

AVALIAÇÃO DA PATOGENICIDADE DE TRÊS ISOLADOS DE
Cylindrocladium clavatum **Hodges & May** EM ÁRVORES DE
Pinus caribaea **Morelet** var. *hondurensis* **Barret & Golfari** e
Pinus oocarpa **Shiede.**

MARTIN HOMECHIN

Eng^o Agrônomo - EMBRAPA

Orientador: TASSO LEO KRÜGNER

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

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Novembro, 1979

Homenagem

Sr. Ângelo Zago

In Memoriam

A meus pais e
à minha irmã,
OFEREÇO.

À minha esposa e
à minha filha,
DEDICO.

A G R A D E C I M E N T O S

O autor expressa seus agradecimentos às seguintes pessoas e instituições:

- Ao Prof. Dr. Tasso Leo Krügnner, pela valiosa orientação, apoio e ensinamentos durante a realização deste trabalho.

- Ao Prof. Dr. Ferdinando Galli, Professor Catedrático do Departamento de Fitopatologia, pelo apoio na parte de material fotográfico e informações, durante o decorrer do curso.

- Ao Prof. Dr. Armando Bergamin Filho, pela revisão dos originais e sugestões apresentadas.

- À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) e ao Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP, que propiciaram condições para o seu aperfeiçoamento.

- Ao Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais (IPEF), por todo apoio concedido.

- À Reflorestadora Sacramento S.A. (RESA), nas pessoas do Engº Agrº Geraldo Érico Speltz, Engº Ftal. Luiz Roberto Capitani, Sr. Valter Dissmann e ao técnico agrícola Paulo Matias, pelos suportes financeiro, material e humano concedidos, para que toda experimentação de campo fosse realizada.

- Aos colegas Eng^o Agr^o Benedito Vasconcelos e Rildo S. Coelho, pelas sugestões, apoio e amizade.

- Aos colegas Nilton Luiz de Souza, Maria Marli Santos e Eneida Assunção, pela amizade.

- A todos os funcionários do Departamento de Fitopatologia da ESALQ, que de alguma forma colaboraram para a condução dos trabalhos.

- Aos funcionários da Biblioteca Central da ESALQ, na pessoa do Sr. Luiz Carlos Veríssimo.

- À Sr^a Tekla Eunice Klar, pelo excelente trabalho de apresentação.

- Ao Sr. Miguel Cêlio Hypolito, pela parte gráfica.

- A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

Í N D I C E

	Página
1. RESUMO	1
2. INTRODUÇÃO	4
3. REVISÃO DA LITERATURA	6
3.1. Técnicas de Inoculação	6
3.2. Efeito do Ambiente sobre a Doença	7
3.3. Variabilidade de <i>Cylindroccladium</i> spp.....	9
3.4. Variação na Suscetibilidade do Hospedeiro	10
4. MATERIAL E MÉTODOS	11
5. RESULTADOS	21
6. DISCUSSÃO	29
7. CONCLUSÕES	33
8. SUMMARY	35
9. LITERATURA CITADA	37
APÊNDICE	40

1. RESUMO

O presente trabalho teve por objetivo determinar a causa primária de uma podridão de raízes de árvores de espécies de *Pinus* tropicais, avaliar a suscetibilidade de *P. caribaea* var. *hondurensis* e *P. oocarpa* ao fungo *Cylindrocladium clavatum* e verificar a variação na patogenicidade entre isolados do referido fungo.

Três experimentos, em períodos distintos, foram conduzidos em condições de campo, em um talhão de *Pinus oocarpa* e outro de *P. caribaea* var. *hondurensis*, ambos com seis anos de idade, instalados em solo de cerrado no Município de Monte Carmelo, MG.

Para os testes de patogenicidade utilizaram-se três isolados de *C. clavatum* de diferentes procedências: a) tecido de raiz doente de *P. oocarpa* plantado em Pirapora, MG (isolado 1); b) rizosfera de raízes sadias de *P. caribaea* var. *hondurensis* plantado em Monte Carmelo, MG (isolado 2); c) solo virgem de cerrado desmatado também da região de Monte Carmelo, MG (isolado 3).

O fungo foi inoculado através da colocação de um disco de agar contendo micélio do mesmo, em orifícios feitos com um vasador cilíndrico, na casca de raízes laterais, em diferentes pontos ao longo da raiz. A proteção dos pontos de inoculação foi feita recolocando-se o disco de casca nos orifícios inoculados, com posterior cobertura das raízes com solo do local.

