



AVALIAÇÃO EM CAMPO E COM USO DE MARCADORES MOLECULARES DA RESISTÊNCIA DE LINHAGENS DE ALGODOEIRO ÀS PRINCIPAIS DOENÇAS¹

Nelson Dias Suassuna¹; Camilo de Lelis Morello²; Paulo Augusto Vianna Barroso²; Lúcia Vieira Hoffmann²; Washington Bezerra²; Fernanda Oliveira da Cunha Magalhães².

¹ Núcleo Cerrado da Embrapa Algodão. E-mail: suassuna@cnpa.embrapa.br; ² Núcleo Cerrado da Embrapa Algodão Rodovia GO-462, Km12 75.375-000 - Santo Antônio de Goiás - GO

RESUMO – O desenvolvimento de cultivares com alto potencial produtivo, boa qualidade de fibra e resistência às principais doenças é objetivo do programa de melhoramento da Embrapa Algodão. Neste estudo, avaliou-se o potencial produtivo e a resistência de 40 linhagens às principais doenças, em condições naturais e artificiais de infecção. Para algumas doenças, também foram usados marcadores moleculares ligados a genes que conferem resistência. No ensaio I, avaliaram-se a incidência de mosaico das nervuras, a severidade de mancha de ramulária e a severidade de mancha angular, além da produtividade, sob condições naturais de infecção. No ensaio II, avaliaram-se o índice de doença de ramulose e a produtividade em campo, sob inoculação artificial de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, agente causal da ramulose. No ensaio III, avaliou-se o índice de galhas do *Meloidogyne incognita*, raça 3, sobre o conjunto de linhagens testadas, em casa-de-vegetação. No ensaio IV, as linhagens foram testadas em laboratório quanto à presença de marcadores moleculares ligados a genes específicos de resistência à mancha angular, doença azul e aos nematóides reniforme e das galhas. As linhagens 2007-419, 2007-414, 2006-376, 2007-423 e 2004-1540 foram mais produtivas e com maior resistência à mancha de ramulária, ramulose, bacteriose e doença azul.

Palavras-chave: *Gossypium hirsutum*, ramulose, mosaico das nervuras, resistência genética;

INTRODUÇÃO

O ecossistema cerrado, principal região produtora de algodão do país, tem entre suas principais demandas tecnológicas o desenvolvimento de cultivares com elevado potencial produtivo de pluma, resistência ou tolerância às principais doenças e alta qualidade tecnológica da fibra, bem como características conferidas por transgenes. Essas características, aliadas às boas práticas agronômicas, tais como plantio direto e rotação de culturas, conferem segurança, rentabilidade e sustentabilidade à cultura do algodoeiro.

Diversos programas públicos e privados de melhoramento de algodoeiro buscam o desenvolvimento de cultivares para cultivo no cerrado brasileiro. Dentre esses, destaca-se o da

¹ Instituição de fomento/patrocínio (se for o caso)

Embrapa Algodão em parceria com a Fundação Goiás, que desenvolve, nas condições edafo-climáticas do cerrado, um programa voltado para a obtenção de cultivares competitivas com resistência às principais doenças. Aliado a avaliações fenotípicas realizadas em condições de campo e casa-de-vegetação, o programa recentemente iniciou o uso de marcadores moleculares associados à resistência a quatro doenças específicas, mancha angular (XIAO et al., 2010), doença azul (FANG et al., 2010) e aos nematóides das galhas (GUTIÉRREZ et al., 2010) e reniformes (DIGHE et al., 2009). Com essa abordagem, além de maior segurança às avaliações fenotípicas, permite-se a seleção de linhagens em condições de escape da doença, em maior escala ou em etapas preliminares do processo de melhoramento.

Em um conjunto de linhagens avançadas e finais de algodoeiro, desenvolvidas pelo programa Embrapa Algodão/Fundação Goiás, objetivou-se realizar avaliações em campo e em casa-de-vegetação, mensurando-se a resistência desses genótipos em relação às principais doenças que ocorrem no cerrado brasileiro e seu desempenho produtivo. Também, verificou-se a presença de quatro marcadores moleculares ligados à resistência nessas linhagens. Essas informações são fundamentais no processo de tomada de decisão acerca de futuros lançamentos das linhagens como cultivares.

METODOLOGIA

Na safra 2009/2010, 40 linhagens avançadas e finais e duas cultivares (testemunhas) foram avaliadas em condições de campo e casa-de-vegetação quanto à resistência às doenças: doença azul (*Cotton leafroll dwarf virus*), mancha angular (*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*) mancha-de-ramulária (*Ramularia areola*), ramulose (*Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*) e nematóide das galhas (*Meloidogyne incognita*). Nos ensaios em campo foram mensuradas variáveis agronômicas: altura média de plantas, produtividade de algodão em caroço, percentagem de fibra, produtividade de algodão em pluma e peso médio de capulho. Todos os genótipos foram caracterizados quanto à presença de marcadores moleculares ligados à resistência.

Ensaios de campo – Avaliação da severidade de ramulose, mancha angular, mancha de ramulária e incidência de doença azul em condições naturais de infecção

As avaliações de resistência à mancha de ramulária, mancha angular, doença azul e ramulose foi realizada em dois ensaios conduzidos na área experimental da Fundação Goiás, em Santa Helena de Goiás. Em ambos os ensaios, os tratamentos (linhagens e cultivares) foram dispostos segundo o delineamento de blocos ao acaso, com três repetições. A parcela experimental foi constituída por 2

linhas de 5 m lineares, espaçadas em 0,8 m. Nos ensaios foram usadas as cultivares IAC 25 e FM 966 como testemunhas, a primeira resistente à virose, mancha angular e medianamente resistente a mancha de ramulária, a segunda resistente a bacteriose, medianamente resistente a mancha de ramulária, porém suscetível à virose.

A infecção por ramulária e mancha angular foi a partir de inóculo de ocorrência natural na área experimental, enquanto que a infecção por ramulose foi devido a inoculação artificial, aos 40 dias após a emergência (d.a.e), por meio de pulverização, a uma concentração de 5×10^4 esporos por ml. As avaliações da incidência/severidade da doença foram realizadas entre os dias 14 e 15 de abril de 2010. As avaliações da severidade da mancha de ramulária e de mancha angular foram realizadas com auxílio de escala diagramática, enquanto que a avaliação para ramulose foi realizada avaliando-se 20 plantas por parcela para posterior cálculo do índice de doenças (I.D). A incidência de virose foi computada apenas para plantas com sintomas típicos de doença azul. Após a colheita, a produtividade de cada parcela, percentagem de fibra e o rendimento de pluma foram mensurados, além de altura média de plantas e peso médio de capulhos. A incidência de doença azul foi quantificada em ambos os ensaios.

Os dados de produtividade de algodão em caroço, produtividade de algodão em pluma e percentagem de fibra foram submetidos à análise de variância. Quando se constatou o efeito significativo de tratamentos, realizou-se o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Ensaio em casa-de-vegetação

As linhagens foram avaliadas em condições controladas para resistência ao nematóide das galhas, *Meloidogyne incognita* (raça 3). O ensaio foi conduzido em casa de vegetação climatizada. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso com cinco repetições, sendo a parcela representada por um vaso (5 litros) contendo duas plantas. Os vasos foram com substrato para germinação e vermiculita (4:1 v.v). Aos 15 dias após a germinação, as plantas foram inoculadas com aproximadamente 3.000 ovos do nematóide, previamente multiplicado em tomateiro. Noventa dias após a inoculação, as raízes das plantas foram avaliadas visualmente e a cada planta foi atribuída uma nota de zero a quatro, conforme Zhang et al. (2006).

Marcadores moleculares

40 linhagens e duas cultivares controle (Delta Opal e FM966) foram usadas nesse ensaio. A extração de DNA foi realizada a partir de uma semente, conforme o protocolo DArT (2009). Quatro pares de primers de SSR marcados com fluorocromo (DC20027, CIR246, CIR 316 e BNL 3279) foram

usados na genotipagem. Estes primers foram selecionados por estarem fisicamente ligados a genes que confere resistência a bacteriose (*Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*) (Xiao et al. 2010), a doença azul (FANG et al., 2010) e aos nematóides das galhas (GUTIÉRREZ et al., 2010) e reniformes (DIGHE et al., 2009). Duas variedades de algodão herbáceo foram usadas como controles Delta Opal e FM966.

A PCR foi conduzida em sistema multiplex usando o Kit PCR Multiplex (Qiagen). Esta reação foi realizada para volume final de 5 µL, contendo 10 ng de DNA, 2,5 µL de 2x Qiagen multiplex PCR Master mix (HotStarTaq DNA Polymerase, PCR amplification buffer, 3mM de MgCl₂), 0,5 de Q-solution, cada par de primer (forward e reverse) em concentrações otimizadas e água livre de RNAase. A programação da PCR em termociclador seguindo as etapas: denaturação inicial a 95°C por 15 minutos; seguido de 34 ciclos e cada consistindo de uma etapa de denaturação a 95°C por 1 minuto; uma de anelamento a 55°C por 1.5 minuto e uma de extensão a 72°C por 1 minuto. E por fim, 60°C por 30 minutos de extensão final. Em seguida foi preparado um mix contendo 0,5 µL desta diluição, 0,08µL de Rox 500 GeneScan e formamida a 94,2%. Este foi denaturado a 95°C por 5 minutos e submetido a eletroforese de capilar em sequenciador automático ABI 3100. O tamanho dos fragmentos amplificados em pares de bases foi estimado usando o programa Genemapper versão 3.5.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença estatística para seguinte variáveis mensuradas no ensaio de resistência a doenças: resistência a mancha de ramulária (P=0,0246), altura média de plantas (P=0,0038), produtividade de algodão em caroço (P<0,0001) e percentagem de fibra (P<0,0001), produtividade de fibra (P<0,0001). As variáveis incidência média de virose e severidade da mancha angular (bacteriose) não foram submetidas à análise por não haver homogeneidade de variâncias. Apenas quatro linhagens desenvolveram sintomas de mancha angular, enquanto que 12 tiveram plantas na parcela com doença azul, todavia, em níveis bem abaixo da testemunha suscetível (Tabela 1). As linhagens CNPA GO 2007-419 e CNPA GO 2007-421 foram as mais resistentes para a mancha de ramulária (Tabela 1). As linhagens mais produtivas foram CNPA GO 2007-419, CNPA GO 2007-414, CNPA GO 2007-423, CNPA GO 2007-421 e CNPA GO 2007-424, sendo que a CNPA GO 2007-419 também tem alta percentagem de fibra e não apresentou sintomas de outras doenças, além da menor severidade de mancha de ramulária.

As linhagens CNPA GO 2006-281 e CNPA MT 2004-1540 foram as mais resistentes a ramulose (Tabela 2). As linhagens CNPA GO 2006-158, CNPA GO 2007-419, CNPA GO 2007-411, CNPA GO 2007-421, CNPA GO 2007-424, CNPA GO 2007-592, CNPA GO 2007-630, CNPA GO

2007-700 e CNPA MT 2005-6141 tiveram percentagem de fibra estatisticamente superior nesse ensaio. Houve diferença estatística significativa para a variável rendimento de fibra, sendo as linhagens CNPA GO 2006-376, CNPA GO 2007-423 e CNPA MT 2004-1540 as mais produtivas quando inoculadas com ramulose.

Tomando em consideração o conjunto das variáveis analisadas no primeiro ensaio (doenças) as linhagens CNPA GO 2007-419, CNPA GO 2007-414, CNPA GO 2006-376, CNPA GO 2007-423 e CNPA MT 2004-1540 ficam em destaque, tendo um conjunto equilibrado de resistência às doenças, aliado a um bom potencial produtivo na ausência de aplicações de fungicida e inseticidas para o controle do pulgão, considerando-se as três últimas como tolerante a doença ramulose, pois obtiveram boa produtividade na presença da doença.

O padrão de bandas para o marcador BNL 3279 foi 124/124, o que indica que nenhuma das linhagens testadas possui o gene de resistência associado ao marcador. Apesar do índice de galhas avaliado na linhagem CNPA GO 2007-592 ter sido menor que o controle resistente, IAC 25 (Tabela 2), o marcador CIR 316 teve padrão de bandas 198/201 para todas as linhagens testadas, o que implica na não presença do marcador ligado ao gene de resistência. Para esse marcador foi usado como controle positivo a cultivar M315, resultando, nesse caso, no padrão de bandas 201/210, o que confirma a eficácia do marcador.

Os marcadores CIR 246 e DC 20027 tiveram algumas discrepâncias com as avaliações fenotípicas, tanto em revelar bandas de padrão resistente em genótipos avaliados como suscetíveis (minoridade dos casos), quanto em não revelar padrão de bandas resistente em genótipos fenotipados como resistentes. Entretanto, quando o mesmo conjunto de linhagens foi avaliado na safra anterior, várias das discrepâncias observadas não são confirmadas, sendo, portanto, a maioria delas, devido a diferentes pressões de inóculo e condições de ambiente das diferentes safras.

Outro ponto observado é que em alguns genótipos as avaliações genotípicas foram repetidas e geraram resultados distintos, ou mesmo padrões de bandas indicativos de heterozigotos. Esses resultados permitem inferir sobre o grau de homozigose das linhagens com base nos locos avaliados. Também foi possível identificar linhagens impuras, com diferentes alelos fixados na população. O uso desses marcadores permitiu que purificássemos tais linhagens usando apenas indivíduos com os alelos de resistência.

CONCLUSÕES

A linhagem CNPA GO 2007-419 é uma fonte de resistência à mancha de ramulária, possui resistência à doença azul e bacteriose em avaliações de campo e confirmadas por marcadores moleculares, além de um excelente potencial produtivo (acima de 2.300 kg/ha de fibra) sem o uso de fungicidas. Os marcadores moleculares usados foram importantes em confirmar avaliações fenotípicas realizadas em campo, apontar discrepâncias na fenotipagem devido a escape ou condições ambientais desfavoráveis ao desenvolvimento de doenças, além de ser útil na purificação de genótipos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

DART (Diversity Arrays Technology). **Protocolo de extração de DNA de plantas**. 2009. Disponível em: < <http://www.DiversityArrays.com> >. Acesso em: 10 jan. 2011.

DIGHE, N. D.; ROBINSON, A. F.; BELL, A. A.; MENZ, M. A.; CANTRELL, R. G.; STELLY, D. M. Linkage mapping of resistance to reniform nematode in cotton following introgression from *Gossypium longicalyx* (Hutch. & Lee). **Crop Science**, v. 49, n. 4, p. 1151-1164, 2009.

GUTIÉRREZ, O. A.; JENKINS, J. N.; MCCARTY, J. C.; WUBBEN, M. J.; HAYES, R. W.; CALLAHAN, F. E. SSR markers closely associated with genes for resistance to root-knot nematode on chromosomes 11 and 14 of Upland cotton. **Theoretical and Applied Genetics**. v. 121. p.1323–1337, 2010.

XIAO, J.; FANG, D. D.; BHATTI, M.; HENDRIX, B.; CANTRELL, R. A SNP haplotype associated with a gene resistant to *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum* in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). **Molecular Breeding**, v. 25, p. 593-602, 2010.

ZHANG, J. F.; WADDELL, C.; SENGUPTA-GOPALAN, C.; POTENZA, C.; CANTRELL, R. G. Relationships between root-knot nematode resistance and plant growth in Upland cotton: Gallings index as a criterion. **Crop Science** v. 46, p. 1581-1586, 2006.

Tabela 1. Incidência de virose (VIR), severidades de bacteriose (BACT) e ramulariose (RLARIA), altura média de plantas (ALT.), produtividade de algodão em caroço em kg/ha (PAC); % de fibra (PF), produtividade de algodão em pluma em kg/ha (PAP) e peso médio de capulho em g (PC) em linhagens avançadas e finais, submetidas a elevadas concentrações de inóculo de doenças. Santa Helena de Goiás, 09/10.

Tratamento	Vir*1	Bac1	Rlaria	ALT	PAC	PF	PAP	PC					
1- IAC 25	0,00	0,00	3,50	A	99,20	A	4075,88	B	39,42	C	1605,22	C	7,66
2- FM 966	8,50	0,00	3,50	A	76,80	A	2799,63	D	41,68	B	1165,36	D	7,61
3- CNPA GO 2005-809	0,25	0,00	3,50	A	79,70	A	3014,63	D	42,22	B	1274,10	D	6,46
4- CNPA GO 2005-1023	0,00	0,00	3,00	A	94,60	A	3737,88	C	41,49	B	1549,25	C	6,89
5- CNPA GO 2006-158	0,00	0,00	2,25	A	93,60	A	4127,88	B	43,73	A	1803,56	B	5,37
6- CNPA GO 2006-281	0,00	0,00	3,50	A	94,90	A	3741,88	C	41,84	B	1564,59	C	6,80
7- CNPA GO 2006-1051	0,00	0,00	3,00	A	94,70	A	3855,88	C	39,47	C	1521,74	C	6,36
8- CNPA GO 2006-1029	0,25	0,00	3,50	A	94,50	A	3561,75	C	41,05	C	1461,86	C	5,85
9- CNPA GO 2002-2043	0,00	0,00	3,50	A	94,60	A	4179,63	B	39,96	C	1669,77	C	6,94
10- CNPA GO 2006-376	0,00	0,00	3,00	A	96,90	A	4203,13	B	41,82	B	1757,61	B	6,13
11- CNPA GO 2006-174	0,00	0,00	3,50	A	92,30	A	3863,75	C	42,17	B	1624,28	C	6,68
12- CNPA GO 2006-197	0,00	0,00	3,75	A	92,20	A	3481,25	C	40,71	C	1417,11	D	6,25
13- CNPA GO 2006-1057	0,00	0,00	3,75	A	86,10	A	3013,50	D	39,47	C	1189,60	D	5,92
14- CNPA GO 2006-305	0,50	0,00	3,25	A	92,30	A	3396,25	C	41,72	B	1417,38	D	6,35
15- CNPA GO 2006-306	0,50	0,00	3,00	A	100,30	A	3924,75	C	41,99	B	1647,94	C	7,24
16- CNPA GO 2007-419	0,00	0,00	1,50	A	109,40	A	5366,50	A	44,08	A	2365,94	A	5,79
17- CNPA GO 2007-545	2,00	0,00	3,50	A	90,10	A	3687,50	C	40,74	C	1502,32	C	5,25
18- CNPA GO 2007-414	0,00	0,00	2,00	A	108,10	A	5012,00	A	43,32	A	2171,45	A	5,36
19- CNPA GO 2007-411	0,25	0,00	3,00	A	96,10	A	4232,00	B	42,01	B	1777,02	B	8,41
20- CNPA GO 2007-423	0,00	2,00	2,75	A	101,10	A	4816,38	A	42,80	A	2061,43	A	7,66
21- CNPA GO 2007-421	0,00	2,00	1,75	A	110,70	A	5250,13	A	43,50	A	2283,73	A	6,76
22- CNPA GO 2007-327	0,25	0,00	2,75	A	102,70	A	4277,75	B	44,14	A	1890,30	B	6,86
23- CNPA GO 2007-75	0,25	0,00	3,25	A	89,90	A	4568,50	B	41,92	B	1915,01	B	6,99
24- CNPA GO 2007-424	0,75	0,00	2,50	A	104,60	A	5221,63	A	42,19	B	2202,68	A	6,24
25- CNPA GO 2007-548	0,00	0,00	3,00	A	94,60	A	4071,88	B	41,44	B	1692,13	C	6,00
26- CNPA GO 2007-529	0,00	0,00	3,25	A	90,50	A	3568,00	C	40,28	C	1434,96	D	5,97
27- CNPA GO 2007-425	1,00	2,00	2,25	A	96,40	A	4160,75	B	40,44	C	1681,68	C	6,81

28- CNPA GO 2007-592	0,00	0,00	2,75	A	101,70	A	4139,00	B	44,14	A	1827,53	B	6,56
29- CNPA GO 2007-630	0,00	0,00	3,25	A	102,30	A	3931,88	C	43,62	A	1711,82	C	5,65
30- CNPA GO 2007-661	0,50	0,00	2,75	A	100,10	A	4484,50	B	41,14	C	1844,85	B	5,88
31- CNPA GO 2007-239	0,00	0,00	3,50	A	88,30	A	3634,38	C	41,64	B	1513,42	C	6,25
32- CNPA GO 2007-700	0,25	0,00	3,00	A	92,00	A	3528,25	C	43,46	A	1533,02	C	7,51
33- CNPA BA 2005-3008	0,00	0,00	3,25	A	91,60	A	3275,88	D	40,70	C	1332,79	D	5,79
34- CNPA BA 2005-3089	0,00	0,00	3,25	A	99,80	A	4116,63	B	39,01	C	1605,54	C	6,67
35- CNPA BA 2005-3300	0,00	0,00	3,50	A	97,40	A	3279,88	D	36,74	D	1205,15	D	6,70
36- CNPA BA 2005-2481	0,00	0,00	2,75	A	84,90	A	4053,88	B	42,89	A	1738,53	C	6,91
37- CNPA BA 2004-241	0,00	0,00	3,25	A	90,30	A	3616,00	C	41,63	B	1505,42	C	5,77
38- CNPA MT 2004-2080	0,00	0,00	3,75	A	90,40	A	3504,38	C	42,81	A	1499,61	C	6,55
39- CNPA MT 2004-2005	0,00	2,00	3,00	A	100,30	A	3946,25	C	41,37	B	1632,65	C	5,73
40- CNPA MT 2004-2088	0,00	0,00	3,25	A	98,00	A	3849,00	C	43,27	A	1665,64	C	5,71
41- CNPA MT 2004-1540	0,00	0,00	3,75	A	87,60	A	3572,13	C	42,56	B	1521,80	C	5,89
42- CNPA MT 2005-6141	0,00	0,00	3,75	A	93,00	A	2891,63	D	43,88	A	1269,12	D	5,79
Média	-	-	3,10		95,11		3929,39		41,77		1644,16		6,43
P	-	-	0,0246		0,0038		0,0000		0,0000		0,0000		0,0949
CV	-	-	17,52		6,89		8,45		1,97		7,99		12,72

*=Incidência média de virose (doença azul) típica – *Cotton leafroll dwarf virus* – em dois experimentos com nível de controle de pulgão 60% em plantas infestadas. ¹ = Não submetido à análise por não haver homogeneidade de variâncias. Médias seguidas das mesmas letras, dentro das colunas, não diferem estatisticamente entre si entre pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Tabela 2. Índice de ramulose (ID), altura média de plantas (ALT.), produtividade de algodão em caroço em kg/ha (PAC); % de fibra (PF), produtividade de algodão em pluma em kg/ha (PAP) e peso médio de capulho em g (PC) em linhagens avançadas e finais, submetidas a elevadas concentrações de inóculo de ramulose, após inoculação artificial com o fungo *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*. Santa Helena de Goiás, 09/10. Índice de massa de ovos (IMO) e índice de galhas (IG) avaliados após inoculação artificial de *Meloidogyne incognita* em casa de vegetação.

Tratamento	ID	ALT	PAC	PF	PAP	PC	IMO	IG
1- IAC 25	33,53 B	96,50 A	3980,25 A	39,87 C	1586,96 B	7,09 A	1,4	1,2
2- FM 966	60,32 A	82,60 A	2308,13 C	41,43 C	954,07 C	6,58 A	2,0	2,6
3- CNPA GO 2005-809	57,30 A	83,90 A	2516,00 C	43,02 B	1082,69 C	6,77 A	1,8	2,4
4- CNPA GO 2005-1023	68,96 A	98,50 A	3485,00 B	42,93 B	1496,52 B	7,03 A	2,5	3,6
5- CNPA GO 2006-158	87,33 A	100,70 A	2235,00 C	43,99 A	983,29 C	5,78 A	4,0	4,0
6- CNPA GO 2006-281	15,41 B	100,70 A	3438,50 B	42,27 B	1453,51 B	6,79 A	4,0	4,0
7- CNPA GO 2006-1051	70,59 A	91,80 A	2909,88 C	39,67 C	1155,33 C	6,65 A	2,6	2,8
8- CNPA GO 2006-1029	73,89 A	103,20 A	1995,75 C	40,61 C	810,24 C	6,46 A	3,8	3,4
9- CNPA GO 2002-2043	46,85 B	110,20 A	3773,13 A	40,79 C	1537,45 B	7,05 A	4,0	4,0
10- CNPA GO 2006-376	36,20 B	97,60 A	3856,88 A	42,80 B	1650,74 A	5,90 A	4,0	4,0
11- CNPA GO 2006-174	77,37 A	99,00 A	2960,63 C	41,05 C	1214,38 C	6,55 A	4,0	3,4
12- CNPA GO 2006-197	41,43 B	101,90 A	3019,50 C	41,86 B	1266,78 C	6,53 A	4,0	4,0
13- CNPA GO 2006-1057	60,34 A	103,10 A	2703,13 C	40,00 C	1081,04 C	7,00 A	2,4	3,2
14- CNPA GO 2006-305	50,89 B	89,20 A	2963,75 C	42,23 B	1250,22 C	6,68 A	3,8	4,0
15- CNPA GO 2006-306	54,45 A	103,10 A	3145,75 B	42,33 B	1331,02 B	7,21 A	3,8	3,6
16- CNPA GO 2007-419	77,56 A	101,50 A	3242,50 B	44,11 A	1430,16 B	6,45 A	1,6	2,2
17- CNPA GO 2007-545	31,86 B	92,10 A	3279,75 B	41,81 B	1374,77 B	6,19 A	3,2	4,0
18- CNPA GO 2007-414	81,41 A	97,60 A	2478,75 C	44,33 A	1099,03 C	5,65 A	3,8	4,0
19- CNPA GO 2007-411	67,91 A	100,50 A	3348,13 B	44,10 A	1476,42 B	7,05 A	2,2	2,2
20- CNPA GO 2007-423	53,60 A	107,00 A	4359,50 A	42,60 B	1864,31 A	6,13 A	1,8	1,4
21- CNPA GO 2007-421	62,33 A	101,00 A	3359,63 B	43,30 A	1455,20 B	6,64 A	2,7	2,4
22- CNPA GO 2007-327	69,55 A	105,30 A	2973,75 C	44,61 A	1326,78 B	6,83 A	2,2	3,2
23- CNPA GO 2007-75	77,49 A	101,90 A	2583,63 C	41,30 C	1067,15 C	7,47 A	1,4	2,5
24- CNPA GO 2007-424	70,82 A	107,90 A	2709,75 C	43,42 A	1176,05 C	6,27 A	2,2	3,0

25- CNPA GO 2007-548	48,94	B	106,90	A	3194,63	B	41,80	B	1334,80	B	6,16	A	3,6	4,0
26- CNPA GO 2007-529	79,12	A	96,30	A	2548,63	C	40,27	C	1026,19	C	8,70	A	3,4	3,0
27- CNPA GO 2007-425	68,81	A	97,60	A	2810,13	C	40,46	C	1136,63	C	7,28	A	4,0	3,0
28- CNPA GO 2007-592	20,69	B	112,90	A	3318,25	B	43,83	A	1453,47	B	6,48	A	3,0	1,0
29- CNPA GO 2007-630	67,43	A	106,80	A	3143,63	B	44,36	A	1394,07	B	6,25	A	3,0	3,6
30- CNPA GO 2007-661	84,11	A	103,80	A	2889,38	C	40,44	C	1168,49	C	6,83	A	2,8	2,8
31- CNPA GO 2007-239	49,12	B	90,70	A	3022,88	C	42,49	B	1285,57	C	7,17	A	3,5	4,0
32- CNPA GO 2007-700	60,04	A	92,90	A	3049,50	C	44,19	A	1347,97	B	6,98	A	2,4	3,4
33- CNPA BA 2005-3008	86,28	A	97,60	A	2118,75	C	39,04	D	827,60	C	6,25	A	3,0	1,2
34- CNPA BA 2005-3089	19,55	B	100,30	A	3404,88	B	38,74	D	1319,28	B	6,20	A	3,0	4,0
35- CNPA BA 2005-3300	45,15	B	97,00	A	2632,00	C	36,33	E	954,53	C	6,78	A	4,0	4,0
36- CNPA BA 2005-2481	45,96	B	95,80	A	2897,75	C	42,99	B	1244,07	C	5,79	A	4,0	3,6
37- CNPA BA 2004-241	83,65	A	95,20	A	2838,75	C	41,27	C	1170,95	C	7,93	A	3,1	4,0
38- CNPA MT 2004-2080	27,35	B	103,00	A	3213,50	B	42,73	B	1370,70	B	6,29	A	1,6	2,6
39- CNPA MT 2004-2005	77,73	A	96,40	A	2847,00	C	42,13	B	1199,33	C	6,26	A	2,2	2,4
40- CNPA MT 2004-2088	54,25	A	102,40	A	3591,13	B	42,59	B	1529,95	B	6,65	A	2,0	1,8
41- CNPA MT 2004-1540	14,92	B	102,50	A	4387,88	A	43,00	B	1886,92	A	7,52	A	1,7	2,7
42- CNPA MT 2005-6141	61,96	A	109,40	A	2898,75	C	43,50	A	1260,89	C	6,58	A	4,0	4,0
Média	57,68		99,63		3057,95		42,01		1286,56		6,68			
P	0,0075		0,0123		0,0000		0,0000		0,0000		0,1994			
CV	33,82		6,44		12,12		1,61		12,41		10,85			

Médias seguidas das mesmas letras, dentro das colunas, não diferem estatisticamente entre si entre pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade