



Avaliação de diferentes tratamentos térmicos no controle do raquitismo-da-soqueira em cana-de-açúcar

Antonio Ribeiro Fernandes Júnior, Evandro de Jesus Ganem Júnior, Lauricema Barbosa Lozada Marchetti & Alfredo Seiti Urashima

Departamento de Biotecnologia Vegetal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de São Carlos, 13600-970, Araras, SP, Brasil

Autor para correspondência: Alfredo S. Urashima, e-mail: alfredo@cca.ufscar.br

RESUMO

O raquitismo-da-soqueira, causado por *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (Lxx), é uma das doenças mais problemáticas da cana-de-açúcar devido à ausência de sintomas característicos, o que dificulta a sua identificação no campo e permite sua disseminação através do plantio de mudas contaminadas. O principal método de controle dessa doença é o tratamento térmico dos toletes. Duas combinações de binômio tempo/temperatura são recomendadas atualmente no Brasil: (50°C/2h e 52°C/30min). O presente estudo objetivou otimizar o tratamento térmico com a incorporação de aditivos ao tratamento 52°C, que possibilitem uma maior eficiência no controle da Lxx e pouca interferência na brotação. Dados do presente estudo demonstraram que o tratamento 50°C/2h controlou completamente a bactéria, mas com efeito deletério na germinação. A adição de HCl (1%/10 min) ou CH₃COOOH(2%) + SDS(1%)/10min na água a 52°C, propiciou controle superior ao tratamento 52°C/30 min, sem afetar a brotação.

Palavras-chave: *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, termoterapia, controle alternativo.

ABSTRACT

Evaluation of different treatments with hot water to control ratoon stunting disease of sugarcane

Ratoon stunting disease, caused by the bacterium *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (Lxx), is one of the most troublesome diseases of sugarcane worldwide. The absence of characteristic external symptoms makes its diagnosis in the field unreliable, helping Lxx to spread by propagating cuttings from infected plants. Thermotherapy of the stalks is the method most used to control this disease in Brazil. Two combinations of time/temperature are currently recommended: 50°C/2h and 52°C/30min. The present work aimed to improve the 52°C-treatment by using additives in order to control Lxx with no deleterious effect on germination. Results of this study showed that the 50°C/2h treatment completely eliminated the pathogen but reduced stalk germination. Adding HCl (1%/10 min) or CH₃COOOH(2%) + SDS(1%)/10min in the water at 52°C resulted in higher percentage of control than the treatment at 52°C/30 min, without causing damage to the stalks.

Keywords: *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*, thermotherapy, alternative control.

Brasil lidera a produção mundial de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.), seguido por Índia e China (FAO, 2009). Segundo estimativa da Conab (2009), a produção nacional para a safra 2009 é de 612,21 milhões de toneladas, ocupando uma área total de 7,531 milhões de hectares, sendo que a maior concentração dessa cultura está em São Paulo com 4,1 milhões de ha. A atividade está em plena ascensão, o que é justificada pela expansão da capacidade produtiva existente e pela implantação de novas unidades em vários estados brasileiros. Esse rápido aumento na área produtiva, no entanto, pode estar trazendo também uma ameaça a esses novos canaviais, visto que as mudas empregadas podem estar infectadas com a bactéria *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (Lxx), agente causal do raquitismo-da-soqueira (RSD), considerada a principal doença da cana-de-açúcar devido ao dano à produtividade e a sua incidência em praticamente todas as regiões produtoras de cana-de-açúcar como África

do Sul, onde o dano variou de 1 a 41% (Bailey & Bechet, 1997), Austrália, com queda na produtividade de 12 a 37% (Young & Brumbley, 2004) e Estados Unidos, onde o prejuízo na produção variou de 9 a 33% (Grisham, 1991). No Brasil, essa doença está distribuída em todos os estados produtores (Tokeshi & Rago, 2005; Almeida, 2008) e o potencial de dano foi demonstrado por Matsuoka (1984) que observou mais de 30% de quebra na produção na variedade CB49-260. A importância do RSD no estado de São Paulo também pode ser evidenciada pelo fato de ter sido um dos primeiros fitopatógenos a ter seu genoma seqüenciado pela rede ONSA da FAPESP (Revista FAPESP, 2000).