O desenvolvimento das lesões foi avaliado aos 80 dias da inoculação para os experimentos 1 e 2 e aos 150 dias para o experimento 3. As avaliações do desenvolvimento das lesões foram feitas pela determinação de um índice de lesão (comprimento x largura) expresso em cm². A extensão da colonização dos tecidos foi também avaliada através do plaqueamento de fragmentos de tecidos coletados a diferentes distâncias da margem da lesão, no sentido do comprimento da raiz.

Os resultados obtidos demonstraram que: a) o fungo *C. clavatum* é agente causal de podridão de raízes em árvores de *Pinus caribaea* var. *hondurensis* e *P. oocarpa*; b) as espécies de *Pinus* testadas foram igualmente suscetíveis ao fungo; c) os três isolados do fungo foram patogênicos às duas espécies de *Pinus* testadas. Ocorreram diferenças na patogenicidade entre os isolados, sendo que o isolado obtido de tecidos de raízes doentes foi o mais patogênico quando comparado com os outros dois; d) quanto à colonização dos tecidos pelo fungo foi detectada a presença do mesmo nos tecidos adjacentes à lesão a distâncias máximas, variando de 0,5 a 1,5 cm e 0,5 a 2,0 cm, dependendo do isolado para os experimentos 1 e 2, respectivamente. O isolado 1 foi também o mais patogênico quanto à extensão da colonização dos tecidos; e) o período mais fa-

vorável ao desenvolvimento da doença (8 de dezembro de 1978 a 28 de fevereiro de 1979) foi aquele em que ocorreram as mais altas temperaturas de solo, maior precipitação pluviométrica e as mais elevadas porcentagens de umidade do solo.

2. INTRODUÇÃO

Em vários estados brasileiros, localizados nas regiões sul e sudeste do país, tem-se verificado um aumento de áreas reflorestadas com espécies tropicais de *Pinus*, sendo este fato mais expressivo em áreas de cerrado do Estado de Minas Gerais.

Ultimamente vem sendo observada nestas áreas a ocorrência de uma podridão de raízes, afetando principalmente as plantações de *P. caribaea* Morelet. var. *hondurensis* Barret e Golfari e *P. oocarpa* Shiede de até 8 anos de idade, cujas características são semelhantes às daquela causada por *Cylindrocladium clavatum* Hodges e May, descrita por HODGES e MAY (1972). Levantamentos efetuados nas áreas afetadas confirmaram a presença do referido fungo associado à doença. Como, por outro lado, foi observada uma alta incidência de árvores doentes com enovelamento de raízes e, tendo em vista o fato de que não existe informações sobre a patogenicidade do fungo em árvores adultas, em condições de campo, tornou-se necessário determinar a causa primária da doença.

Foi observado por KRÜGNER *et alii* (1978) que o referido fungo apresenta ampla distribuição nas áreas de cerrado, sendo indígena nas regiões onde se vem fazendo o reflorestamento com espécies de *Pinus*. Verificou-se também que sua população é maior no solo adjacente às raízes de *P. caribaea* var. *hondurensis* e *P. oocarpa*, tanto de árvores sadias como de árvores doentes ou mortas, do que em solo de áreas não plantadas com *Pinus*. A presença de *C. clavatum* em maiores proporções em solo adjacente a raízes de árvores sadias de *Pinus* sugere, entre outras possibilidades, a existência de raças menos agressivas do fungo que tenham menor capacidade de penetrar e colonizar as raízes.

O presente trabalho tem por finalidade:

- a) determinar a causa da podridão de raízes de árvores de *P. caribaea* var. *hondurensis* e *P. oocarpa* em áreas de cerrado de Minas Gerais;
- b) avaliar o grau de suscetibilidade das duas espécies de *Pinus* citadas ao fungo *C. clavatum* sob diferentes condições climáticas;
- c) avaliar a patogenicidade de diferentes isolados de *C. clavatum* procedentes de duas regiões geográficas (Monte Carmelo e Piraí, MG) e de diferentes substratos (rizosfera de raízes sadias de *Pinus*, solo de cerrado virgem recém desmatado e raízes doentes de *Pinus*);
- d) avaliação da progressão dos sintomas e da colonização dos tecidos a partir dos pontos de inoculação, em diferentes épocas do ano.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Técnicas de Inoculação.

Diferentes técnicas são descritas na literatura para a inoculação de fungos causadores de podridão de raízes em plantas florestais. Para a inoculação de raízes de *Pinus nigra* var. *calabrica* Schneid. e *Pinus sylvestris* L. com *Fomes annosus*, RISHBETH (1951) utilizou as seguintes técnicas: a) colocação de pedaços de raízes de *Pinus* com 8 cm de comprimento e 2 cm de diâmetro colonizadas pelo fungo, em contato com raízes de plantas, com ferimento e sem ferimento. Em seguida, os pontos inoculados foram cobertos com solo natural; b) introdução de seragem de madeira colonizada pelo fungo em pequena incisão feita por meio de escalpelo. Após a inoculação cada ponto inoculado foi coberto com cera. Na raiz testemunha somente era feita a incisão e a cobertura com a cera; c) inoculação de suspensão de basidiosporos em diferentes pontos da raiz com e sem ferimentos. O autor verificou que para a obtenção de sintomas da doença havia necessidade de provocar-se ferimento na raiz no momento da inoculação. A técnica mais eficiente foi aquela

em que se introduziu a serragem de madeira colonizada pelo fungo em incisão feita na raiz no momento da inoculação.

TOWERS e STAMBAUGH (1969) inocularam *Fomes annosus* em raízes de *Pinus* spp, com 10 anos de idade, esterilizando previamente o ponto de inoculação com calor de uma chama e levantando uma pequena parte da casca onde introduziram um disco com 2 mm de espessura x 5 mm de diâmetro de meio de cultura contendo micélio do fungo. Em seguida, o ponto de inoculação foi vedado com cera. Seis meses após as inoculações as lesões formadas apresentavam aproximadamente 5 a 13 cm de comprimento e 2 a 5 cm de largura, na região do lenho. Em todas as áreas lesionadas foi observada exsudação de resina.

ROCKELL (1977) inoculou raízes de *Eucalyptus grandis*, *E. marginata*, *E. calophylla* e *Banksia grandis* com *Phytophthora cinnamomi*, através da deposição de pedaços de meio de cultura com micélio do fungo em ferimentos de 1 a 2 cm de diâmetro. Posteriormente, a área inoculada foi coberta com algodão umedecido em águas destilada, envolvida em plástico e, finalmente, recoberta totalmente com solo natural. Para a avaliação dos resultados procedeu-se à retirada da casca da raiz, medindo-se o comprimento das lesões no lenho. Foram efetuados ainda isolamentos de tecidos desde o centro da lesão, até 2 cm além da área lesionada visível.

3.2. Efeito do Ambiente sobre a Doença

Pesquisas realizadas com podridão de raiz causada por *Cylindrocladium* spp, em diferentes espécies de plantas, mostram

a ocorrência de variações na patogenicidade do fungo e/ou suscetibilidade do hospedeiro em função da temperatura. HODGES (1962) observou que a podridão negra da raiz causada por *Cylindrocladium scoparium*, em mudas de *Pinus* spp, ocorria somente quando a temperatura do solo era mantida a 32°C durante vários dias. Ainda com relação a *Cylindrocladium scoparium* KELMAN e GOODING (1965) observaram que em mudas de *Pinus* spp, no campo, os índices de lesão foram: mínimos a 8°C, médios entre 24-28°C e máximos a 38°C. Inoculando raízes de pessegueiro com *Cylindrocladium floridanum*, WEAVER (1971) observou infecção mínima a 15°C, moderada a 20°C e severa entre 20 e 30°C e concluiu que a temperatura do solo favorável à doença era desfavorável ao desenvolvimento das raízes.

A podridão de raízes em amendoim, causada por *Cylindrocladium crotalarie*, é favorecida por condições especiais tais como elevadas temperaturas e excessiva umidade do solo (BELL, 1967; GARREN *et alii*, 1971; SOBERS e BELL, 1976; PHIPPS e BEUTE, 1977).

RISHBETH (1951) estudando a influência de fatores físicos químicos e biológicos que afetam a severidade da podridão de raízes em *Pinus nigra* var. *calabrica* Schneid. e *P. sylvestris* causada por *Fomes annosus*, verificou que a doença é menos severa quando existe uma elevada proporção de matéria orgânica na superfície do solo. Segundo esse mesmo autor, a matéria orgânica influencia a umidade do solo, não permitindo a ocorrência de falta de água e fazendo com que as plantas apresentem um aumento de resistência à podridão das raízes.

3.3. Variabilidade de *Cylindrocladium* spp.

Sendo o *Cylindrocladium clavatum* uma espécie recentemente descrita, não existem ainda estudos relacionados com a sua variabilidade. Por outro lado, este aspecto tem sido estudado em outras espécies de *Cylindrocladium*. KELMAN e GOODING (1965), inoculando quatro isolados de *C. scoparium* originários de diferentes regiões, em plantas de *Pinus* com dois anos de idade, não obtiveram diferenças na patogenicidade entre os isolados. A mesma observação foi feita por SOBERS (1976) para *Cylindrocladium pteridis* inoculado em diferentes espécies de *Eucalyptus*.

ALFIERI *et alii* (1972) observaram que a variabilidade de *Calonectria theae* e *Cylindrocladium scoparium* está diretamente relacionada com a procedência do isolado, e que plantas cultivadas em solo infestado com dois patógenos morrem em menor tempo do que quando cultivadas em solo infestado somente com um dos patógenos.

Na Carolina do Norte, E.U.A., ROWE e BEUTE (1975) pesquisando a patogenicidade de 14 isolados de *C. crotalarie* de diferentes procedências, sobre sete variedades de amendoim, observaram que não houve variação na patogenicidade, ocorrendo apenas diferenças no crescimento linear do fungo em meio de cultura.

BERTUS (1976) estudando a patogenicidade de nove isolados de *C. scoparium* obtidos a partir de três diferentes hospedeiros, em 13 plantas nativas da Austrália, observou que isolados morfológicamente idênticos apresentaram diferenças na patogenicidade, correlacionadas com a sua origem.

3.4. Variação na Suscetibilidade do Hospedeiro

HODGES e MAY (1972), inoculando *Cylindrocladium clavatum* em mudas de *Araucaria angustifolia* e várias espécies de *Pinus* (*P. taeda*, *P. elliottii*, var. *elliottii*, *P. caribaea*, *P. montezumae* e *P. patula*) com um ano de idade, observaram que em todas as espécies de plantas, a metade da população havia sido atacada e morta, seis semanas após as inoculações, concluindo que todas as espécies testadas eram suscetíveis ao fungo.

ROCKELL (1977) estudou a suscetibilidade de *Eucalyptus marginata*, *Banksia grandis* e *Eucalyptus calophylla* ao fungo *Phytophthora cinnamomi*, em solo com infestação natural e solo inoculado artificialmente. Ao final do estudo encontrou diferentes níveis de suscetibilidade entre as espécies, sendo *Banksia grandis* a espécie que maior suscetibilidade apresentou.

4. MATERIAL E MÉTODOS

A área de condução dos experimentos foi localizada no Município de Monte Carmelo, MG, situando-se entre as latitudes 18°40'52" e 19°02'30" e longitudes 47°57'30"E e 47°33'45"W, em solo de cerrado, profundo, com textura barro-argilo-arenoso e apresentando as características físicas e químicas constantes da Tabela 1.

Foram escolhidos para os testes de patogenicidades dois talhões, um de *P. oocarpa* formado com sementes procedentes de Honduras e outro de *P. caribaea* var. *hondurensis* com sementes originárias da Guatemala. O plantio das mudas de ambos os talhões foi efetuado em fevereiro de 1973, em espaçamento 2,80 por 2,50 m. Por ocasião do plantio foram feitas aplicações e incorporação ao solo de 10 g de superfosfato simples e 3 g de heptacloro no sulco de plantio. Durante os três primeiros anos de cultivo foram conduzidas várias capinas com limpeza manual nas linhas e gradagem entre-linhas de plantio.

Três isolados de *C. clavatum* foram utilizados no presente estudo. Estes tinham as seguintes procedências: a) tecidos de raiz infec

Tabela 1. Características físicas e químicas¹ das amostras de solo, coletadas nas áreas dos experimentos. Os valores da tabela representam a média de duas amostras compostas.

Composição Física (%)

Solo ²	Areia muito grossa	Areia grossa	Areia média	Areia fina	Areia muito fina	Areia	Limo	Argila	
								0,002	Disp em água
A	0,1	0,9	9,0	13,9	1,4	25,3	23,8	50,9	20,8
B	0,1	1,0	9,2	12,6	1,5	25,2	23,7	51,1	21,0

Concentração de Elementos Químicos

Solo	pH	Fósforo	Potássio	Carbono	Alumínio	Cálcio	Magnésio
A	5,4	18	100	2,26	0,24	2,08	0,32
B	5,1	17	99	2,20	0,25	2,00	0,21

¹ Analizadas pelo Departamento de Solos, Geologia e Fertilizantes da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

² A = solo reflorestado com *P. caribaea* var. *hondurensis*. B = solo reflorestado com *P. oocarpa*.

tada de *P. oocarpa* pertencente a uma plantação estabelecida em Pirapora, MG (isolado 1); b) rizosfera de taízes sadias de *P. caribaea* var. *hondurensis*, de uma plantação estabelecida em Monte Carmelo, MG (isolado 2); c) solo virgem de cerrado desmatado de Monte Carmelo, MG (isolado 3).

Em cada um dos talhões escolhidos foram selecionadas para as inoculações (para cada experimento), seis árvores em bom estado de vigor e sanidade.

Em cada árvore a ser inoculada foram escolhidas quatro raízes laterais, com diâmetro variando em torno de 2 a 5 cm e situadas a uma profundidade de 15 a 20 cm da superfície do solo. Cada raiz recebeu um isolado, ficando uma para testemunha. Em cada raiz foram efetuadas 6 inoculações distanciadas de 15 cm uma da outra, sendo o primeiro ponto de inoculação situado a 10 cm do colo da planta.

Para as inoculações, cada raiz foi exposta através da remoção do solo da sua superfície superior (Fig. 1A) e retirada das partículas mais grosseiras de solo da superfície a ser inoculada com auxílio de um pincel. De cada ponto de inoculação pré-estabelecido na superfície superior das raízes, foi retirado um disco de casca com um vasador cilíndrico de 1 cm de diâmetro (Fig. 1B). Em cada orifício foi colocado um disco de agar de 0,4 cm de diâmetro, contendo micélio do fungo. O inóculo foi retirado das margens de colônias desenvolvidas em placa de Petri, após sete dias de cultivo em meio de batata-dextrose agar (BDA), em temperatura-ambiente (Fig. 1C). A testemunha recebeu somente BDA esterilizado.

Após a colocação do inóculo, os discos de casca foram re-

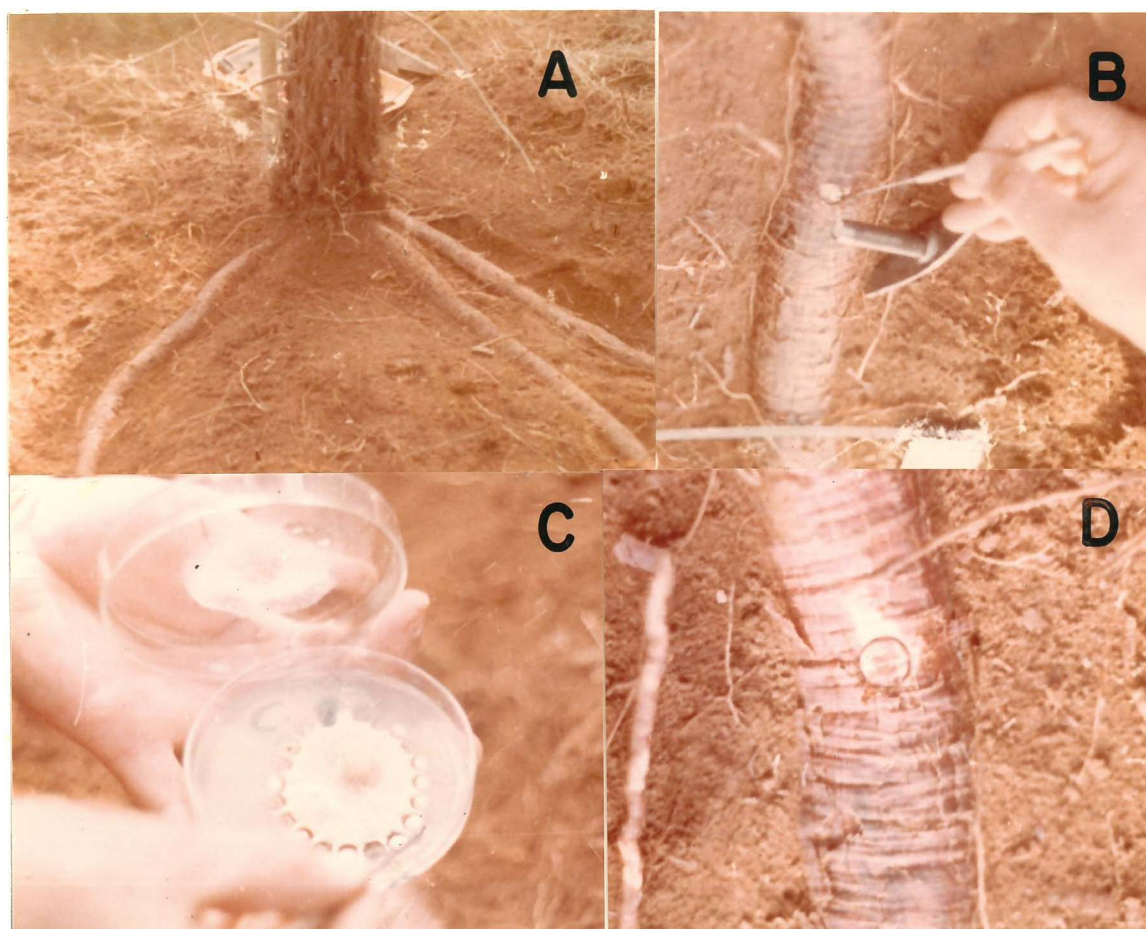


Fig. 1 - Técnica empregada para a inoculação de *Cylindrocladium clavatum* em raízes de árvores de *Pinus*. A) escolha e exposição das raízes; B) retirada do disco de casca; C) obtenção dos discos de agar, contendo micélio do fungo, da margem da colônia; D) recolocação do disco de casca sobre o orifício inoculado.

colocados nos respectivos pontos de inoculação (Fig. 1D) e as raízes foram cobertas novamente com o solo e com o "litter" original do povoamento.

O delineamento experimental empregado em todos os experimentos foi do tipo "split-plot". Cada árvore inoculada constituiu uma parcela e a raiz com seis pontos inoculados uma sub-parcela. Para cada espécie de *Pinus*, foram empregadas seis repetições, constando cada repetição de uma árvore (parcela).

Os experimentos foram conduzidos em três períodos distintos: experimento 1 (5 de maio a 25 de julho de 1978); experimento 2 (08 de dezembro de 1978 a 28 de fevereiro de 1979); experimento 3 (8 de dezembro de 1978 a 8 de maio de 1979).

Durante a condução dos experimentos foram quantificadas e acompanhadas as condições de umidade e temperatura do solo e ocorrência de precipitação pluviométrica. Os dados de precipitação pluviométrica foram coletados em posto agrometeorológico localizado em local próximo à área dos experimentos. Os dados de umidade de solo foram obtidos mediante coleta semanal de solo nos talhões de *P. oocarpa* e *P. caribaea* var. *hondurensis*, a uma profundidade de 0-20 cm e calculados pelo método gravimétrico. As temperaturas do solo foram obtidas efetuando-se duas leituras semanais no decorrer dos experimentos, em dois geotermômetros (geotermômetro WEKSLER Sistema Dial Head Thermometers com vareta de 20 cm) instalados nas áreas dos experimentos, um em cada talhão. As leituras das temperaturas foram realizadas no período matutino, entre 10 e 12 horas.

O experimento 1 (6 de maio a 25 de julho) foi avaliado 85 dias após a inoculação. Neste período a pluviosidade foi de 460 mm (Fig. 2). A umidade média do solo foi de 17% e 16,8%, para os talhões de *P. oocarpa* e *P. caribaea* var. *hondurensis*, respectivamente (Fig. 3). A temperatura média do solo variou de 13,5 a 16,2°C para *P. oocarpa* e *P. caribaea* var. *hondurensis* (Fig. 4).

No experimento 2 (8 de dezembro a 28 de fevereiro) a avaliação foi também realizada 85 dias após a inoculação. Nesse período a pluviosidade foi de 826 mm (Fig. 2); a umidade média do solo 35% e 28% e a temperatura do solo 21°C e 19,8°C, respectivamente, para as áreas de *P. oocarpa* e *P. caribaea* var. *hondurensis* (Figs. 3 e 4).

Os resultados do experimento 3 (8 de dezembro a 8 de maio) foram avaliados aos 150 dias da inoculação. Neste período a precipitação pluviométrica foi de 1043 mm (Fig. 2). A umidade média do solo foi de 20,5% e 18,6% e a temperatura 20,1°C e 19,1°C, respectivamente, para as áreas com *P. oocarpa* e *P. caribaea* var. *hondurensis* (Figs. 3 e 4).

As avaliações dos experimentos foram feitas através de remoção das raízes e mensuração das áreas lesionadas ao redor dos pontos de inoculação, no sentido longitudinal e transversal da raiz. Para a análise estatística, calculou-se um índice de lesão, multiplicando-se os valores do comprimento pela maior largura de cada lesão produzida.

Nos três experimentos, para cada isolado e para cada espécie de *Pinus*, foram feitos reisolamentos do fungo inoculado, a partir de fragmentos contendo tecidos da casca e lenho retirados das áreas lesio-

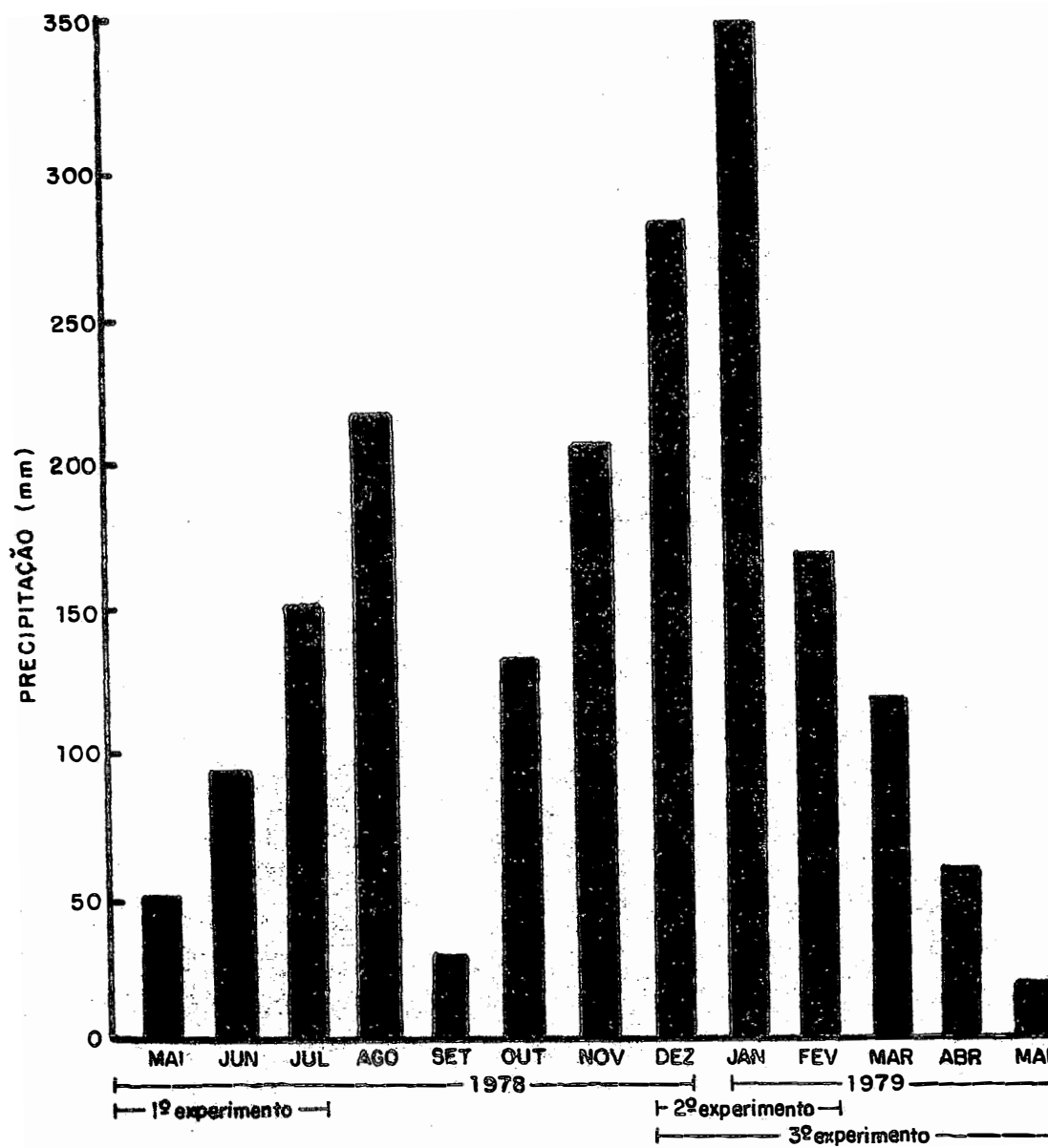


Fig. 2 - Precipitação pluviométrica mensal verificada no decorrer dos experimentos.

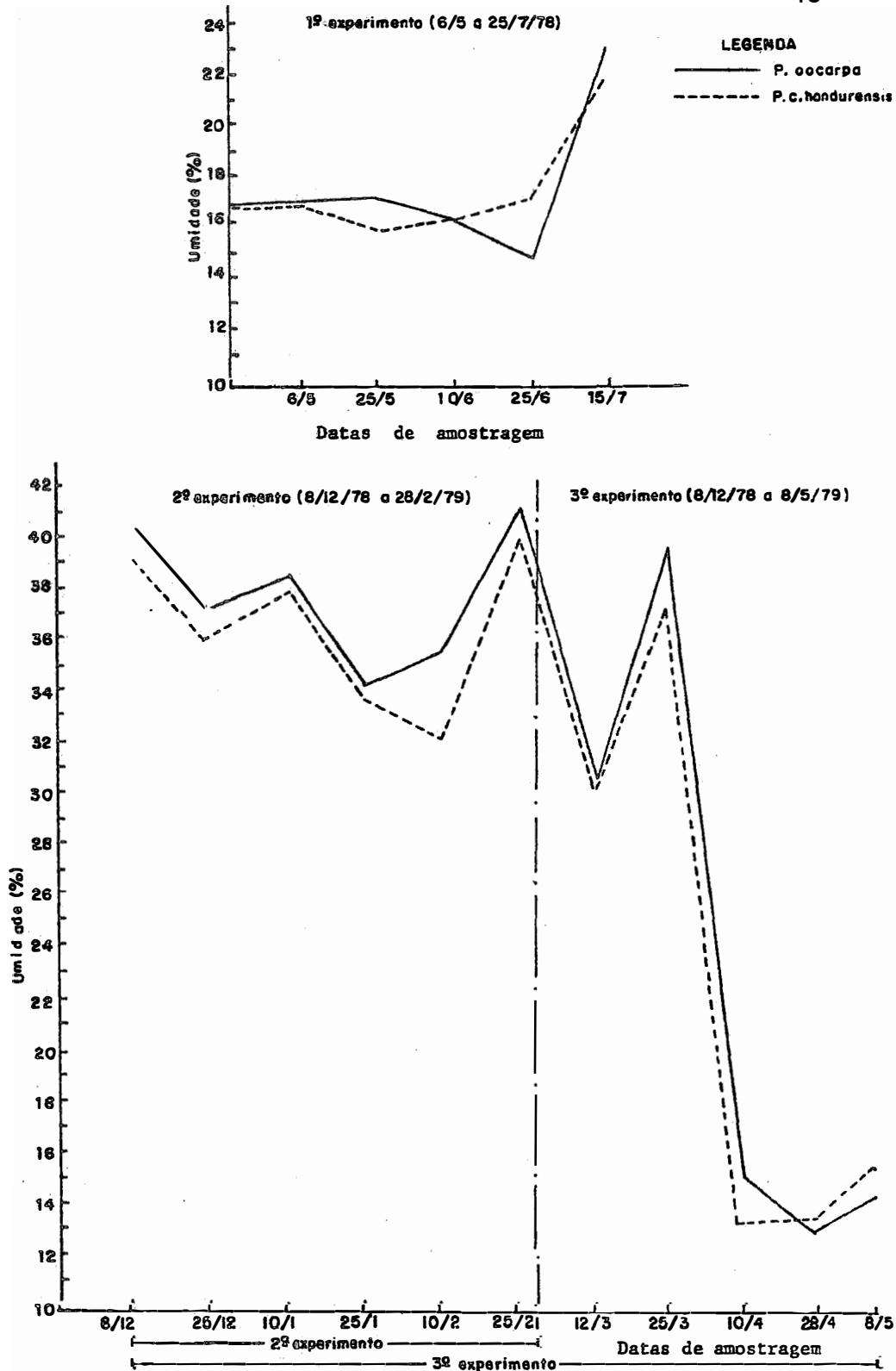


Figura 3 - