam, mas nenhum é plenamente satisfatório.

Analisando-se o APÊNDICE 05 verifica-se que para esta doença (escaldadura das folhas) ocorre um fenômeno chamado recuperação de sintomas, isto é, as plantas apresentam estrias brancas nas folhas (nota 1 ou 2) e semanas depois se mostravam sem sintoma algum. Isto foi também verificado por ARRUDA (1944), KOIKE (1956b) e MASUDA (1980). Esse fenômeno ocorreu para todas as variedades do Experimento IV e nos 3 métodos de inoculação (QUADRO 05).

Para o método de inoculação sem corte das folhas ( $M_1$ ) não houve diferença significativa (pelo teste  $x^2$  - APÊNDICE 08) entre as variedades no que diz respeito à recuperação de sintomas externos.

No caso do método de inoculação com corte das folhas e sem capa de alumínio ( $M_2$ ) houve diferença significativa entre as variedades no que diz respeito à recuperação de sintomas externos (APÊNDICE 11).

QUADRO 05 - Influência de métodos de inoculação na recuperação de sintomas externos em 4 variedades de cana-de-açúcar a *X. albilineans*.

Variedades	Nº de plantas doentes* nos métodos de inoculação		
	Sem corte	Com corte	
	$M_1$	Sem capa $M_2$	Com capa $M_3$
NA56-79	4	6	6
H60-6909	3	9	12
CB47-355	1	7	7
CB41-76	3	4	6

\* num total de 20 plantas inoculadas, ao fim de 12 semanas após a inoculação.

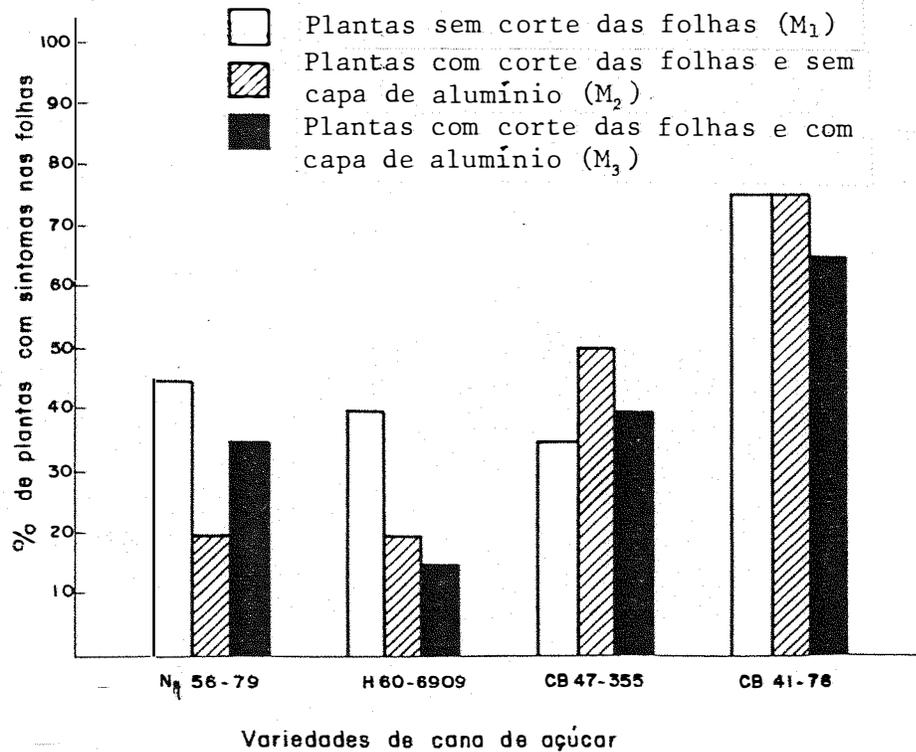


Figura 05 - Porcentagem de plantas com sintomas externos de escaldadura das folhas em 4 variedades de cana-de-açúcar utilizando-se 3 métodos de inoculação (M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> e M<sub>3</sub>)

As variedades H 60-6909 e NA 56-79 mostraram maior número de plantas que recuperaram sintomas externos da doença que a variedade CB 41-76.

A variedade CB 47-355 não mostrou diferença significativa (pelo teste  $\chi^2$ ) da variedade CB 41-76, CB 47-355 também não diferiu significativamente das variedades NA 56-79 e H 60-6909. Os resultados levam a concluir que uma variedade suscetível apresenta baixo número de plantas que recuperam sintomas enquanto que variedades de resistência intermediária apresentam um maior número de plantas doentes que recuperam os sintomas e são dadas como sadias no final do experimento, isto vem concordar com

KOIKE (1956b) que observou o mesmo fato.

Para o método de inoculação com corte das folhas e com capa de alumínio ( $M_3$ ) houve diferença significativa, pelo teste  $x^2$  (APÊNDICE 14), entre as variedades com relação à recuperação de sintomas externos.

A variedade H 60-6909 diferiu da variedade CB 41-76 por apresentar maior número de plantas que recuperaram os sintomas externos da doença. Essa variedade não diferiu significativamente, com relação à recuperação dos sintomas, das variedades NA 56-79 e CB 47-355 (Figura 06).

Com relação ao aparecimento de sintomas internos, os métodos de inoculação  $M_1$ ,  $M_2$  e  $M_3$  se comportaram de maneira semelhante (APÊNDICES 09, 12 e 15). As variedades NA 56-79, H 60-6909 e CB 47-355 mostraram um menor número de plantas com sintoma interno (descoloração vascular na região do nó) que a variedade CB 41-76 (QUADRO 06).

Para o método de inoculação  $M_1$  a variedade NA 56-79 não diferiu significativamente ao nível de 5% da variedade CB 41-76. (Figura 07)

QUADRO 06 - Influência de métodos de inoculação na manifestação de sintoma interno em 4 variedades de cana-de-açúcar a *X. albilineans*.

Variedades	Nº de plantas com sintoma interno* nos métodos de inoculação		
	Sem corte	Com corte	
		$M_1$	Sem capa $M_2$
NA56-79	12	8	5
H60-6909	8	3	4
CB47-355	8	3	4
CB41-76	17	15	12

\* num total de 20 plantas inoculadas, ao fim de 173 dias após a inoculação.

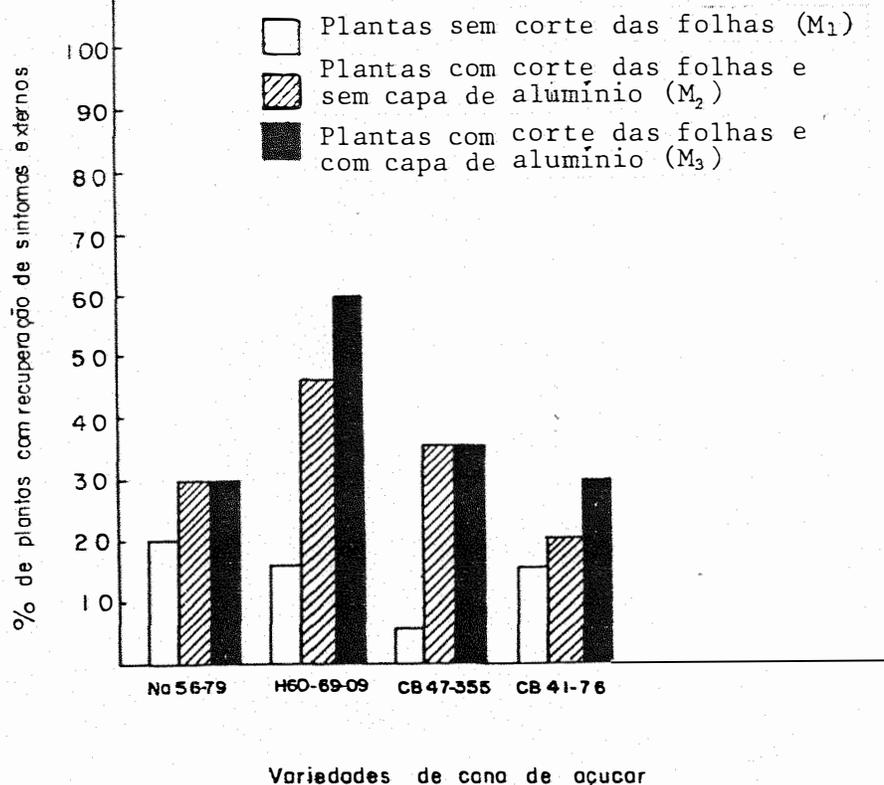


Figura 06 - Porcentagem de plantas com recuperação de sintomas externos de escaldadura das folhas em 4 variedades de cana-de-açúcar utilizando-se 3 métodos de inoculação (M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> e M<sub>3</sub>).

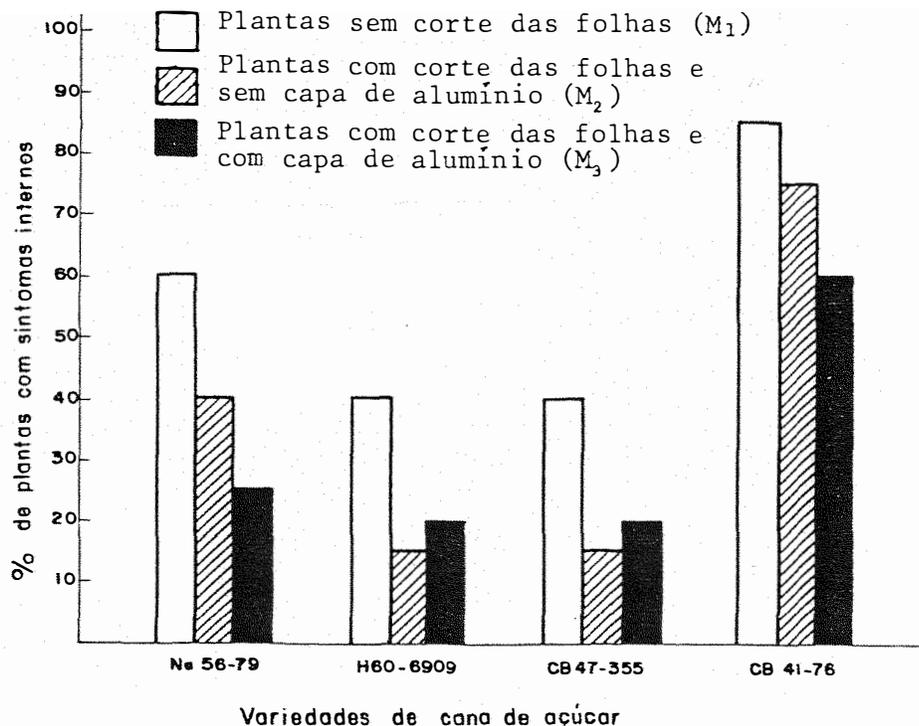


Figura 07 - Porcentagem de plantas com sintomas internos de escaldadura das folhas em 4 variedades de cana-de-açúcar utilizando-se 3 métodos de inoculação (M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> e M<sub>3</sub>).

Analisando-se os resultados obtidos pelo teste  $x^2$  para plantas sadias e doentes e aparecimento de sintomas internos (APÊNDICES 16 e 18) observá-se que os métodos de inoculação  $M_1$ ,  $M_2$  e  $M_3$  não mostraram diferença significativa no que diz respeito ao aparecimento de plantas doentes, isto significa que qualquer um dos 3 métodos de inoculação utilizados, para as variedades e isolado de *X. albilineans* do experimento, terá o mesmo efeito no que diz respeito ao aparecimento de sintomas externos e internos, apesar de KOIKE (1965a) ter afirmado que no método da injeção sob pressão, às vezes a bactéria torna-se insuficientemente estabelecida devido à competição ou inibição por outros organismos invasores, provavelmente devido às extremidades cortadas não protegidas. Segundo o autor, os métodos de inoculação para *X. albilineans* que usam a capa de alumínio após a inoculação, minimizam infecções nos cortes por organismos do solo.

No que diz respeito à recuperação de sintomas externos pelas plantas (APÊNDICE 17), apenas para a variedade H60-6909 houve diferença significativa entre os métodos, sendo que o método  $M_1$ , isto é sem corte das folhas, foi o que apresentou menor número de plantas que recuperaram sintoma. Os métodos  $M_2$  e  $M_3$  não mostraram diferença estatística entre si (Figura 06).

5.5. Influência do uso da capa de alumínio na eficiência do método de inoculação para algumas variedades de cana-de-açúcar cujo palmito foliar foi cortado na altura do vértice foliar

Analisando-se os resultados encontrados no Apêndice 19 pelo teste  $x^2$  para plantas sadias e doentes (APÊNDICE 21) verifica-se que o método de inoculação sem capa de alumínio ( $M_1$ ) mostra que o grupo de variedades NA 56-79, CB 47-355 e CB 41-76 difere ao nível de 5% do grupo de variedades CB 45-3 e CB 47-89. Esse mesmo grupo (NA 56-79, CB 47-355 e CB 41-76) difere também ao nível de 1% do grupo CP 51-22 e CB 49-260; mas o grupo CP 51-22 e CB 49-260 não difere estatisticamente do grupo CB 45-3 e CB 47-89. Isto significa que o grupo de variedades NA 56-79, CB 47-355 e CB 41-76 é mais suscetível ao isolado de *X. albilineans* que os outros 2 grupos. CB45-3 e CB47-89 apresenta uma resistência intermediária e o grupo CP 51-22 e CB 49-260 é mais resistente ao patógeno que os outros 2 grupos (Figura 08).

No caso do método de inoculação com capa de alumínio ( $M_2$ ), o teste  $x^2$  para plantas sadias e doentes (Apêndice 24) mostra que não há diferença significativa para os grupos de variedades NA 56-79, CB 47-355 e CB 41-76 e CB 45-3 - CB 47-89, isto é, esses 2 grupos apresentam o mesmo grau de resistência ao isolado de *X. albilineans* usado no experimento. O grupo de variedades NA 56-79, CB 47-355 e CB 41-76 difere ao nível de 1% do grupo CP 51-22 e CB 49-260, sendo o grupo NA 56-79, CB 47-355 e CB 41-76 mais suscetível pois apresentou um maior número de plantas doentes. Observa-se também que o grupo CP 51-22 e CB 49-260 difere estatisticamente ao nível de 1% do grupo CB 45-3 e CB 47-89, sendo o grupo CB 45-3 e CB 47-89 mais suscetível por apresentar maior número de plantas com sintomas externos. Pode-se concluir neste caso que o grupo de variedades NA 56-79, CB 47-355 e CB 41-76 é

mais suscetíveis ao isolado usado no experimento que os outros 2 grupos. O grupo CB45-3 e CB47-89 apresenta um grau de resistência intermediária e o grupo CP51-22 e CB49-260 apresenta uma maior resistência que o grupo anterior (QUADRO 07).

Mais uma vez ocorre o que EGAN (1968) afirma: os métodos de inoculação para *X. albilineans* variam, mas nenhum é plenamente satisfatório, ou seja os métodos de inoculação utilizados com corte das folhas ou com corte do palmito foliar, com ou sem capa de alumínio variaram com relação ao número de plantas doentes nas diferentes variedades, ficando difícil afirmar qual método é o melhor.

Quando se comparou o método de inoculação com corte das folhas e com corte do palmito foliar observou-se que no método com corte do palmito foliar as folhas inoculadas apresentaram um maior número de riscas nas folhas.

QUADRO 07 - Influência de métodos de inoculação na manifestação de sintomas externos em 3 grupos de variedades de cana-de-açúcar à *X. albilineans*.

Grupo de variedades	Nº de plantas doentes* nos métodos de inoculação	
	Com corte	
	Sem capa M <sub>1</sub>	Com capa M <sub>2</sub>
V <sub>1</sub> + V <sub>2</sub> + V <sub>4</sub>	19	18
V <sub>3</sub> + V <sub>6</sub>	4	3
V <sub>5</sub> + V <sub>7</sub>	5	10

Analisando-se o APÊNDICE 19 verifica-se que nesse caso também ocorreu o fenômeno de recuperação de plantas sadias, o que foi verificado pelos autores ARRUDA (1944), KOIKE (1956b) e MASUDA (1980). O APÊNDICE

\* num total de 8 plantas inoculadas, ao fim de 10 semanas após a inoculação.

CE 22 mostra, pelo teste  $x^2$ , que o grupo de variedades CP51-22 e CB49-260 não mostrou diferença estatística com o grupo CB45-3 e CB47-89 no que diz respeito à recuperação de sintoma pelas plantas, porém o grupo de variedades NA56-79, CB47-355 e CB41-76 diferiu estatisticamente dos 2 grupos anteriores, apresentando um menor número de plantas que recuperaram sintomas. Como no ensaio anterior observou-se que quanto mais suscetível o grupo de variedades, menor é o número de plantas que recuperam sintomas externos, isto também foi verificado por KOIKE (1956b).

Para o caso do método de inoculação com capa de alumínio ( $M_2$ ) não foi possível aplicar o teste  $x^2$  pois encontrou-se frequência esperada menor que 1, e isto é uma das restrições na aplicação deste teste, mas observa-se pelo QUADRO 08 que não há diferença entre os 2 métodos no que diz respeito à recuperação de sintomas pelas plantas, quando se analisa o grupo de variedades (Figura 09).

QUADRO 08- Influência de métodos de inoculação na recuperação de sintomas externos em 3 grupos de variedades de cana-de-açúcar à *X. albilineans*.

Grupo de variedades	Nº de plantas com recuperação de sintoma externo* nos métodos de inoculação	
	Com corte	
	Sem capa $M_1$	Com capa $M_2$
$V_1 + V_2 + V_4$	2	4
$V_3 + V_6$	3	4
$V_5 + V_7$	6	3

\* num total de 8 plantas inoculadas, ao fim de 10 semanas após a inoculação.

Com relação à presença de sintomas internos nas plantas, pelo método  $M_1$  (APÊNDICE 20), observa-se (teste  $\chi^2$  - APÊNDICE 23) que os grupos de variedades tiveram o mesmo comportamento, com relação à resistência à *X. albilineans*, que no caso do método de inoculação  $M_2$  (APÊNDICE 25) obteve-se como resultado que grupo de variedade NA56-79, CB47-355 e

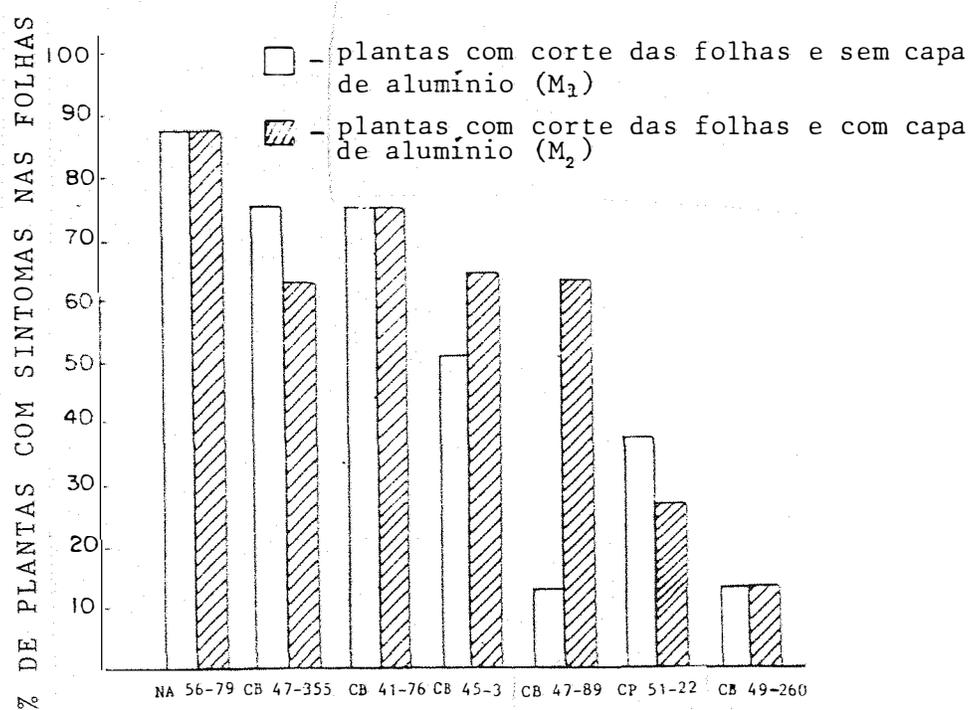


Figura 08 - Porcentagem de plantas com sintoma externo de escaldadura das folhas em 7 variedades de cana-de-açúcar utilizando-se 2 métodos de inoculação ( $M_1$  e  $M_2$ ).

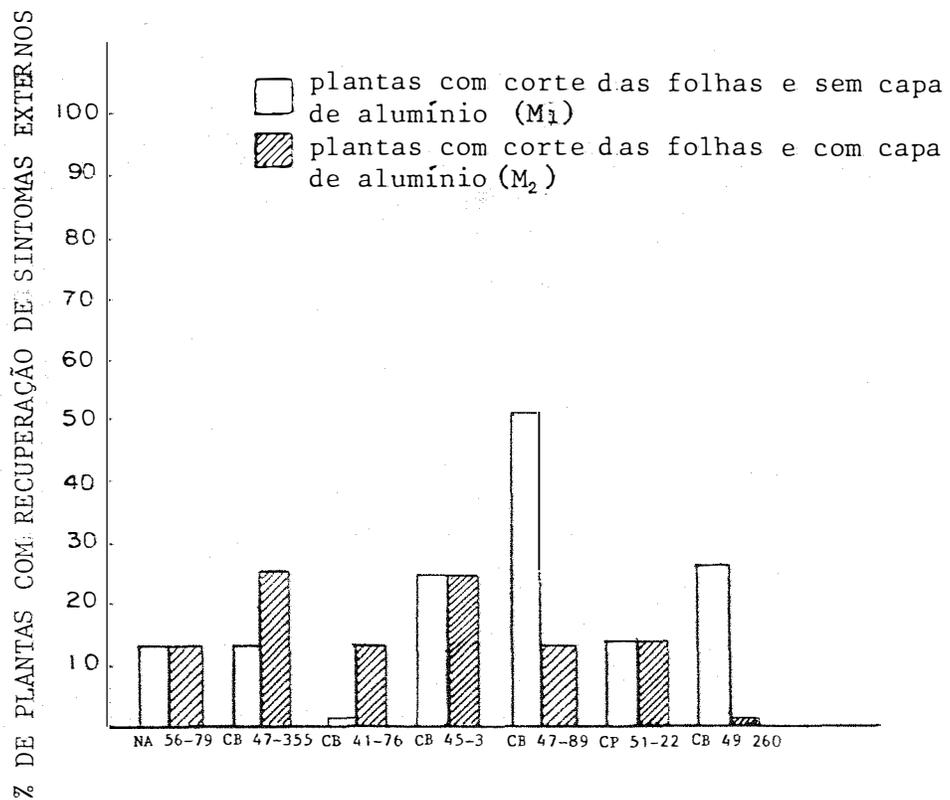


Figura 09 - Porcentagem de plantas com recuperação de sintomas externos de escaldadura das folhas em 7 variedades de cana de açúcar utilizando-se 2 métodos de inoculação (M<sub>1</sub> e M<sub>2</sub>).

CB 41-76 não mostrou diferença estatística com o grupo de variedade CP51 -22 e CB49-260, porém diferiu ao nível de 1% do grupo de variedades CB45-3 e CB47-89. O grupo de variedade CP51-22 e CB49-260 não diferiu estatisticamente do grupo CB45-3 e CB47-89. Por este método de inoculação  $M_2$  e usando-se a presença de sintomas internos (QUADRO 09) nas plantas a classificação dos grupos de variedades ficaria NA56-79, CB47-355 e CB41-76 mais suscetível ao isolado usado no experimento; o grupo CP51-22 e CB49-260 com resistência intermediária e o grupo CB45-3 e CB47-89 com maior resistência que o grupo anterior (Figura 10).

Analisando-se os APÊNDICES 26, 27 e 28, que trata da eficiência dos métodos  $M_1$  e  $M_2$ , com relação a plantas doentes, plantas que recuperaram sintomas e plantas com sintomas internos (para cada grupo de variedades), observa-se que não houve diferença significativa entre os 2 métodos de inoculação.

Quando se analisa grupos de variedades contra métodos de inoculação (APÊNDICES 21 e 24) ocorre diferença significativa entre os grupos de variedades no que diz respeito à utilização de cada método de inoculação ( $M_1$  ou  $M_2$ ), isto é, a classificação do grupo com relação à resistência à *X. albilineans* pode mudar de acordo com cada método de inoculação.

QUADRO 09 - Influência de métodos de inoculação na manifestação de sintoma interno em 3 grupos de variedades de cana-de-açúcar à *X. albilineans*.

Grupo de variedades	Nº de plantas com sintoma interno* nos métodos de inoculação	
	Com corte	
	Sem capa M <sub>1</sub>	Com capa M <sub>2</sub>
V <sub>1</sub> + V <sub>2</sub> + V <sub>4</sub>	13	12
V <sub>3</sub> + V <sub>6</sub>	4	4
V <sub>5</sub> + V <sub>7</sub>	2	1

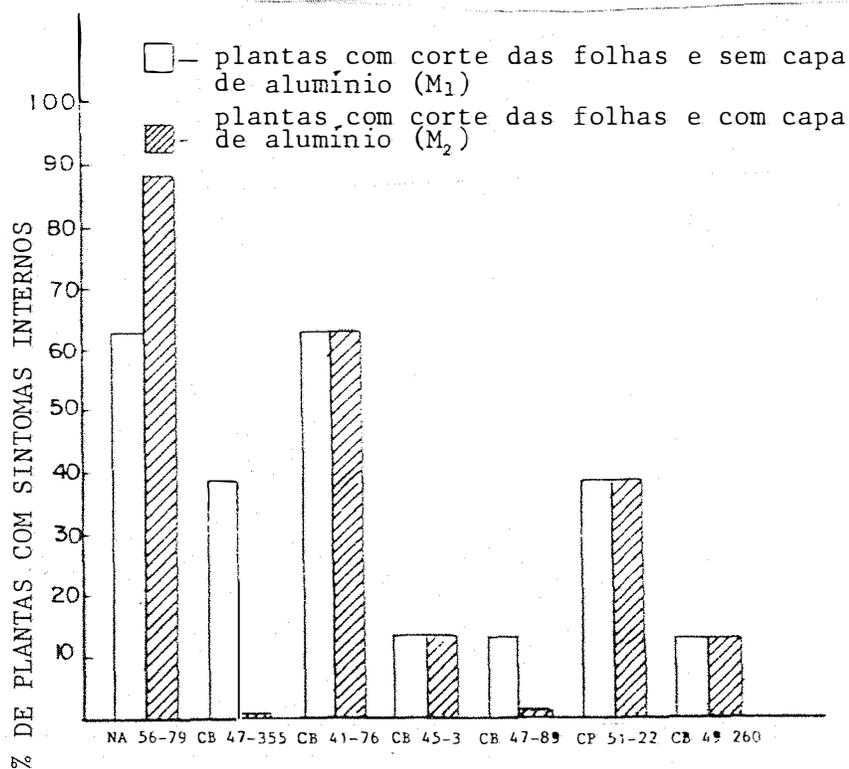


Figura 10 - Porcentagem de plantas com sintomas internos de escaldadura das folhas em 7 variedades de cana-de-açúcar utilizando-se 2 métodos de inoculação (M<sub>1</sub> e M<sub>2</sub>).

\* num total de 8 plantas inoculadas, ao fim de 153 dias após a inoculação.

### 5.6. Inoculação de *Xanthomonas albilineans* em variedades de cana-de-açúcar, milho e sorgo.

Analisando-se os resultados encontrados (Figura 1.1) pelo teste  $\chi^2$  (APÊNDICE 30) verifica-se que o conjunto de variedades sorgo sacarino, sorgo granífero e CB 45-3 não diferiu do grupo Composto milho doce e NA 56-79. Esse último grupo (Composto milho doce e Na 56-79) também não diferiu significativamente do grupo milho doce de Cuba e CB 41-76. Houve diferença significativa ao nível de 1%, apenas entre os grupos de variedades: sorgo sacarino, sorgo granífero e CB 45-3 e o grupo milho doce de Cuba e CB 41-76. Para as condições e isolado do experimento pode-se dizer que o grupo de variedades sorgo sacarino, sorgo granífero e CB 45-3 é mais resistente à *X. albilineans* que o grupo Composto milho doce e NA 56-79 que se comportou com uma resistência intermediária. O grupo de variedades milho doce de Cuba e CB 41-76 foi o mais suscetível ao isolado usado no experimento (QUADRO 10).

Para diagnose da doença escaldadura das folhas da cana-de-açúcar e patogenicidade de *X. albilineans* podem ser indicadas como plantas teste milho doce de Cuba e CB 41-76 por se mostrarem mais suscetíveis ao isolado usado no experimento. O milho doce de Cuba apresenta a vantagem de levar um tempo menor entre plantio, inoculação e aparecimento de sintomas que a variedade de cana CB 41-76, porém esta variedade CB 41-76 apresentou uma maior intensidade de doença (APÊNDICE 29).

QUADRO 10 - Reação de variedades de milho, sorgo e cana-de-açúcar à *X. albilineans*.

Grupo de variedades	Nº de plantas sadias e doentes*	
	PS	PD
V <sub>1</sub> + V <sub>2</sub> + V <sub>5</sub>	9	18
V <sub>4</sub> + V <sub>6</sub>	2	16
V <sub>3</sub> + V <sub>7</sub>	0	18

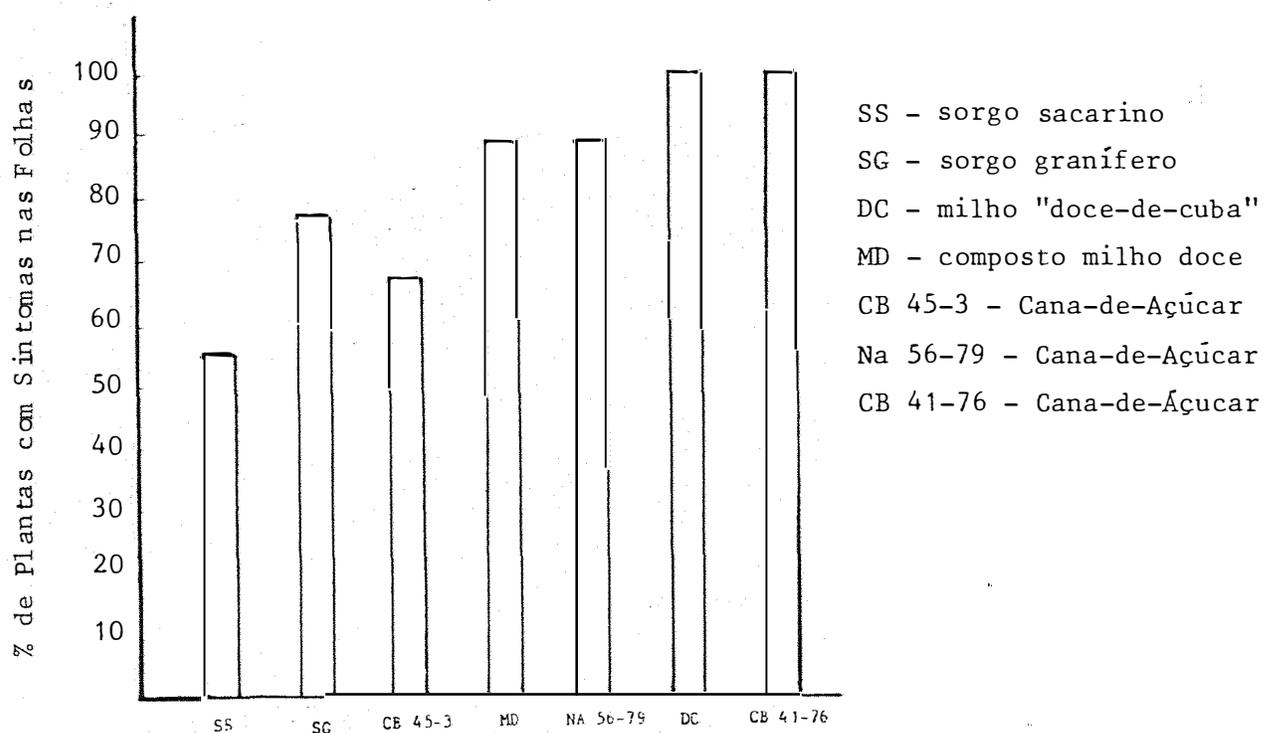


Figura 11 - Porcentagem de plantas com sintomas externos de escaldadura das folhas em variedades de cana-de-açúcar, milho e sorgo.

\* num total de 9 plantas inoculadas, de cada variedade.

## 6. CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos nos experimentos sobre meio de cultura, inoculação de *X. albilineans* em cana-de-açúcar e plantas testes pode-se concluir que:

- 1 - *Xanthomonas albilineans* cresce em meio de cultura com peptona, neopeptona, soytona, tryptona e proteose peptona como fontes alternativas de nitrogênio orgânico, porém seu crescimento é melhor e mais rápido quando se utiliza neopeptona.
- 2 - Quando se usa soytona, como fonte de nitrogênio orgânico, o crescimento de *X. albilineans* é melhor com 20 g dessa substância por litro de meio.
- 3 - Doses de sacarose acima de 80 g por litro de meio de Wilbrink são desfavoráveis ao crescimento de *X. albilineans*.
- 4 - Não há entre os métodos de inoculação usados para *X. albilineans*, um que seja plenamente satisfatório.

- 5 - Ocorre recuperação de sintomas externos, pelas plantas inoculadas e isto é mais frequente quanto maior a resistência da variedade à *X. albilineans*.
- 6 - Tanto o milho como o sorgo e a cana podem ser usados como planta teste em inoculação com *X. albilineans*.
- 7 - Dentre as 8 variedades de cana de açúcar testadas observa-se que existem plantas resistentes, intermediárias e suscetíveis à *X. albilineans*.

## 7. SUMMARY

TITLE: Obtention of *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson inoculum "in vitro" and methodology for inoculation

An experiment was conducted in which *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson was cultivated in a culture media similar to that of Wilbrink. The various treatments were prepared by varying source and quantity of nitrogen and of saccharose. The results showed that all sources of nitrogen were rated better than peptone and in this order: (1) neopeptone, tryptone, proteose-peptone and soytone. Best growth of *X. albilineans* was obtained for the rate of 20 g of soytone per liter of the media. It was found that the dosage of saccharose for best bacteria growth depended on the dosage of soytone because the growth of this species is favored by some C/N ratios. Growth of this bacteria was inhibited with saccharose rates over 80 g per liter.

The inoculum was injected in the leaf shoot according to

some modifications in the usual procedure. There were as follows: whole leaves, protected cut-off leaves and unprotected cut-off shoot (protection was done with an aluminum foil cover). These three injections methods were tested in four sugar-cane varieties, namely Na56-79, H60-6909, CB47-355 and CB41-76. Behavior was significantly different in all treatments for the varieties of intermediate resistance, but not for the susceptible CB41-76. This same variety was also the one to show indications of lesser recovery to external infection symptoms.

In another experiment two methods of inoculation were utilized to study the behavior of 7 sugarcane varieties (NA56-79, CB47-355, CB41-76, CP51-22, CB49-260, CB45-3 and CB47-89). In general these two methods of inoculation, that consisted in the injection of the inoculum after cutting the plant top and with and without utilization of aluminum cap, resulted in similar effectiveness for rating of diseased and health plants. Varieties could be rated as susceptible, resistant and intermediate.

A parallel test was conducted applying similar treatments to corn, sorghum and sugar-cane. It was found that each of them can be artificially infected by *X. albilineans*. Most susceptible however were sugar-cane variety CB41-76 and the corn variety "Doce-de-Cuba".

## 8. LITERATURA CITADA

AKIBA, F., 1978. Isolamento, inoculação e sobrevivência de *Xanthomonas albilineans* e avaliação de resistência à escaldadura das folhas em cana-de-açúcar. Piracicaba, ESALQ/USP, 97 p. (Dissertação de mestrado).

ANTOINE, R. e C. RICAUD, 1961. Cane diseases: A method for inoculating leaf scald in field trials. Annual Report Mauritius Sugar Industry Research Institute, Brisbane, p. 55-56.

ARRUDA, S.C., 1944. A escaldadura das folhas, doença da cana-de-açúcar nova no Brasil. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, 15: 141-199.

BELL, A.F., 1935. Two inoculation methods. In: Proceedings of the 5th Congress of the International Society of Sugar Cane Technologists, Brisbane, p. 199-200.

- BISESSAR, S., 1970. Grading sugarcane varieties for resistance to leaf scald in Guyana. Sugarcane Pathologists Newsletter, Queensland, 4:38.
- BREED, R.S.; E.G.D. MURRAY e N.R. SMITH, 1957. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 7th. ed. Baltimore, Williams & Wilkins Comp., 1094p.
- CONTRELL-DORMER, W., 1935. The Variability of plant pathogens. In: Proceedings of the 5th. Congress of the International Society of Sugar Cane Technologists, Brisbane, p. 712-713.
- DANTAS, B., 1956. Uma nova doença da cana-de-açúcar em Pernambuco. Boletim técnico do Instituto Agrônômico do Nordeste, Recife, 4:3-17
- DANTAS, B., 1958. A "escaldadura das folhas" da cana-de-açúcar. Recife, Comissão de Combate às pragas da cana-de-açúcar no Estado de Pernambuco. 9 p. (Publicação 7).
- DAL PICCOLO, C.R.; S. MATSUOKA e Y. MASUDA, 1980. Translocação do herbicida "Roundup" pelo tolete de cana-de-açúcar e sintomas colaterais causados. Brasil Açúcareiro, Rio de Janeiro, 95:200-207.
- DELGADO, A.A. e M.A.A. CESAR, 1977. Elementos de Tecnologia e engenharia do açúcar de cana. Sertãozinho, Zanini, V.1, 364p.
- DIFCO, 1953. Manual of Dehydrated culture media and reagents for microbiological e clinical laboratory procedures. 9ª ed, Michigan, Difco

Laboratories incorporated, 350 p.

DOWSON, W.J., 1943. On the generic names *Pseudomonas*, *Xanthomonas* and Bacterium for certain bacterial plant pathogens. Transactions of the British Mycological Society, London, 26:4-14.

DYE, D.W., 1966. A comparative study of atypical *Xanthomonads*. New Zealand Journal of Science, Wellington, 9:(4):843-854.

EDGERTON, C.W., 1958. Sugarcane and its diseases: Leaf scald. Baton Rouge, Louisiana State University Press, 301 p.

EGAN, B.T., 1968. Evaluation of the aluminum cap method for leaf scald disease resistance testing in Queensland. Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists, Brisbane. p. 1153-1158.

EGAN, B.T. 1969. Leaf scald strains: a good subject for international co-operation. Sugar Pathologists' Newsletter, Queensland, 3:12.

EGAN, B.T., 1971a. The decline of leaf scald as a major disease in Northern Queensland. In: Proceedings of the 38th. Conference of Queensland Society Sugarcane Technologists, Havana, p. 157-161.

EGAN, B.T. 1971b. Breeding for resistance to leaf scald disease. In: Proceedings of the 14<sup>th</sup> Congress of the International Society of Sugar Cane Technologists, Brisbane, p. 920-924.

GOMES, F.P., 1973. Curso de Estatística Experimental. 3ª ed., São Paulo, Livraria Nobel S.A., 430 p.

HUTCHINSON, P.B., 1968. A note on disease resistance ratings for sugar-cane varieties. Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists. Brisbane, 13: 877-1089.

HUTCHINSON, P.B. e J.B. ROBERTSON, 1953. Leaf scald in British Guyana. In: Proceedings of the 18th. Congress of the International Society of Sugar Cane Technologists. Brisbane, p.877-884.

KOIKE, H., 1965a. Leaf scald disease. Looking for better inoculation methods. Annual Report Hawaiian Sugar Planters' Association. Experiment Station, Honolulu, p. 31-32.

KOIKE, H., 1965b. The aluminum-cap method for testing sugar cane varieties against leaf scald disease. Phytopathology, Saint Paul, 55:317-319.

KOIKE, H., 1968. Leaf scald of sugarcane in Continental. United States a first report. Plant Disease Reporter. Washington, 52(8): 646-649.

KOIKE, H., 1971. Testing sugarcane varieties for leaf scald disease resistance. Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists. Brisbane, p.909-919.

- KOIKE, H. e W.E. ROGERS, 1967. Pathogenicity studies with isolates from sugarcane infected with leaf scald disease. Plant Disease Reporter. Washington, 51(6): 491-492.
- MARTIN, J.P. e P.E. ROBINSON, 1961. Leaf scald. In: MARTIN, J.P.; E.V. ABBOTT; C.G. HUGHES. Sugarcane disease of the world. New York, Elsevier, v.1, Cap. 3, p.79-107.
- MASUDA, Y., 1980. Aplicação da serologia na detecção de *Xanthomonas albilineans* em colmos de cana-de-açúcar. Piracicaba, ESALQ/USP, 107p. [Tese de Doutorado].
- MASUDA, Y. e H. TOKESHI, 1978. Método prático para a diagnose e isolamento de *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, agente causal da escaldadura da cana-de-açúcar. Summa Phytopathologica. Piracicaba, 4: 10-11.
- NORSE, D., 1973. A quantitative inoculation technique for screening sugarcane varieties for resistance to leaf scald. Plant Disease Reporter, Washington, 57(7):582-583.
- PANAGOPOULOS, C.G., 1969. The disease "Tsilik marasi" of grapevine its description and identification of the causal agent (*Xanthomonas ampelina* sp nov.) Annual Institute of Phytopathology, Benaki, 9(1):1-26.
- PERSLEY, G.J., 1972. Isolation methods for the causal agent of leaf scald disease. Sugarcane Pathologists' Newsletter, Queensland, 8:24.

- PERSLEY, G.J., 1973a. Pathogenic variation in *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, the causal agent of leaf-scald disease of sugarcane. Australian Journal of Biological Sciences, Melbourne, 26:781-786.
- PERSLEY, G.J., 1973b. Naturally occurring alternative hosts of *Xanthomonas albilineans* in Queensland. Plant Disease Reporter, Washington, 57(12): 1040 - 1042.
- PLANALSUCAR, 1975. Relatório Anual: Estações Experimentais. Piracicaba; P 21-22.
- PLANALSUCAR, 1976. Relatório Anual: Estações Experimentais. Piracicaba; p. 19-21.
- PLANALSUCAR, 1980. Relatório Anual: Estações Experimentais. Piracicaba; p. 13.
- RICAUD, C. e M.E. PAULO, 1970. Leaf scald. Annual Report Mauritius Sugar Industry Research Institute, Brisbane, p. 87-92.
- SINGH, O.; K.S. WARAITCH e R.S. KANWAR, 1981. Leaf scald disease stress mediated losses and alterations in some metabolites of sugarcane. Sugarcane. Sugarcane Pathologists' Newsletter. Queensland, 26: 7-10.
- STEINDL, D.R.L., 1971. The elimination of leaf scald from infected planting material. Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technologists. Brisbane, p.925-929.

STOKES, J.L.; M. GUNNESS e J.W. FOSTER, 1944. Vitamin content of ingredients of microbiological culture media. Journal of Bacteriology, Baltimore, 47:293-299.

TOKESHI, H., 1980. Doenças da cana-de-açúcar. In: GALLI, F.; P.C.T. CARVALHO; H. TOKESHI; E. BALMER; H. KIMATI; C.N.O. CARDOSO; C.L. SALGADO; T.L. KRÜGNER; E.J.B.N. CARDOSO e A. BERGAMIN Fº, Manual de Fitopatologia - Doença das plantas cultivadas, São Paulo, Ceres, v.2, Cap.12, p. 141-206.

VALDEBENITO, R.M.S., 1979. Relações entre *Xanthomonas albilineans*, *Erwinia herbicola* e *Pseudomonas* sp. em cana-de-açúcar. Piracicaba, ESALQ/USP, 77p. [Dissertação de Mestrado].

WISMER, C.A., 1969. Methods for testing the resistance of sugarcane to disease: leaf scald. Sugarcane Pathologists' Newsletter. Queensland, 2: 24-25.

9. APÊNDICE

APÊNDICE 01 - Influência da concentração de sacarose e soytona no crescimento de *X. albilineans* (suspensão inoculada com 63% de transmitância a 625nm). Experimento II.

Tratamento	Transmitância* (%) da concentração bacteriana			Médias
	Repetições			
	I	II	III	
1. MBW + So <sub>5</sub> Sa <sub>0</sub>	55	60	58	57,66
2. MBW + So <sub>10</sub> Sa <sub>0</sub>	45	53	49	49,00
3. MBW + So <sub>20</sub> Sa <sub>0</sub>	41	40	44	41,66
4. MBW + So <sub>5</sub> Sa <sub>10</sub>	68	66	67	67,00
5. MBW + So <sub>10</sub> Sa <sub>10</sub>	48	47	45	46,66
6. MBW + So <sub>20</sub> Sa <sub>10</sub>	40	42	47	43,00
7. MBW + So <sub>5</sub> Sa <sub>30</sub>	65	56	67	62,66
8. MBW + So <sub>10</sub> Sa <sub>30</sub>	43	43	42	42,66
9. MBW + So <sub>20</sub> Sa <sub>30</sub>	38	35	36	36,33

MBW - meio basal de Wilbrink

So<sub>5</sub> - 5g de soytona/litro

So<sub>10</sub> - 10g de soytona/litro

So<sub>20</sub> - 20g de soytona/litro

Sa<sub>0</sub> - 10g de sacarose/litro

Sa<sub>10</sub> - 20g de sacarose/litro

Sa<sub>30</sub> - 40g de sacarose/litro

\* colorímetro Bausch & Lomb a 625 nm.

## APÊNDICE 02 - Análise de variância dos dados do APÊNDICE 01.

causa de variação	GL	SQ	QM	F
Dose de soytona DSo	2	2.367,19	1.183,59	133,14**
Dose de sacarose DSa	2	112,97	56,48	6,35**
DSo x DSa	4	154,14	38,54	4,33**
(tratamento)	(8)	(2.634,30)	(329,29)	37,04**
Resíduo	18	160,00	8,89	
Total	26	2.794,30		

## Desdobramentos das interações

## a. Doses de soytona(DSo) dentro da dose de sacarose(DSa)

causa de variação	GL	SQ	QM	F
Dose de sacarose (DSa)	2	112,97	56,48	6,35**
DSo d. DSa <sub>1</sub>	2	384,82	192,44	21,65**
DSo d. DSa <sub>2</sub>	2	1002,89	501,45	56,41**
DSo d. DSa <sub>3</sub>	2	1133,56	566,78	63,75**
(tratamento)	(8)	(2634,30)	(329,29)	37,04**
Resíduo	18	160,00	8,89	
Total	26	2794,30		

## b. Doses de sacarose(DSa) dentro de doses de soytona(DSo)

causa de variação	GL	SQ	QM	F
Dose de soytona(DSo)	2	2367,19	1183,59	133,14**
DSa d. DSo <sub>1</sub>	2	130,89	65,44	7,36**
DSa d. DSo <sub>2</sub>	2	61,06	30,53	3,43 <sup>ns</sup>
DSa d. DSo <sub>3</sub>	2	74,67	37,33	4,20*
(tratamento)	(8)	(2634,30)	(329,29)	(37,04)**
Resíduo	18	160,00	8,89	
Total	26	2794,30		

APÊNDICE 03 - Influência da alta concentração de sacarose no crescimento de *X. albilineans*, usando-se 2 fontes de nitrogênio (suspensão inoculada com 70% de transmitância a 580 nm.). Experimento III.

Tratamentos	Transmitância (%) da suspensão bacteriana			Médias
	Repetições			
	I	II	III	
1. MBW + PSa <sub>0</sub>	76	84	87	82,33
2. MBW + PSa <sub>10</sub>	88	76	98	87,33
3. MBW + PSa <sub>30</sub>	74	75	90	79,66
4. MBW + PSa <sub>70</sub>	99	96	90	95,00
5. MBW + PSa <sub>150</sub>	100	100	100	100,00
6. MBW + NSa <sub>0</sub>	62	52	68	60,66
7. MBW + NSa <sub>10</sub>	58	60	69	62,33
8. MBW + NSa <sub>30</sub>	63	75	68	68,66
9. MBW + NSa <sub>70</sub>	77	75	74	75,33
10. MBW + NSa <sub>150</sub>	100	100	100	100,00

MBW - meio basal de Wilbrink

P - peptona 5g/litro

N - neopeptona 5g/litro

Sa<sub>0</sub> - 10g de sacarose/litro

Sa<sub>10</sub> - 20g de sacarose/litro

Sa<sub>30</sub> - 40g de sacarose/litro

Sa<sub>70</sub> - 80g de sacarose/litro

Sa<sub>150</sub> - 160g de sacarose/litro

\* colorímetro Bausch & Lomb a 580 nm.

## APÊNDICE 04 - Análise de variância dos dados do APÊNDICE 03.

Causa de variação	GL	SQ	QM	F
Fonte de nitrogênio(FN)	1	1794,14	1794,14	45,62**
Dosagem de sacarose(DS)	4	3319,47	829,87	21,10**
FN x DS	4	609,19	152,30	3,87*
(tratamento)	(9)	(5722,80)	(635,86)	16,16**
Resíduo	20	786,67	39,33	
Total	29	6509,47		

## Desdobramento das interações

## a. Fontes de nitrogênio dentro das dosagens de sacarose

causa de variação	GL	SQ	QM	F
DS	4	3319,47	829,87	21,10**
FN d. DSa1	1	704,17	704,17	17,90**
FN d. DSa2	1	937,50	937,50	23,84**
FN d. DSa3	1	181,50	181,50	4,61*
FN d. DSa4	1	580,16	580,16	14,75**
FN d. DSa5	1	0,00	0,00	0,00
(tratamento)	(9)	(5722,80)	(653,86)	(16,16)**
Resíduo	20	786,67	39,33	
Total	29	6509,47		

## b. Doses de sacarose dentro de fontes de nitrogênio

causa de variação	GL	SQ	QM	F
FN	1	1794,14	1794,14	45,62**
DSa d. FNPeptona	4	873,73	218,43	5,55**
DSa d. FNNeopeptona	4	3054,93	763,73	19,42**
(tratamento)	(9)	(5722,80)	(653,86)	(16,16)**
Resíduo	20	786,67	39,33	
Total	29	6509,47		



APÊNDICE 06 - Presença de feixes vasculares descoloridos (do 1º ao 5º nó), em 4 cultivares de cana-de-açúcar, 173 dias após a inoculação por diferentes métodos ( $M_1$ ,  $M_2$  e  $M_3$ ), com uma suspensão de *X. albilineans* apresentado 61% de transmitância a 625 nm. Experimento IV.

Ma 56-79															
	SEM CORTE					COM CORTE									
	$M_1$					SEM CAPA ( $M_2$ )					COM CAPA ( $M_3$ )				
	19	29	39	49	59	19	29	39	49	59	19	29	39	49	59
1	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
2	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
9	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

H 60-6909															
	SEM CORTE					COM CORTE									
	$M_1$					SEM CAPA ( $M_2$ )					COM CAPA ( $M_3$ )				
	19	29	39	49	59	19	29	39	49	59	19	29	39	49	59
1	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
2	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

CB 47-353															
	SEM CORTE					COM CORTE									
	$M_1$					SEM CAPA ( $M_2$ )					COM CAPA ( $M_3$ )				
	19	29	39	49	59	19	29	39	49	59	19	29	39	49	59
1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
5	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
19	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

CS 41-26															
	SEM CORTE					COM CORTE									
	$M_1$					SEM CAPA ( $M_2$ )					COM CAPA ( $M_3$ )				
	19	29	39	49	59	19	29	39	49	59	19	29	39	49	59
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
3	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
5	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
7	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(+) - presença de feixe vascular descolorido  
 (-) - ausência de feixe vascular descolorido  
 (.) - planta morta  
 T - testemunha

Leitura em  
14-12-81

APÊNDICE 07 - Teste  $X^2$  para plantas sadias e doentes utilizando-se o método de inoculação  $M_1$  no experimento IV.

$M_1$	PS	PD	Total
$V_1$	7	9	16
$V_2$	9	8	17
$V_3$	12	7	19
$V_4$	2	15	17
	30	39	69

$M_1$  - método de inoculação sem corte das folhas  
 PS - plantas sadias no final do experimento  
 PD - plantas doentes no final do experimento  
 $V_1$  - NA 56-79                       $V_3$  - CB 47-355  
 $V_2$  - H 60-6909                     $V_4$  - CB 41-76

$X^2 = 10,57^*$   
 $X^2 (5\%) = 7,82 (3gl)$

Conjuntos de contrastes ortogonais de maneira a testar isoladamente os possíveis contrastes ortogonais correspondentes aos 3 graus de liberdade.

A.

$M_1$	PS	PD	Total	$M_1$	PS	PD	Total	$M_1$	PS	PD	Total
$V_1+V_2+V_3$	28	24	52	$V_1$	7	9	16	$V_2$	9	8	17
$V_4$	2	15	17	$V_2+V_3$	21	15	36	$V_3$	12	7	19
	30	39	69		28	24	52		21	15	36
	$X^2 = 9,23^{**}$				$X^2 = 0,95^{ns}$				$X^2 = 0,39^{ns}$		

B.

$M_1$	PS	PD	Total	$M_1$	PS	PD	Total	$M_1$	PS	PD	Total
$V_1+V_2+V_3$	28	24	52	$V_3$	12	7	19	$V_1$	7	9	16
$V_4$	2	15	17	$V_1+V_2$	16	17	33	$V_2$	9	8	17
	30	39	69		28	24	52		16	17	33
	$X^2 = 9,23^{**}$				$X^2 = 1,05^{ns}$				$X^2 = 0,28^{ns}$		

C.

$M_1$	PS	PD	Total	$M_1$	PS	PD	Total	$M_1$	PS	PD	Total
$V_1+V_2+V_3$	28	24	52	$V_2$	9	8	17	$V_1$	7	9	16
$V_4$	2	15	17	$V_1+V_3$	19	16	35	$V_3$	12	7	19
	30	39	69		28	24	52		19	16	35
	$X^2 = 9,23^{**}$				$X^2 = 0,01^{ns}$				$X^2 = 1,32^{ns}$		

D.

$M_1$	PS	PD	Total	$M_1$	PS	PD	Total	$M_1$	PS	PD	Total
$V_1+V_2+V_4$	18	32	50	$V_1$	7	9	16	$V_2$	9	8	17
$V_3$	12	7	19	$V_2+V_4$	11	23	34	$V_4$	2	15	17
	30	39	69		18	32	50		11	23	34
	$X^2 = 4,13^*$				$X^2 = 0,61^{ns}$				$X^2 = 6,59^*$		

E.

$M_1$	PS	PD	Total	$M_1$	PS	PD	Total	$M_1$	PS	PD	Total
$V_1+V_2+V_4$	18	32	50	$V_2$	9	8	17	$V_1$	7	9	16
$V_3$	12	7	19	$V_1+V_4$	9	24	33	$V_4$	2	15	17
	30	39	69		18	32	50		9	24	
	$X^2 = 4,13^*$				$X^2 = 3,21^{ns}$				$X^2 = 4,25^*$		

F.

$M_1$	PS	PD	Total	$M_1$	PS	PD	Total	$M_1$	PS	PD	Total
$V_1+V_3+V_4$	21	31	52	$V_1$	7	9	16	$V_3$	12	7	19
$V_2$	9	8	17	$V_3+V_4$	14	22	36	$V_4$	2	15	17
	30	39	69		21	31	52		14	22	36
	$X^2 = 0,82^{ns}$				$X^2 = 0,11^{ns}$				$X^2 = 9,97^{**}$		

$X^2 (1\%) = 6,64 \quad 1gl$   
 $X^2 (5\%) = 3,84 \quad 1gl$

APÊNDICE 08 - Teste  $X^2$  para plantas que recuperaram sintomas e plantas doentes utilizando-se o método de inoculação  $M_1$  no Experimento IV.

$M_1$	PR	PD	Total
$V_1$	4	9	13
$V_2$	3	8	11
$V_3$	1	7	8
$V_4$	3	15	18
	11	39	50

$$X^2 = 1,48^{ns}$$

$$X^2(5\%) = 7,82 (3gl)$$

PR - plantas que recuperaram sintomas de doença durante as avaliações.

PD - plantas doentes no final do experimento.

APÊNDICE 09 - Teste  $X^2$  para plantas com e sem sintomas internos utilizando-se o método de inoculação  $M_1$  no Experimento IV.

$M_1$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1$	8	12	20
$V_2$	12	8	20
$V_3$	12	8	20
$V_4$	3	17	20
	35	45	80

SSI - plantas sem sintomas internos  
CSI - plantas com sintomas internos

$$X^2 = 11,12^*$$

$$X^2 (5\%) = 7,82 (3gl)$$

conjunto de contrastes ortogonais de maneira a testar isoladamente os possíveis contrastes ortogonais correspondentes aos 3 graus de liberdade.

A.

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_1+V_2+V_3$	32	28	60
$V_4$	3	17	20
	35	45	80

$$X^2 = 8,96^{**}$$

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_1$	8	12	20
$V_2+V_3$	24	16	40
	32	28	60

$$X^2 = 2,14^{ns}$$

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_2$	12	8	20
$V_3$	12	8	20
	24	16	40

$$X^2 = 0,00^{ns}$$

B.

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_2+V_3$	32	28	60
$V_4$	3	17	20
	35	45	80

$$X^2 = 8,96^{**}$$

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_2$	12	8	20
$V_1+V_2$	20	20	40
	32	28	60

$$X^2 = 0,54^{ns}$$

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_1$	8	12	20
$V_3$	12	8	20
	20	20	40

$$X^2 = 1,60^{ns}$$

C.

$M_2$	SSI	CSI	Total
$V_1+V_2+V_3$	32	28	60
$V_4$	3	17	20
	35	45	80

$$X^2 = 8,96^{**}$$

$M_2$	SSI	CSI	Total
$V_1$	12	8	20
$V_2+V_3$	20	20	40
	32	28	60

$$X^2 = 0,54^{ns}$$

$M_2$	SSI	CSI	Total
$V_1$	8	12	20
$V_3$	12	8	20
	20	20	40

$$X^2 = 1,60^{ns}$$

D.

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_1+V_2+V_4$	23	37	60
$V_3$	12	8	20
	35	45	80

$$X^2 = 2,86^{ns}$$

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_2$	8	12	20
$V_2+V_4$	15	25	40
	23	37	60

$$X^2 = 0,04^{ns}$$

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_2$	12	8	20
$V_4$	3	17	20
	15	25	40

$$X^2 = 8,64^{**}$$

E.

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_1+V_2+V_4$	23	37	60
$V_3$	12	8	20
	35	45	80

$$X^2 = 2,86^{ns}$$

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_2$	12	8	20
$V_1+V_4$	11	29	40
	23	37	60

$$X^2 = 5,96^*$$

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_1$	8	12	20
$V_4$	3	17	20
	11	29	40

$$X^2 = 3,14^{ns}$$

F.

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_1+V_3+V_4$	23	37	60
$V_2$	12	8	20
	35	45	80

$$X^2 = 2,86^{ns}$$

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_1$	8	12	20
$V_3+V_4$	15	25	40
	23	37	60

$$X^2 = 0,04^{ns}$$

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_1$	12	8	20
$V_4$	3	17	20
	15	25	40

$$X^2 = 8,64^{**}$$

$$X^2 (1\%) = 6,64$$

$$X^2 (5\%) = 3,84 (1gl)$$

APÊNDICE 10 - Teste  $X^2$  para plantas sadias e doentes utilizando-se o método de inoculação  $M_2$  no experimento IV.

$M_2$	PS	PD	Total
$V_1$	10	4	14
$V_2$	7	4	11
$V_3$	3	10	13
$V_4$	1	15	16
	21	33	54

$M_2$ -Método de inoculação com corte das folhas e sem capa de alumínio  
 PS-Plantas sadias no final do experimento  
 PD-Plantas doentes no final do experimento  
 $V_1$ -NA 56-79                       $V_3$ -CB 47-355  
 $V_2$ -H 60-6909                     $V_4$ -CB 41-76

$X^2 = 17,62^{**}$

$X^2 (1Z) = 11,34 (3gl)$

Conjunto de contrastes ortogonais de maneira a testar isoladamente os possíveis contrastes ortogonais correspondentes aos 3 graus de liberdade.

A.

$M_2$	PS	PD	Total
$V_1+V_2+V_3$	20	18	38
$V_4$	1	15	16
	21	33	54

$X^2 = 10,19^{**}$

$M_2$	PS	PD	Total	$M_2$	PS	PD	Total
$V_1$	10	4	14	$V_2$	7	4	11
$V_2+V_3$	10	14	24	$V_3$	3	10	13
	20	18	38		10	14	24

$X^2 = 3,14^{ns}$

$X^2 = 4,03^*$

B.

$M_2$	PS	PD	Total
$V_1+V_2+V_3$	20	18	38
$V_4$	1	15	16
	21	33	54

$X^2 = 10,19^{**}$

$M_2$	PS	PD	Total	$M_2$	PS	PD	Total
$V_3$	3	10	13	$V_1$	10	4	14
$V_3+V_2$	17	8	25	$V_2$	7	4	11
	20	18	38		17	8	25

$X^2 = 6,92^{**}$

$X^2 = 0,17^{ns}$

C.

$M_2$	PS	PD	Total
$V_1+V_2+V_3$	20	18	38
$V_4$	1	15	16
	21	33	54

$X^2 = 10,19^{**}$

$M_2$	PS	PD	Total	$M_2$	PS	PD	Total
$V_2$	7	4	11	$V_1$	10	4	14
$V_1+V_3$	13	14	27	$V_3$	3	10	13
	20	18	38		13	14	27

$X^2 = 0,75^{ns}$

$X^2 = 6,31^*$

D.

$M_2$	PS	PD	Total
$V_1+V_2+V_4$	18	23	41
$V_3$	3	10	13
	21	33	54

$X^2 = 1,80^{ns}$

$M_2$	PS	PD	Total	$M_2$	PS	PD	Total
$V_1$	10	4	14	$V_2$	7	4	11
$V_2+V_4$	8	19	27	$V_4$	1	15	16
	18	23	41		8	19	17

$X^2 = 6,54^*$

$X^2 = 10,30^{**}$

E.

$M_2$	PS	PD	Total
$V_1+V_2+V_4$	18	23	41
$V_3$	3	10	13
	21	33	54

$X^2 = 1,80^{ns}$

$M_2$	PS	PD	Total	$M_2$	PS	PD	Total
$V_2$	7	4	11	$V_1$	10	4	14
$V_1+V_4$	11	19	30	$V_4$	1	15	16
	18	23	41		11	19	30

$X^2 = 2,38^{ns}$

$X^2 = 13,66^{**}$

F.

$M_2$	PS	PD	Total
$V_1+V_3+V_4$	14	29	43
$V_2$	7	4	11
	21	33	54

$X^2 = 3,56^{ns}$

$M_2$	PS	PD	Total	$M_2$	PS	PD	Total
$V_1$	10	4	14	$V_3$	3	10	13
$V_3+V_4$	4	25	29	$V_4$	1	15	16
	14	29	43		4	25	29

$X^2 = 14,28^{**}$

$X^2 = 1,71^{ns}$

$X^2 (1Z) = 6,64 (1gl)$

/  $X^2 (5Z) = 3,84 (1gl)$

APÊNDICE 11 - Teste  $\chi^2$  para plantas que recuperaram sintomas e plantas doentes, utilizando-se o método de inoculação  $M_2$  no experimento IV.

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_1$	6	4	10
$V_2$	9	4	13
$V_3$	7	10	17
$V_4$	4	15	19
	26	33	59

PR - plantas que recuperaram sintomas da doença durante as avaliações

PD - plantas doentes no final do experimento.

$$\chi^2 = 8,50^*$$

$$\chi^2(5Z) = 7,82 \quad 3 \text{ gl.}$$

Conjunto de contrastes ortogonais de maneira a testar isoladamente os possíveis contrastes ortogonais correspondentes aos 3 graus de liberdade.

A -

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_1+V_2+V_3$	22	18	40
$V_4$	4	15	19
	26	33	59

$$\chi^2 = 6,02^*$$

B -

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_1+V_2+V_3$	22	18	40
$V_4$	4	15	19
	26	33	59

$$\chi^2 = 6,02^*$$

C -

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_1+V_2+V_3$	22	18	40
$V_4$	4	15	19
	26	33	59

$$\chi^2 = 6,02^*$$

D -

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_1+V_2+V_4$	19	23	42
$V_3$	7	10	17
	26	33	59

$$\chi^2 = 0,08^{ns}$$

E -

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_1+V_2+V_4$	19	23	42
$V_3$	7	10	17
	26	33	59

$$\chi^2 = 0,08^{ns}$$

F -

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_1+V_3+V_4$	17	29	46
$V_2$	9	4	13
	26	33	59

$$\chi^2 = 4,28^*$$

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_1$	6	4	10
$V_2+V_3$	16	14	30
	22	18	40

$$\chi^2 = 0,13^{ns}$$

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_3$	7	10	17
$V_1+V_2$	15	8	23
	22	18	40

$$\chi^2 = 2,28^{ns}$$

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_2$	9	4	13
$V_1+V_3$	13	14	27
	22	18	40

$$\chi^2 = 1,58^{ns}$$

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_1$	6	4	10
$V_2+V_3$	13	19	32
	19	23	42

$$\chi^2 = 1,16^{ns}$$

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_2$	9	4	13
$V_1+V_4$	10	19	29
	19	23	42

$$\chi^2 = 4,38^*$$

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_1$	6	4	10
$V_3+V_4$	11	25	36
	17	29	46

$$\chi^2 = 2,91^{ns}$$

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_2$	9	4	13
$V_3$	7	10	17
	16	14	30

$$\chi^2 = 2,33^{ns}$$

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_1$	6	4	10
$V_2$	9	4	13
	15	8	23

$$\chi^2 = 0,21^{ns}$$

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_1$	6	4	10
$V_2$	7	10	17
	13	14	27

$$\chi^2 = 0,89^{ns}$$

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_2$	9	4	13
$V_4$	4	15	19
	13	19	32

$$\chi^2 = 7,43^*$$

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_1$	6	4	10
$V_4$	4	15	19
	10	19	29

$$\chi^2 = 4,40^*$$

$M_2$	PR	PD	TOTAL
$V_2$	7	10	17
$V_4$	4	15	19
	11	25	36

$$\chi^2 = 1,71^{ns}$$

$$\chi^2(1Z) = 6,64 \quad (1 \text{ gl})$$

$$\chi^2(5Z) = 3,84 \quad (1 \text{ gl})$$

APÊNDICE 12 - Teste  $X^2$  para plantas com e sem sintomas interno utilizando-se o método de inoculação  $M_2$  no experimento IV.

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1$	12	8	20
$V_2$	17	3	20
$V_3$	17	3	20
$V_4$	5	15	20

$x^2 = 20,93^{**}$   
 $x^2(1\%) = 11,34$  (3 gl)

SSI - plantas sem sintomas interno  
 CSI - plantas com sintomas interno

Conjunto de contrastes ortogonais de maneira a testar isoladamente os possíveis contrastes ortogonais correspondentes aos 3 graus de liberdade.

A -

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1+V_2+V_3$	46	14	60
$V_4$	5	15	20
	51	29	80

$x^2 = 17,33^{**}$

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1$	12	8	20
$V_2+V_3$	34	6	40
	46	14	60

$x^2 = 4,66^*$

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_2$	17	3	20
$V_3$	17	3	20
	34	6	40

$x^2 = 0,00$

B -

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1+V_2+V_3$	46	14	60
$V_4$	5	15	20
	51	29	80

$x^2 = 17,33^{**}$

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_3$	17	3	20
$V_1+V_2$	29	11	40
	46	14	60

$x^2 = 1,17^{ns}$

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1$	12	8	20
$V_2$	17	3	20
	29	11	40

$x^2 = 3,14^{ns}$

C -

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1+V_2+V_3$	46	14	60
$V_4$	5	15	20
	51	29	80

$x^2 = 17,33^{**}$

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_2$	17	3	20
$V_1+V_3$	29	11	40
	46	14	60

$x^2 = 1,17^{ns}$

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1$	12	8	20
$V_3$	17	3	20
	29	11	40

$x^2 = 3,14^{ns}$

D -

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1+V_2+V_4$	34	26	60
$V_3$	17	3	20
	51	29	80

$x^2 = 5,21^*$

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1$	12	8	20
$V_2+V_4$	22	18	40
	34	26	60

$x^2 = 0,14^{ns}$

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_2$	17	3	20
$V_4$	5	15	20
	22	18	40

$x^2 = 14,55^{**}$

E -

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1+V_2+V_4$	34	26	60
$V_3$	17	3	20
	51	29	80

$x^2 = 5,21^*$

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_2$	17	3	20
$V_1+V_4$	17	23	40
	34	26	60

$x^2 = 9,81^{**}$

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1$	12	8	20
$V_4$	5	15	20
	17	23	40

$x^2 = 5,01^*$

F -

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1+V_3+V_4$	34	26	60
$V_2$	17	3	20
	51	29	80

$x^2 = 5,21^*$

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1$	12	8	20
$V_3+V_4$	22	18	40
	34	26	60

$x^2 = 0,14^{ns}$

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_3$	17	3	20
$V_4$	5	15	20
	22	18	40

$x^2 = 14,55^{**}$

$x^2(1\%) = 6,64$  (1 gl)  
 $x^2(5\%) = 3,84$  (1 gl)

APÊNDICE 13 - Teste  $X^2$  para plantas sadias e doentes utilizando-se o método de inoculação  $M_3$  no experimento IV.

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_1$	7	7	14
$V_2$	5	3	8
$V_3$	5	8	13
$V_4$	1	13	14
	18	31	49

$x^2 = 8,63^{**}$   
 $x^2(1\%) = 11,34$  (3 gl)

$M_3$  - Método de inoculação com corte das folhas e com capa de alumínio  
 PS - Plantas sadias no final do experimento  
 PD - Plantas doentes no final do experimento  
 $V_1$  - NA 56-79                       $V_3$  - CB 47-355  
 $V_2$  - H 60-6909                     $V_4$  - CB 41-76

Conjunto de contrastes ortogonais de maneira a testar isoladamente os possíveis contrastes ortogonais correspondentes aos 3 graus de liberdade.

A -

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_1+V_2+V_3$	17	18	35
$V_4$	1	13	14
	18	31	49

$x^2 = 7,39^{**}$

B -

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_2+V_3$	17	18	35
$V_1$	1	13	14
	18	31	49

$x^2 = 7,39^{**}$

C -

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_1+V_2+V_3$	17	18	35
$V_4$	1	13	14
	18	31	49

$x^2 = 7,39^{**}$

D -

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_2+V_3+V_4$	13	23	36
$V_1$	5	8	13
	18	31	49

$x^2 = 0,02^{ns}$

E -

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_1+V_2+V_4$	13	23	36
$V_3$	5	8	13
	18	31	49

$x^2 = 0,02^{ns}$

F -

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_1+V_3+V_4$	13	28	41
$V_2$	5	3	8
	18	31	49

$x^2 = 2,73^{ns}$

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_1$	7	7	14
$V_2+V_3$	10	11	21
	17	18	35

$x^2 = 0,02^{ns}$

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_3$	5	8	13
$V_1+V_2$	12	10	22
	17	18	35

$x^2 = 0,85^{ns}$

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_1$	5	3	8
$V_2+V_3$	12	15	27
	17	18	35

$x^2 = 0,81^{ns}$

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_1$	7	7	14
$V_2+V_4$	6	16	22
	13	23	36

$x^2 = 1,92^{ns}$

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_1$	5	3	8
$V_3+V_4$	8	20	28
	13	23	36

$x^2 = 3,10^{ns}$

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_1$	7	7	14
$V_2+V_4$	6	21	27
	13	28	41

$x^2 = 3,29^{ns}$

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_2$	5	3	8
$V_3$	5	8	13
	10	11	21

$x^2 = 1,15^{ns}$

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_1$	7	7	14
$V_2$	5	3	8
	12	10	22

$x^2 = 0,32^{ns}$

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_1$	7	7	14
$V_3$	5	8	13
	12	15	27

$x^2 = 0,36^{ns}$

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_2$	5	3	8
$V_4$	1	13	14
	6	16	22

$x^2 = 7,87^{**}$

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_1$	7	7	14
$V_4$	1	13	14
	8	20	28

$x^2 = 6,30^*$

$M_3$	PS	PD	TOTAL
$V_2$	5	8	13
$V_4$	1	13	14
	6	21	27

$x^2 = 3,83^{ns}$

$x^2(1\%) = 6,64$  (1 gl)  
 $x^2(5\%) = 3,84$  (1 gl)

APÊNDICE 14 - Teste  $X^2$  para plantas que recuperaram sintomas e plantas doentes, utilizando-se o método de inoculação  $M_3$  no experimento IV.

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_1$	6	7	13
$V_2$	12	3	15
$V_3$	7	8	15
$V_4$	6	13	19
	31	31	62

$$x^2 = 8,12^*$$

$$x^2(5\%) = 7,82 \quad (3 \text{ gl})$$

PR - Plantas que recuperaram sintomas da doença durante as avaliações  
PD - Plantas doentes no final do experimento

Conjunto de contrastes ortogonais de maneira a testar isoladamente os possíveis contrastes ortogonais aos 3 graus de liberdade

A -

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_1+V_2+V_3$	25	18	43
$V_4$	6	13	19
	31	31	62

$$x^2 = 3,72^{ns}$$

B -

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_1+V_2+V_3$	25	18	43
$V_4$	6	13	19
	31	31	62

$$x^2 = 3,72^{ns}$$

C -

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_1+V_2+V_3$	25	18	43
$V_4$	6	13	19
	31	31	62

$$x^2 = 3,72^{ns}$$

D -

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_1+V_2+V_4$	24	23	47
$V_3$	7	8	15
	31	31	62

$$x^2 = 0,88^{ns}$$

E -

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_1+V_2+V_4$	24	23	47
$V_3$	7	8	15
	31	31	62

$$x^2 = 0,88^{ns}$$

F -

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_1+V_3+V_4$	19	28	47
$V_2$	12	3	15
	31	31	62

$$x^2 = 7,12^{**}$$

$$x^2(1\%) = 6,64$$

$$x^2(5\%) = 3,84 \quad (1 \text{ gl})$$

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_1$	6	7	13
$V_2+V_3$	19	11	30
	25	18	43

$$x^2 = 1,10^{ns}$$

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_3$	7	8	15
$V_1+V_2$	18	10	28
	25	18	43

$$x^2 = 1,25^{ns}$$

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_2$	12	3	15
$V_1+V_3$	13	15	28
	25	18	43

$$x^2 = 4,52^*$$

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_1$	6	7	13
$V_2+V_4$	18	16	34
	24	23	47

$$x^2 = 0,17^{ns}$$

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_2$	12	3	15
$V_1+V_4$	12	20	32
	24	23	47

$$x^2 = 7,38^{**}$$

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_1$	6	7	13
$V_2+V_4$	13	21	34
	19	28	47

$$x^2 = 0,25^{ns}$$

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_2$	12	3	15
$V_3$	7	8	15
	19	11	30

$$x^2 = 3,59^{ns}$$

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_1$	6	7	13
$V_2$	12	3	15
	18	10	28

$$x^2 = 3,47^{ns}$$

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_1$	6	7	13
$V_3$	7	8	15
	13	15	28

$$x^2 = 0,01^{ns}$$

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_2$	12	3	15
$V_4$	6	13	19
	18	16	34

$$x^2 = 7,89^{**}$$

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_1$	6	7	13
$V_4$	6	13	19
	12	20	32

$$x^2 = 0,70^{ns}$$

$M_1$	PR	PD	TOTAL
$V_3$	7	8	15
$V_4$	6	13	19
	13	21	34

$$x^2 = 0,81^{ns}$$

APÊNDICE 15 - Teste X<sup>2</sup> para plantas com e sem sintomas interno utilizando-se o método de inoculação M<sub>3</sub> no experimento IV.

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>1</sub>	15	5	20
V <sub>2</sub>	16	4	20
V <sub>3</sub>	16	4	20
V <sub>4</sub>	7	12	19
	54	25	79

SSI - plantas sem sintomas interno  
CSI - plantas com sintomas interno

$x^2 = 11,65^{**}$   
 $x^2(1\%) = 11,34$  (3 gl)

Conjunto de contrastes ortogonais de maneira a testar isoladamente os possíveis contrastes ortogonais correspondentes aos 3 graus de liberdade.

A -

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>1</sub> +V <sub>2</sub> +V <sub>3</sub>	47	13	60
V <sub>4</sub>	7	12	19
	54	25	79

$x^2 = 11,48^{**}$

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>1</sub>	15	5	20
V <sub>2</sub> +V <sub>3</sub>	32	8	40
	47	13	60

$x^2 = 0,20^{ns}$

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>2</sub>	16	4	20
V <sub>3</sub>	16	4	20
	32	8	40

$x^2 = 0,00^{ns}$

B -

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>1</sub> +V <sub>2</sub> +V <sub>3</sub>	47	13	60
V <sub>4</sub>	7	12	19
	54	25	79

$x^2 = 11,48^{**}$

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>3</sub>	16	4	20
V <sub>1</sub> +V <sub>2</sub>	31	9	40
	47	13	60

$x^2 = 0,05^{ns}$

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>1</sub>	15	5	20
V <sub>2</sub>	16	4	20
	31	9	40

$x^2 = 0,14^{ns}$

C -

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>1</sub> +V <sub>2</sub> +V <sub>3</sub>	47	13	60
V <sub>4</sub>	7	12	19
	54	25	79

$x^2 = 11,48^{**}$

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>2</sub>	16	4	20
V <sub>1</sub> +V <sub>3</sub>	31	9	40
	47	13	60

$x^2 = 0,05^{ns}$

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>1</sub>	15	5	20
V <sub>3</sub>	16	4	20
	31	9	40

$x^2 = 0,14^{ns}$

D -

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>2</sub> +V <sub>3</sub> +V <sub>4</sub>	38	21	59
V <sub>1</sub>	16	4	20
	54	25	79

$x^2 = 1,68^{ns}$

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>1</sub>	15	5	20
V <sub>2</sub> +V <sub>4</sub>	23	16	39
	38	21	59

$x^2 = 1,48^{ns}$

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>2</sub>	16	4	20
V <sub>4</sub>	7	12	19
	23	16	39

$x^2 = 7,59^{**}$

E -

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>1</sub> +V <sub>2</sub> +V <sub>4</sub>	38	21	59
V <sub>3</sub>	16	4	20
	54	25	79

$x^2 = 1,68^{ns}$

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>2</sub>	16	4	20
V <sub>1</sub> +V <sub>4</sub>	22	17	39
	38	21	59

$x^2 = 3,21^{ns}$

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>2</sub>	15	5	20
V <sub>4</sub>	7	12	19
	22	17	39

$x^2 = 5,77^{**}$

F -

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>1</sub> +V <sub>3</sub> +V <sub>4</sub>	38	21	59
V <sub>2</sub>	16	4	20
	54	25	79

$x^2 = 1,68^{ns}$

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>1</sub>	15	5	20
V <sub>3</sub> +V <sub>4</sub>	23	16	39
	38	21	59

$x^2 = 1,48^{ns}$

M <sub>3</sub>	SSI	CSI	TOTAL
V <sub>3</sub>	16	4	20
V <sub>4</sub>	7	12	19
	23	16	39

$x^2 = 7,50^{**}$

$x^2(1\%) = 6,64$  (1 gl)  
 $x^2(5\%) = 3,84$

APÊNDICE 16 - Teste  $\chi^2$  para plantas sadias e doentes utilizando-se os métodos de inoculação  $M_1$ ,  $M_2$  e  $M_3$  para as variedades  $V_1$ ,  $V_2$ ,  $V_3$ ,  $V_4$ . Exeprimento IV.

$V_1$	PS	PD	TOTAL
$M_1$	7	9	16
$M_2$	10	4	14
$M_3$	7	7	14
	24	20	44

$$\chi^2 = 2,48^{ns}$$

$V_1$  - NA 56-79

$V_2$	PS	PD	TOTAL
$M_1$	9	8	17
$M_2$	7	4	11
$M_3$	5	3	8
	21	15	36

$$\chi^2 = 0,39^{ns}$$

$V_2$  - H 60-6909

$V_3$	PS	PD	TOTAL
$M_1$	12	7	19
$M_2$	3	10	13
$M_3$	5	8	13
	20	25	45

$$\chi^2 = 5,30^{ns}$$

$V_3$  - CB 47-355

$V_4$	PS	PD	TOTAL
$M_1$	2	15	17
$M_2$	1	15	16
$M_3$	1	13	14
	4	43	47

$$\chi^2 = 0,37^{ns}$$

$V_4$  - CB 41-76

---


$$\chi^2 (5\%) = 5,99 (2gl)$$

APÊNDICE 17 - Teste  $X^2$  para plantas que recuperaram sintomas e plantas doentes utilizando-se os métodos de inoculação  $M_1$ ,  $M_2$  e  $M_3$  para as variedades  $V_1$ ,  $V_2$ ,  $V_3$  e  $V_4$ . Experimento IV.

$V_1$	PR	PD	TOTAL	$V_1$ - Na 56-79
$M_1$	4	9	13	
$M_2$	6	4	10	
$M_3$	6	7	13	
	16	20	36	

$x^2 = 1,99^{ns}$

$V_2$	PR	PD	TOTAL	$V_2$ - H 60-6909
$M_1$	3	8	11	
$M_2$	9	4	13	
$M_3$	12	3	15	
	24	15	39	

$x^2 = 7,95^*$

Conjunto de contrastes ortogonais para a variedade  $V_2$  de maneira a testar isoladamente os possíveis contrastes ortogonais correspondentes aos 3 graus de liberdade.

A -	PR	PD	TOTAL
$V_2$	12	3	15
$M_3$	12	12	24
$M_1+M_2$	24	15	39

$x^2 = 3,51^{ns}$

$V_2$	PR	PD	TOTAL
$M_1$	3	8	11
$M_2$	9	4	13
	12	12	24

$x^2 = 4,20^*$

B -	PR	PD	TOTAL
$M_2$	9	4	13
$M_3$	15	11	26
$M_1+M_2$	24	15	39

$x^2 = 0,49^{ns}$

$V_2$	PR	PD	TOTAL
$M_1$	3	8	11
$M_2$	12	3	15
	15	11	26

$x^2 = 7,23^{**}$

C -	PR	PD	TOTAL
$V_2$	3	8	11
$M_2$	21	7	28
$M_1+M_3$	24	15	39

$x^2 = 7,60^{**}$

$V_2$	PR	PD	TOTAL
$M_2$	9	4	13
$M_1$	12	3	15
	21	7	28

$x^2 = 0,43^{ns}$

$V_3$	PR	PD	TOTAL	$V_3$ - CB 47-355
$M_1$	1	7	8	
$M_2$	7	10	17	
$M_3$	7	8	15	
	15	25	40	

$x^2 = 2,76^{ns}$

$V_4$	PR	PD	TOTAL	$V_4$ - CB 41-76
$M_1$	3	15	18	
$M_2$	4	15	19	
$M_3$	6	13	19	
	13	43	56	

$x^2 = 1,23^{ns}$

$x^2(5\%) = 5,99$  (2 gl)  
 $x^2(1\%) = 6,64$  (1 gl)  
 $x^2(5\%) = 3,84$  (1 gl)

Apêndice 18 - Teste  $X^2$  para plantas com e sem sintomas interno utilizando-se os métodos de inoculação  $M_1$ ,  $M_2$  e  $M_3$  para as variedades  $V_1$ ,  $V_2$ ,  $V_3$  e  $V_4$ . Experimento IV

$V_1$	SSI	CSI	Total
$M_1$	8	12	20
$M_2$	12	8	20
$M_3$	15	5	20
	35	25	60

$V_1$  - NA 56-79

$$X^2 = 5,08^{ns}$$

$V_2$	SSI	CSI	Total
$M_1$	12	8	20
$M_2$	17	3	20
$M_3$	16	4	20
	45	15	60

$V_2$  - H 60-6909

$$X^2 = 3,73^{ns}$$

$V_3$	SSI	CSI	Total
$M_1$	12	8	20
$M_2$	17	3	20
$M_3$	16	4	20
	45	15	60

$V_3$  - CB 47-355

$$X^2 = 3,37^{ns}$$

$V_4$	SSI	CSI	Total
$M_1$	3	17	20
$M_2$	5	15	20
$M_3$	7	12	19
	15	44	59

$V_4$  - CB 41-76

$$X^2 = 2,45^{ns}$$

$$X^2 (1\%) = 6,64$$

$$X^2 (5\%) = 3,84 \quad (1gl)$$

APÊNDICE 19 - Reação de 7 variedades de cana-de-açúcar à *X. albilineans*, inoculadas por 2 diferentes métodos (M<sub>1</sub> e M<sub>2</sub>) e cujo palmito foi cortado na altura do vértice foliar.

NA 56-79  
COM CORTE

SEM CAPA M <sub>1</sub>									COM CAPA M <sub>2</sub>								
A	B	C	D	E	F	G	H	T	A	B	C	D	E	F	G	H	T
1	1	1	1	2	3	3	3	3	1	1	1	1	2	2	3	3	3
2	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	2	2	3	3	3	3	3
3	1	1	1	1	2	3	3	3	1	1	2	2	3	3	3	3	3
4	0	0	0	1	1	2	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
5	1	1	1	1	2	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6	1	1	2	3	3	3	3	3	1	1	1	1	2	3	3	3	3
7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2
8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

CB 47-355  
COM CORTE

SEM CAPA M <sub>1</sub>									COM CAPA M <sub>2</sub>								
A	B	C	D	E	F	G	H	T	A	B	C	D	E	F	G	H	T
1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0
2	1	1	1	1	2	2	3	3	1	1	1	1	2	2	3	3	3
3	1	1	1	1	1	2	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
4	1	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
6	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8	1	1	1	1	2	3	3	3	2	2	2	2	2	3	3	3	3
T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

CP 51-22  
COM CORTE

SEM CAPA M <sub>1</sub>									COM CAPA M <sub>2</sub>								
A	B	C	D	E	F	G	H	T	A	B	C	D	E	F	G	H	T
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2	2	2	2
4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
6	1	1	1	2	2	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	1	1	1	1	1	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

CB 41-76  
COM CORTE

SEM CAPA M <sub>1</sub>									COM CAPA M <sub>2</sub>								
A	B	C	D	E	F	G	H	T	A	B	C	D	E	F	G	H	T
1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	2	3	3	3	3
2	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2
3	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
4	1	1	1	2	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	1	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	2	3	3	3
7	1	1	1	1	3	3	3	3	1	1	3	3	3	3	3	3	3
8	1	1	1	2	3	3	3	3	0	0	0	1	1	1	3	3	3
T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

CB 45-3  
COM CORTE

SEM CAPA M <sub>1</sub>									COM CAPA M <sub>2</sub>								
A	B	C	D	E	F	G	H	T	A	B	C	D	E	F	G	H	T
1	0	1	1	1	1	2	3	3	1	1	2	2	2	2	3	3	3
2	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	1	1	1	1	1	2	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	3	3	3	3	3
6	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	3	3	3
7	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	3	3
8	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

CB 49-260  
COM CORTE

SEM CAPA M <sub>1</sub>									COM CAPA M <sub>2</sub>								
A	B	C	D	E	F	G	H	T	A	B	C	D	E	F	G	H	T
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2	3	3	3
2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

CB 47-89  
COM CORTE

SEM CAPA M <sub>1</sub>									COM CAPA M <sub>2</sub>								
A	B	C	D	E	F	G	H	T	A	B	C	D	E	F	G	H	T
1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	2	2	2	2
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2	2	2
5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	2	3	3
7	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	1	2	2	2	2	2	2	3	0	1	1	1	1	1	0	0	0
T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

DATA DAS LEITURAS

- A - 15.07.81
- B - 21.07.81
- C - 28.07.81
- D - 05.08.81
- E - 13.08.81
- F - 20.08.81
- G - 27.08.81
- H - 02.09.81
- T - Testemunha

APÊNDICE 20 - Presença de feixes vasculares descoloridos (do 1º ao 3º nó) em 7 cultivares de cana de açúcar, 153 dias após a inoculação por 2 diferentes métodos (M<sub>1</sub> e M<sub>2</sub>), com uma suspensão de *X. albilineans* apresentando 61% de transmitância a 625 nm. Experi-

mento V.

Na 56-79

CB 47-355

COM CORTE		COM CORTE		COM CORTE		COM CORTE					
SEM CAPA M <sub>1</sub>			COM CAPA M <sub>2</sub>			SEM CAPA M <sub>1</sub>			COM CAPA M <sub>2</sub>		
	1º	2º	3º		1º	2º	3º		1º	2º	3º
1	-	-	-	+	+	+		1	-	-	-
2	+	+	+	+	+	+		2	-	-	-
3	-	-	-	+	+	+		3	+	+	+
4	-	-	-	-	-	-		4	-	-	-
5	+	+	+	+	+	+		5	+	+	+
6	+	+	+	+	+	+		6	-	-	-
7	+	+	+	+	+	+		7	-	-	-
8	+	+	+	+	+	-		8	+	+	+
T	-	-	-	-	-	-		T	-	-	-

CP 51-22

CB 49-260

COM CORTE		COM CORTE		COM CORTE		COM CORTE					
SEM CAPA M <sub>1</sub>			COM CAPA M <sub>2</sub>			SEM CAPA M <sub>1</sub>			COM CAPA M <sub>2</sub>		
	1º	2º	3º		1º	2º	3º		1º	2º	3º
1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-
3	-	-	-	+	+	+		3	+	+	+
4	+	+	+	-	-	-		4	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-		5	-	-	-
6	+	+	+	-	-	-		6	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-		7	-	-	-
8	+	+	+	+	+	+		8	-	-	-
T	-	-	-	-	-	-		T	-	-	-

CB 41-76

CB 45-3

SEM CAPA M <sub>1</sub>		COM CAPA M <sub>2</sub>		SEM CAPA M <sub>1</sub>		COM CAPA M <sub>2</sub>	
	1º	2º	3º		1º	2º	3º
1	+	+	-	+	+	+	
2	+	+	+	+	+	+	
3	+	+	+	+	+	+	
4	+	+	+	+	+	+	
5	+	+	+	.	.	.	
6	-	-	-	-	-	-	
7	-	-	-	+	+	+	
8	-	-	-	-	-	-	
T	-	-	-	-	-	-	

CB 47-89

SEM CAPA M <sub>1</sub>		COM CAPA M <sub>2</sub>					
	1º	2º	3º		1º	2º	3º
1	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-
5	+	+	+	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-
T	-	-	-	-	-	-	-

\* 1º nó lido a 5 cm acima do solo

+ presença de feixe vascular descolorido  
 - ausência de feixe vascular descolorido  
 . planta morta  
 leitura - 15/12/81  
 T - Testemunha

Apêndice 21 - Teste  $X^2$  para plantas sadias e doentes utilizando-se o método de inoculação  $M_1$  no experimento V

$M_1$	PS	PD	Total	$M_1$ -Método de inoculação sem capa de alumínio	
$V_1+V_2+V_4$	3	19	22	$V_1=NA$ 56-79	$V_5=CB45-3$
$V_3+V_6$	9	4	13	$V_2=CB$ 47-355	$V_6=CB49-260$
$V_5+V_7$	5	5	10	$V_3=CP$ 51-22	$V_7=CB47-89$
	17	28	45	$V_4=CB$ 41-76	

$$X^2 = 11,56^{**}$$

$$X^2 (1\%) = 9,21$$

Conjunto de contrastes ortogonais de maneira a testar isoladamente os possíveis contrastes ortogonais correspondente aos 2 graus de liberdade.

A.

$M_1$	PS	PD	Total	$M_1$	PS	PD	Total
$V_1+V_2+V_3+V_5+V_7$	8	24	32	$V_1+V_2+V_4$	3	19	22
$V_3+V_6$	9	4	13	$V_5+V_7$	5	5	10
	17	28	45		8	24	32

$$X^2 = 7,70^{**}$$

$$X^2 = 4,85^*$$

B.

$M_1$	PS	PD	Total	$M_1$	PS	PD	Total
$V_1+V_2+V_4+V_3+V_6$	12	23	35	$V_1+V_2+V_4$	3	19	22
$V_5+V_7$	5	5	10	$V_3+V_6$	9	4	13
	17	28	45		12	23	35

$$X^2 = 0,81^{ns}$$

$$X^2 = 11,19^{**}$$

C.

$M_1$	PS	PD	Total	$M_1$	PS	PD	Total
$V_3+V_6+V_5+V_7$	14	9	23	$V_3+V_6$	9	4	13
$V_1+V_2+V_4$	3	19	22	$V_5+V_7$	5	5	10
	17	28	45		14	9	23

$$X^2 = 10,67^{**}$$

$$X^2 = 0,88^{ns}$$

$$X^2 (1\%) = 6,64$$

$$X^2 (5\%) = 3,84 (1gl)$$

Apêndice 22 - Teste  $X^2$  para plantas que recuperaram sintomas e plantas doentes utilizando-se o método de inoculação  $M_1$  no experimento V

$M_1$	PR	PD	Total
$V_1+V_2+V_4$	2	19	21
$V_3+V_6$	3	4	7
$V_5+V_7$	6	5	11
	11	28	39

$$X^2 = 8,14^*$$

$$X^2 (5\%) = 5,99 (2gl)$$

Conjunto de contrastes ortogonais de maneira a testar isoladamente os possíveis contrastes ortogonais correspondentes aos 2 graus de liberdade.

A.

$M_1$	PR	PD	Total
$V_1+V_2+V_4+V_5+V_7$	8	24	32
$V_3+V_6$	3	4	7
	11	28	39

$$X^2 = 0,91^{ns}$$

$M_1$	PR	PD	Total
$V_1+V_2+V_4$	2	19	21
$V_5+V_7$	6	5	11
	8	24	32

$$X^2 = 7,80^{**}$$

B.

$M_1$	PR	PD	Total
$V_1+V_2+V_4+V_3+V_6$	5	23	28
$V_5+V_7$	6	5	11
	11	28	39

$$X^2 = 5,26^*$$

$M_1$	PR	PD	Total
$V_1+V_2+V_4$	2	19	21
$V_3+V_6$	3	4	7
	5	23	28

$$X^2 = 3,98^*$$

C.

$M_1$	PR	PD	Total
$V_3+V_6+V_5+V_7$	9	9	18
$V_1+V_2+V_4$	2	19	21
	11	28	39

$$X^2 = 7,83^{**}$$

$M_1$	PR	PD	Total
$V_3+V_6$	3	4	7
$V_5+V_7$	6	5	11
	9	9	18

$$X^2 = 0,23^{ns}$$

---


$$X^2 (1\%) = 6,64 (1gl)$$

$$X^2 (5\%) = 3,84 (1gl)$$

APÊNDICE 23 - Teste  $X^2$  para plantas com e sem sintomas internos utilizando-se o método de inoculação  $M_1$  no experimento V.

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_1+V_2+V_4$	8	13	21
$V_3+V_6$	12	4	16
$V_5+V_7$	14	2	16
	34	19	53

$$X^2 = 10,82^{**}$$

$$X^2 (1\%) = 9,21 (2 \text{ gl})$$

Conjunto de contrastes ortogonais de maneira a testar isoladamente os possíveis contrastes ortogonais correspondentes aos 2 graus de liberdade.

A.

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_1+V_2+V_4+V_5+V_7$	22	15	37
$V_3+V_6$	12	4	16
	34	19	53

$$X^2 = 1,18^{ns}$$

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_1+V_2+V_4$	8	13	21
$V_5+V_7$	14	2	16
	22	15	37

$$X^2 = 9,21^{**}$$

B.

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_1+V_2+V_4+V_3+V_6$	20	17	37
$V_5+V_7$	14	2	16
	34	19	53

$$X^2 = 5,44^*$$

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_1+V_2+V_4$	8	13	21
$V_3+V_6$	12	4	16
	20	17	37

$$X^2 = 4,98^*$$

C.

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_3+V_6+V_5+V_7$	26	6	32
$V_1+V_2+V_4$	8	13	21
	34	19	53

$$X^2 = 10,26^{**}$$

$M_1$	SSI	CSI	Total
$V_3+V_6$	12	4	16
$V_5+V_7$	14	2	16
	26	6	32

$$X^2 = 0,82^{ns}$$

$$X^2 (1\%) = 6,64 (1 \text{ gl})$$

$$X^2 (5\%) = 3,84 (1 \text{ gl})$$

APÊNDICE 24 - Teste  $\chi^2$  para plantas sadias e doentes utilizando-se o método de inoculação  $M_2$  no Experimento V.

$M_2$	PS	PD	
$V_1+V_2+V_4$	2	18	20
$V_3+V_6$	12	3	15
$V_5+V_7$	3	10	13
	17	31	48

$$\chi^2 = 19,55^{**}$$

$$\chi^2(1\%) = 9,21 \text{ (2gl)}$$

Conjunto de contrastes ortogonais de maneira a testar isoladamente os possíveis contrastes ortogonais correspondentes aos 2 graus de liberdade.

A -

$M_2$	PS	PD	TOTAL
$V_1+V_2+V_4+V_5+V_7$	5	28	33
$V_3+V_6$	12	3	15
	17	31	48

$$\chi^2 = 12,61^{**}$$

B -

$M_2$	PS	PD	TOTAL
$V_1+V_2+V_4+V_3+V_6$	14	21	35
$V_5+V_7$	3	10	13
	17	31	48

$$\chi^2 = 1,18^{ns}$$

C -

$M_2$	PS	PD	TOTAL
$V_3+V_6+V_5+V_7$	15	13	28
$V_1+V_2+V_4$	2	18	20
	17	31	48

$$\chi^2 = 9,67^{**}$$

$M_2$	PS	PD	TOTAL
$V_1+V_2+V_4$	2	18	20
$V_5+V_7$	3	10	13
	5	28	33

$$\chi^2 = 1,05^{ns}$$

$M_2$	PS	PD	TOTAL
$V_1+V_2+V_4$	2	18	20
$V_3+V_6$	12	3	15
	14	21	35

$$\chi^2 = 17,5^{**}$$

$M_2$	PS	PD	TOTAL
$V_3+V_6$	12	3	15
$V_5+V_7$	3	10	13
	15	13	28

$$\chi^2 = 9,05^*$$

$$\chi^2(1\%) = 6,64 \text{ (1 gl)}$$

$$\chi^2(5\%) = 3,84 \text{ (1 gl)}$$

APÊNDICE 25 - Teste  $x^2$  para plantas com e sem sintomas interno utilizando-se o método de inoculação  $M_2$  no Experimento V.

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1+V_2+V_4$	10	12	22
$V_3+V_6$	12	4	16
$V_5+V_7$	15	1	16
	37	17	54

$$x^2 = 10,46^{**}$$

$$x^2(1\%) = 9,21 \text{ (2 gl)}$$

Conjunto de contrastes ortogonais de maneira a testar isoladamente os possíveis contrastes ortogonais correspondes aos 2 graus de liberdade.

A -

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1+V_2+V_4+V_5+V_7$	25	13	38
$V_3+V_6$	12	4	16
	37	17	54

$$x^2 = 0,45^{ns}$$

B -

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1+V_2+V_4+V_3+V_6$	22	16	38
$V_5+V_7$	15	1	16
	37	17	54

$$x^2 = 6,72^{**}$$

C -

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_3+V_6 + V_5+V_7$	27	5	32
$V_1+V_2+V_4$	10	12	22
	37	17	54

$$x^2 = 9,14^{**}$$

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1+V_2+V_4$	10	12	22
$V_5+V_7$	15	1	16
	25	13	38

$$x^2 = 9,95^{**}$$

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_1+V_2+V_4$	10	12	22
$V_3+V_6$	12	4	16
	22	16	38

$$x^2 = 3,33^{ns}$$

$M_2$	SSI	CSI	TOTAL
$V_3+V_6$	12	4	16
$V_5+V_7$	15	1	16
	27	5	32

$$x^2 = 2,13^{ns}$$

$$x^2(1\%) = 6,64 \text{ (1 gl)}$$

$$x^2(5\%) = 3,84 \text{ (1 gl)}$$

APÊNDICE 26 - Teste  $\chi^2$  para plantas sadias e doentes utilizando-se os métodos de inoculação  $M_1$  e  $M_2$  para os conjuntos de variedades - Experimento V.

$V_1+V_2+V_4$	PS	PD	TOTAL
$M_1$	3	19	22
$M_2$	2	18	20
	5	37	42

$$\chi^2 = 0,13^{ns}$$

$V_3+V_6$	PS	PD	TOTAL
$M_1$	9	4	13
$M_2$	12	3	15
	21	7	28

$$\chi^2 = 0,43^{ns}$$

$V_5+V_7$	PS	PD	TOTAL
$M_1$	5	5	10
$M_2$	3	10	13
	8	15	23

$$\chi^2 = 1,79^{ns}$$

---


$$\chi^2(1\%) = 6,64 \text{ (1gl)}$$

$$\chi^2(5\%) = 3,84 \text{ (1gl)}$$

APÊNDICE 27 - Teste  $X^2$  para plantas que recuperaram sintomas e plantas doentes utilizando-se os métodos de inoculação  $M_1$  e  $M_2$  para os conjunto de variedades no experimento V.

$V_1 + V_2 + V_3$	PR	PD	Total
$M_1$	2	19	21
$M_2$	4	18	22
	6	37	43

$$X^2 = 0,67^{ns}$$

$V_3 + V_6$	PR	PD	Total
$M_1$	3	4	7
$M_2$	1	3	4
	4	7	11

$$X^2 = 0,34^{ns}$$

$V_5 + V_7$	PR	PD	Total
$M_1$	6	5	11
$M_2$	3	10	13
	9	15	24

$$X^2 = 2,50^{ns}$$

---


$$X^2(1\%) = 6,64 \text{ (1 gl)}$$

$$X^2(5\%) = 3,84 \text{ (1 gl)}$$

APÊNDICE 28 - Teste  $X^2$  para plantas com e sem sintomas internos utilizando-se os métodos de inoculação  $M_1$  e  $M_2$  para o conjunto de variedades no Experimento V.

$V_1 + V_2 + V_3$	SSI	CSI	Total
$M_1$	8	13	21
$M_2$	10	12	22
	18	25	43

$$X^2 = 0,24^{ns}$$

$V_3 + V_6$	SSI	CSI	Total
$M_1$	12	4	16
$M_2$	12	4	16
	24	8	32

$$X^2 = 0^{ns}$$

$V_5 + V_7$	SSI	CSI	Total
$M_1$	14	2	16
$M_2$	15	1	16
	29	3	32

$$X^2 = 0,37^{ns}$$

---


$$X^2 (5\%) = 6,64 (1 \text{ gl})$$

$$X^2 (1\%) = 3,84 (1 \text{ gl})$$

APÊNDICE 29 - Reação de 7 espécies diferentes, quando inoculadas com suspensão de *X. albii* -  
*lineans* apresentando 60% de transmitância a 625 nm. Experimento VI

	SS					SG					DC					MD					CB 45-3					NA 56-79					CB 41-76														
	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E	A	B	C	D	E					
1	1	1	2	3	3	2	3	3	3	3	2	2	3	3	3	1	2	3	3	3	1	2	3	3	3	1	2	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	3	3	3
2	2	2	3	3	3	2	3	3	3	3	1	1	1	1	1	0	1	1	2	3	1	1	2	2	2	1	1	2	2	2	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	2	2	2	3	3
3	0	0	0	0	0	0	1	2	3	3	0	0	0	2	2	1	2	2	3	3	1	1	2	3	3	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	1	2	3	3					
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	3	3	0	0	0	0	0	2	2	3	3	3	1	2	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	3	3					
5	2	3	3	3	3	2	2	2	3	3	2	2	3	3	3	1	1	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	2	2	3	3	3					
6	1	3	3	3	3	1	2	2	3	3	1	2	3	3	3	1	1	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	2	3	3	3	3					
7	2	3	3	3	3	2	2	2	3	3	0	1	1	1	1	1	2	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	3	3	1	1	2	3	3					
8	1	3	3	0	0	1	1	0	0	0	2	2	3	3	3	2	2	3	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	2	3	3	3					
9	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	2	2	2	1	1	2	2	2	1	2	3	3	3	2	2	3	3	3					
T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					

Data das Leituras

- A - 06.10.81
- B - 12.10.81
- C - 19.10.81
- D - 26.10.81
- E - 23.11.81

- SS - Sorgo sacarino
- SG - Sorgo granífero
- DC - Milho doce de Cuba
- MD - Composto milho doce
- T - Testemunha

APÊNDICE 30 - Teste  $\chi^2$  para plantas sadias e doentes utilizando-se o método de inoculação  $M_1$  no experimento VI.

$M_1$	PS	PD	Total
$V_1+V_2+V_5$	9	18	27
$V_4+V_6$	2	16	18
$V_3+V_7$	0	18	18
	11	52	63

$M_2$  - método de inoculação sem capa de alumínio  
 $V_1$  - sorgo sacarino  
 $V_2$  - sorgo granífero  
 $V_3$  - milho doce de Cuba  
 $V_4$  - composto milho doce  
 $V_5$  - CB 45-3  
 $V_6$  - Na 56-79  
 $V_7$  - CB 41-76

$\chi^2 = 9,04$

$\chi^2(5\%) = 5,99$  (2 gl)

Conjunto de contrastes ortogonais de maneira a testar isoladamente os possíveis contrastes ortogonais correspondentes aos 3 graus de liberdade.

A.

$M_1$	PS	PD	Total
$V_1+V_2+V_5+V_4+V_6$	11	34	45
$V_3+V_7$	0	18	18
	11	52	63

$\chi^2 = 5,32^*$

$M_2$	PS	PD	Total
$V_1+V_2+V_5$	9	18	27
$V_4+V_6$	2	16	18
	11	34	45

$\chi^2 = 2,89^{ns}$

B.

$M_1$	PS	PD	Total
$V_1+V_2+V_5+V_3+V_7$	9	36	45
$V_4+V_6$	2	16	18
	11	52	63

$\chi^2 = 0,70^{ns}$

$M_1$	PS	PD	Total
$V_1+V_2+V_5$	9	18	27
$V_3+V_7$	0	18	18
	9	36	45

$\chi^2 = 7,5^{**}$

C.

$M_1$	PS	PD	Total
$V_4+V_6+V_3+V_7$	2	34	36
$V_1+V_2+V_5$	9	18	27
	11	52	63

$\chi^2 = 8,28^{**}$

$M_1$	PS	PD	Total
$V_4+V_6$	2	16	18
$V_3+V_7$	0	18	18
	2	34	36

$\chi^2 = 2,12^{ns}$

$\chi^2(5\%) = 6,64$  (1 gl)

$\chi^2(1\%) = 3,84$  (1 gl)