Os sintomas em campo mais comuns associados a essa doença são: crescimento irregular e raquitismo das plantas; afinamento e encurtamento dos internódios; sintomas de deficiência hídrica em períodos de veranico e, conseqüentemente, baixa produtividade. Internamente, os

colmos maduros podem apresentar descoloração dos feixes vasculares (Tokeshi & Rago, 2005). No entanto, todos esses sintomas podem diferir em função da variedade, idade da planta e tipo de solo, sendo facilmente confundidos com outras doenças e problemas abióticos (Grisham, 2004). A dificuldade de se identificar a doença no campo faz com que a bactéria se dissemine facilmente através dos instrumentos e outros implementos utilizados durante a operação de corte da cana-de-açúcar (Gillaspie & Teakle, 1989). Essa característica da cultura aliada à natureza do patógeno de ser habitante do xilema, faz com que sua disseminação ocorra exclusivamente pelo homem, seja durante os tratos culturais ou pelo plantio de órgãos propagativos infectados (Comstock et al., 1996).

Embora exista variação quanto à suscetibilidade das variedades ao RSD, não existe nenhuma variedade imune (Teakle et al., 1975). Devido à impossibilidade de controle da doença uma vez instalada, o único método eficiente de controle no campo é a exclusão, com o plantio de toletes livres do patógeno. Atualmente, duas são as técnicas empregadas para essa finalidade: cultura de tecidos e tratamento térmico (Hoy et al., 2003).

No tratamento térmico, trabalha-se o binômio tempo-temperatura. Os toletes-sementes são submetidos à imersão em água quente por um determinado tempo, na tentativa de destruir as proteínas e enzimas da bactéria, sem injuriar em demasia as proteínas e enzimas das gemas dos toletes. Duas combinações são empregadas atualmente no Brasil: 52°C por 30 minutos (Copersucar, 1989) ou 50°C por 2 horas (Damann & Benda, 1983). Dessas, a primeira é a preferencialmente empregada pelas unidades produtoras por demorar menos e permitir o tratamento de um número maior de toletes. Ambas não conseguem a eliminação completa da bactéria, apresentando escapes que servem como fonte de inóculo (Benda, 1994). Em ambos os casos, para que ocorra a destruição total das células bacterianas, há necessidade de repetições do tratamento térmico dos materiais previamente tratados (Steindl, 1974), constituindo-se numa operação trabalhosa e custosa, nem sempre seguida pelos produtores. O objetivo do presente trabalho visou aperfeiçoar o tratamento térmico com a incorporação de aditivos ao tratamento 52°C, que possibilitem uma maior eficiência no controle da Lxx, pouca interferência na brotação e menor tempo de termoterapia.

O experimento foi conduzido no Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar), localizado na cidade de Araras, SP. Os tratamentos utilizados foram: água a 50°C por 2 horas (T1); água a 52°C por 30 minutos (T2); ácido peracético em solução 2% a 52°C por 5 minutos (T3); ácido clorídrico 1% a 52°C por 10 minutos (T4); mistura de SDS (sulfato dodecil de sódio) 1% e ácido peracético 2% a 52°C por 10 minutos (T5); testemunha (T6). Tais tratamentos foram selecionados por terem tido o menor efeito sobre a brotação dos toletes, em experimentos preliminares. Utilizou-se a variedade de cana CB49-260, cuja infecção por Lxx foi confirmada

pelo método sorológico, detalhado posteriormente. Para cada tratamento foram utilizadas 60 gemas individuais, de colmos com idade de 10 meses e touceiras de 4º corte. Os tratamentos térmicos foram realizados em banho hidrotérmico, que possibilitam controle da temperatura (marca Tecnal, modelo TE – 057). As gemas foram imersas nas soluções e tempos estabelecidos, de acordo com cada tratamento.

Para o teste de brotação, as gemas tratadas foram plantadas em bandejas com substrato composto de terra (33%), esterco bovino curtido (33%) e vermiculita (33%). Cada bandeja continha 20 gemas, sendo cada tratamento composto por três bandejas, ou seja, três repetições. Essas bandejas foram alocadas em casa de vegetação, formando blocos casualizados. A brotação foi avaliada até 30 dias após o plantio. Após 40 dias, seis mudas de cada tratamento foram selecionadas e transplantadas individualmente para vasos plásticos de 25 litros com 20 kg de solo. Esses vasos foram alocados no ambiente natural, formando seis blocos casualizados. Após 10 meses do transplantio, dois colmos de cada touceira foram cortados e o caldo extraído do 3º nó por centrifugação a 3.000 rpm por 5 min para exame diagnóstico do RSD. A presença de Lxx foi verificada por ensaio sorológico de “dot-blot enzyme immunoassay” (Hsu, 2009) detalhado por Carneiro Jr et al. (2004). O volume de caldo de cana empregado foi de 100 µL, sendo que o antissoro bruto de coelho empregado na diluição de 1:10.000 e o antissoro de cabra contra IgG de coelho conjugado a fosfatase-alcalina diluído 1:2.000. O controle positivo constou de cultura pura de Lxx (1×10^7 UFC/mL) e suas diluições de 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . O controle negativo foi água ultra pura milli Q®. Os dados numéricos da brotação e controle, expresso através da porcentagem de toletes sem a presença de Lxx em função dos diferentes tratamentos, foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade (SISVAR, 2009), antes de serem atribuídas as médias das porcentagens.

Dados do presente ensaio demonstraram que somente o tratamento com água quente a 50°C por 2h teve efeito deletério na brotação, reduzindo-a significativamente em relação à testemunha (Tabela 1). Os demais tratamentos não tiveram efeito negativo na taxa de brotação dos toletes nos ensaios de controle da bactéria. Nesse ensaio, o tratamento 50°C por 2h foi o mais eficiente para eliminação do patógeno, sendo o único que atingiu 100% de controle nos toletes tratados, diferindo significativamente do restante. Os tratamentos não convencionais com CH_3COOOH + SDS, HCl e CH_3COOOH tiveram a segunda melhor performance com taxa de controle de Lxx de 81, 80 e 75%, respectivamente, não diferindo estatisticamente entre si. Convém notar que dentre esses tratamentos, os dois primeiros tiveram desempenho estatisticamente superior no controle da bactéria que o tratamento tradicional de 52°C por 30 min, pois este somente proporcionou controle de 67%.

TABELA 1 - Porcentagem de controle de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* (Lxx) detectada por “dot blot” e brotação de toletes de cana-de-açúcar em função de diferentes tratamentos térmicos

| Tratamentos | Controle de Lxx*** | Brotação |
|--|--------------------|-------------------|
| T 1. H ₂ O 50°C/2h | 100 ^{a**} | 70,0 ^b |
| T 2. H ₂ O 52°C/30min | 67 ^b | 91,7 ^a |
| T 3. CH ₃ COOOH 2%/52°C/5min | 75 ^{bc} | 90,0 ^a |
| T. 4 HCl 1%/52°C/10min | 80 ^c | 88,3 ^a |
| T 5. CH ₃ COOOH(2%) + SDS(1%)* 52°C/10min | 81 ^c | 86,7 ^a |
| T 6. Testemunha | 0 | 96,7 ^a |
| C.V. (%) | 15,98 | 5,51 |

* Sulfato dodecil de sódio

** Letras iguais na coluna indicam que não há diferença significativa entre as respectivas médias pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$)

*** Porcentagem de toletes sem a presença de Lxx

O tratamento mais empregado no Brasil (52°C por 30 min) não afetou a brotação, mas apresentou alto índice de escape, tendo a menor taxa de controle de Lxx dentre os cinco tratamentos estudados (Tabela 1). Escape na termoterapia já havia sido observado por Tokeshi & Rago (2005) que recomendaram seguidos retratamentos térmicos, prática raramente adotada. Isto é um fator extremamente preocupante, pois evidencia que em muitas regiões do país, inclusive nas novas áreas de expansão da cultura como no oeste paulista e em outros estados, o material propagativo utilizado no plantio pode estar contaminado mesmo após o tratamento térmico recomendado pelos institutos de pesquisa no Brasil. O resultado prático desse escape vai ter consequência na produção nos anos subseqüentes visto que o RSD acarreta maiores danos à produtividade à medida que os cortes se sucedem, além de reduzir o número de cortes da cana, ou seja, sua vida útil (Grisham, 1991). Importante salientar também que a doença se torna mais severa quando as plantas são submetidas a condições de estresse hídrico (Hoy et al., 1999), fenômeno esse comum nos cerrados de Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso onde ocorrem uma estação seca pronunciada de abril a setembro, exatamente os locais onde o cultivo da cana-de-açúcar vem se expandindo rapidamente (Soares & Cardoso, 2007).

O outro tratamento tradicional (50°C por 2h) eliminou completamente Lxx dos toletes no presente ensaio (Tabela 1 e Figura 1). Esse dado não coincide com os de Damann & Benda (1983) e Grisham et al. (2007) que detectaram células bacterianas em amostras tratadas nas mesmas condições. Uma das causas dessa diferença pode ser a técnica de detecção da bactéria entre os estudos, visto que os métodos empregados não foram os mesmos em nenhum dos trabalhos: Damann & Benda (1983) empregaram microscopia por contraste de fase, Grisham et al. (2007) empregaram PCR em tempo real e o presente trabalho, o sorológico (“dot blot”). Variação no índice de detecção de Lxx em toletes de cana-de-açúcar em função do método de detecção também foi observada por Hoy et al. (1999) que ressaltaram a necessidade de desenvolvimento de um método sensível, precoce e confiável para detecção da bactéria para permitir um monitoramento preciso e assim,

melhorar as estratégias de controle da doença. Esse método ideal ainda não foi encontrado, pois o PCR em tempo real é uma técnica molecular que consegue detectar quantidades ínfimas da bactéria, mesmo que esta esteja presente em folhas de cana com um mês de idade na ressoça, mas não diferencia células viáveis das não, além de empregar equipamentos de alto custo dificultando seu uso rotineiro.

Existem vários métodos de detecção de Lxx em cana-de-açúcar como o microscópico (Gillaspie et al., 1973), molecular (Pan et al., 1998) e sorológicos como “tissue blot” (Harrison & Davis, 1988), “evaporative-binding enzyme immunoassay” (EB-EIA) (Croft et al., 1994) e “dot blot” (Carneiro Jr et al., 2004), cada um com méritos e deméritos individuais. O “dot blot” vem sendo o usado corriqueiramente para detecção do RSD no Brasil por apresentar várias vantagens como: a) possibilitar análise de grande número de amostras (até 96) simultaneamente; b) preservação da amostra para ser examinada ao longo de vários dias, o que é muito útil em caso de grande número exames; c) ser exequível para laboratórios com facilidades limitadas; d) permitir o envio da membrana para outros laboratórios (Viswanathan, 2004). O seu limite de detecção no presente estudo foi de 10⁶ UFC/mL (Figura 1), coincidindo com o nível obtido por Carneiro Jr. et al. (2004), mas esse método tem o inconveniente de detectar tanto células bacterianas viáveis e não viáveis por basear-se na especificidade antígeno-anticorpo (Hsu, 2009). No entanto, no presente estudo células vivas foram detectadas, pois a amostra foi retirada do terceiro nó após dez meses do plantio, fazendo com que somente células vivas do tolete de plantio se multiplicassem e disseminassem até atingir o local amostrado. É interessante notar que a adição de ácido clorídrico e ácido peracético + SDS na água quente propiciou controle de Lxx estatisticamente superior, com redução de um terço no tempo de submersão, ao tratamento mais convencional a 52°C (Tabela 1). Além disso, não foi observado nenhum efeito deletério na brotação dos toletes, equiparando-se à testemunha.

O presente trabalho é pioneiro, pois nenhum estudo ainda foi realizado com o uso de aditivos na termoterapia na cultura da cana-de-açúcar. Ácido clorídrico foi empregado

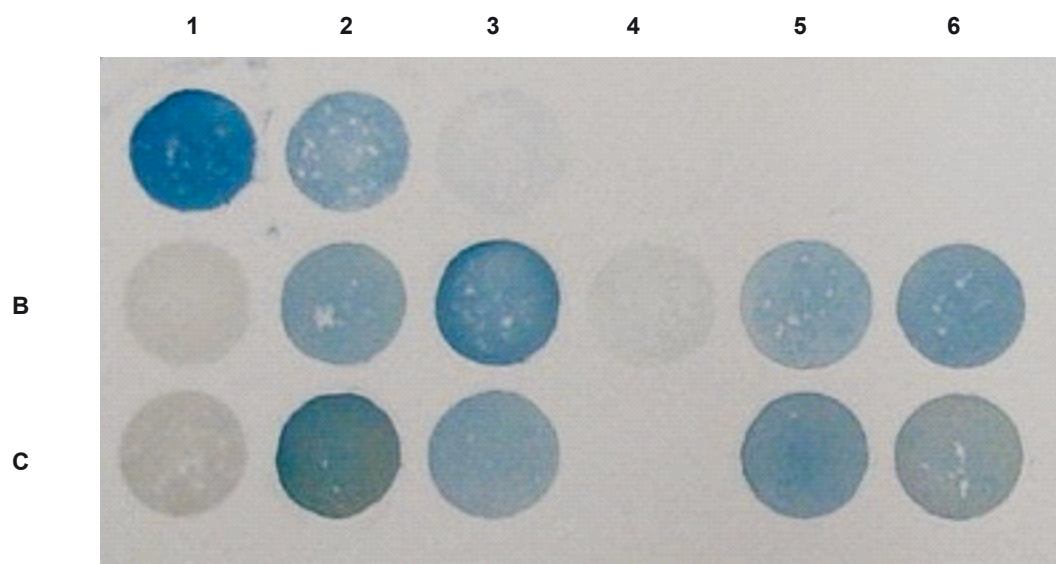


FIGURA 1 - Exame diagnóstico de raquitismo-da-soqueira por “dot blot” em cana-de-açúcar submetido a diferentes tratamentos térmicos. As amostras dispostas em linhas (letras) e colunas (números) representam:

A – suspensão de células de *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* empregada como controle positivo com concentração A1 - 10^7 UFC/mL; A2 - 10^6 UFC/mL; A3 - 10^5 CFU/mL; A4 - 10^4 UFC/mL

B1, C1 - H_2O $50^\circ C$ / 120 min; B2, C2 - H_2O $52^\circ C$ / 30min; B3, C3 - CH_3COOOH 2% / $52^\circ C$ / 5min; B4, C4 - HCl 1% / $52^\circ C$ / 10min; B5, C5 - CH_3COOOH (2%) + sulfato dodecil de sódio $52^\circ C$ /10min; B6, C6 - Testemunha

em submersão de sementes de tomate a temperatura ambiente para erradicar eficientemente *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Fatmi et al., 1991). Ácido peracético é um poderoso desinfetante/esterilizante hospitalar com amplo e rápido espectro de ação e baixo custo (Svidzinski et al., 2007) e que também foi recentemente introduzido na esterilização dos equipamentos da indústria de alimentos no Brasil pois tem a vantagem de ser atóxico e biodegradável (Kunigk et al., 2001), mas que, aparentemente, ainda não foi testado como alternativa para o controle de patógenos de sementes ou outros órgãos propagativos. A incorporação de aditivos ao tratamento térmico para o controle de Lxx mostrou-se promissor já que houve uma redução no tempo de imersão dos toletes e eficiência superior ao tratamento majoritariamente empregado pelas usinas ($52^\circ C$ por 30 min). Existe ainda a possibilidade de se encontrar melhores resultados, visto que outras combinações de concentração/tempo desses aditivos se mostraram promissoras nos ensaios preliminares de brotação dos toletes (dados não apresentados) e não foram testadas no presente estudo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Almeida IMG (2008) Doenças causadas por bactérias. In: Dinardo-Miranda LL, Vasconcelos ACM, Landell MGA (Eds.) *Cana-de-açúcar*. Campinas SP. Instituto Agrônomo. pp. 437-450.

Bailey RA, Bechet GR (1997) Further evidence of the effects of ratoon stunting disease on production under irrigated and rainfed conditions. Proceedings of South Africa Sugar Technology Association 71:97-101.

Benda GTA (1994) Serial hot-water treatment for sugarcane disease control. In: Rao GP, Gillaspie Jr AG, Upadhyaya PP, Bergamin Filho A, Agnihotri VP, Chen CT (Eds.) Current trends in sugarcane pathology. New Delhi. International Books and Periodicals Supply Service. pp. 297-310.

Carneiro Jr JB, Silveira SF, Souza Filho GA, Olivares FL, Giglioti EA (2004) Especificidade de anti-soro policlonal a *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*. Fitopatologia Brasileira 29:614-619.

Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira: cana-de-açúcar: safra 2009/2010: terceiro levantamento (Dezembro/2009). Brasília, 2009. <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/3cana_de_acucar.pdf>.

Comstock JC, Shine Jr JM, Davis MJ, Dean JL (1996) Relationship between resistance to *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* colonization in sugarcane and spread of ratoon stunting disease in the field. Plant Disease 80:704-708.

Copersucar (1989) Binômio tempo x temperatura no controle do raquitismo da soqueira (RSD) da cana-de-açúcar, pelo processo de termoterapia em gemas isoladas. São Paulo SP. Cadernos COPERSUCAR. Série Melhoramento, 25.

Croft BJ, Greet AD, Leaman TM, Teakle DS (1994) RSD diagnosis and varietal resistance screening in sugarcane using the EB-EIA technique. Australian Society of Sugar Cane Technology 16:143-151.

- Damann Jr. KE, Benda GTA (1983) Evaluation of commercial heat-treatment methods for control of ratoon stunting disease of sugarcane. *Plant Disease* 67:966-967.
- FAO. 2009. FAOSTAT. <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>.
- Fatmi M, Schaad NW, Bolkan HA (1991) Seed treatment for erradicating *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* from naturally infected tomato seeds. *Plant Disease* 75:383-385.
- Gillaspie Jr AG, Davis RE, Worley JF (1973) Diagnosis of ratoon stunting disease based on the presence of a specific microorganism. *Plant Disease Report* 57:987-990.
- Gillaspie Jr AG, Teakle DS (1989) Ratoon stunting disease. In: Ricaud C, Egan BT, Gillaspie Jr AG (Eds). *Diseases of sugarcane: major diseases*. Amsterdam. Elsevier Science. pp. 59-80.
- Grisham MP (1991) Effect of ratoon stunting disease on yield of sugarcane grown in multiple three-year planting. *Phytopathology* 81:337-340.
- Grisham MP (2004) Ratoon stunting disease. In: Rao GP, Saumtally AS, Rott P (Eds.) *Sugarcane Pathology*. Vol. III. Bacterial and nematodes diseases. Enfield NH. Science Publishers. pp. 77-96.
- Grisham MP, Pan YB, Richard Jr. EP (2007) Early detection of *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* in sugarcanes leaves by real-time polymerase chain reaction. *Plant Disease* 91:430-434.
- Harrison NA, Davis MJ (1988) Colonization of vascular tissues by *Clavibacter xyli* subsp. *xyli* in stalks of sugarcane cultivars differing in susceptibility to ratoon stunting disease. *Phytopathology* 78:722-727.
- Hoy JW, Grisham MP, Damann KE (1999) Spread and increase of ratoon stunting disease of sugarcane and comparison of disease detection methods. *Plant Disease* 83:1170-1175.
- Hoy JW, Bischoff KP, Milligan SB, Gravois KA (2003) Effect of tissue culture explant source on sugarcane yield components. *Euphytica* 129:237-240.
- Hsu HT (2009) Development of enzyme linked, tissue blot and dot blot immunoassays for plant virus detection. In: Burns R (Ed.) *Plant pathology: Techniques and protocols*. New York NY. Humana Press. pp. 15-25.
- Kunigk L, Gomes DR, Forte F, Vidal KP, Gomes LF, Souza PF (2001) The influence of temperature on the decomposition kinetics of peracetic acid in solutions. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 18:217-220.
- Matsuoka S (1984) Benefícios da prática de tratamento térmico de mudas de cana-de-açúcar e eficiência dos métodos existentes no Brasil. Piracicaba SP. *Cadernos Planalsucar*, no. 3.
- Pan YB, Grisham MP, Burner DM, Damann Jr. KE, Wei Q (1998) A polymerase chain reaction protocol for the detection of *Clavibacter xyli* subsp. *xyli*, the causal bacterium of sugarcane ratoon stunting disease. *Plant Disease* 82:285-290.
- Revista FAPESP (2000). Achados preciosos. Edição impressa 52 – Abril 2000. <http://revistapesquisa.fapesp.br/?art=906&bd=1&pg=1&lg=>.
- Sisvar (2009) Softwares. Downloads. Versão 5.1.1. <http://www.dex.ufla.br/~danielff/softwares.htm>.
- Soares RAB, Cardoso HR (2007) Irrigação de salvamento em cana-de-açúcar. In: Segato SV, Fernandes C, Pinto AS (Org.) *Expansão e renovação de canavial*. Piracicaba SP. Editora CP 2. pp. 281-293.
- Steindl DRL (1974) Ratoon stunting disease history, distribution and control. Proceedings, XV Congress of the International Society of Sugar Cane Technologists. Durban. SSCT. Vol. 1, pp. 210-212.
- Svidzinski AE, Posseto I, Pádua RAF, Tavares TR, Svidzinski TIE (2007) Eficiência do ácido peracético no controle de *Staphylococcus aureus* metilicina resistente. *Ciência, Cuidado e Saúde* 6:312-318.
- Teakle DS, Smith PM, Steindl DRL (1975) Ratoon stunting disease of sugarcane: Possible correlation of resistance with vascular anatomy. *Phytopathology* 65:138-141.
- Tokeshi H, Rago A (2005) Doenças da cana-de-açúcar. In: Kimati H, Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A, Camargo LEA (Eds.) *Manual de Fitopatologia*. vol 2. Doenças das plantas cultivadas. 4ª. ed. São Paulo SP. Agronômica Ceres. pp. 185-196.
- Viswanathan R (2004) Serodiagnosis of *Leifsonia xyli* subsp. *xyli* causing ratoon stunting disease in sugarcane. In: Rao GP, Saumtally AS, Rott P (Eds.) *Sugarcane Pathology*. Vol. III. Bacterial and nematodes diseases. Enfield NH. Science Publishers. pp. 153-173.
- Young A, Brumbley S (2004) Ratoon stunting disease of sugarcane: history, management and current research. In: Rao GP, Saumtally AS, Rott P (Eds.) *Sugarcane Pathology*. Vol. III. Bacterial and nematodes diseases. Enfield NH. Science Publishers. pp. 97-124.

TPP 9021 - Recebido 10 Fevereiro 2009 - Aceito 3 Fevereiro 2010
 Editor de Seção: Marisa A.S.V. Ferreira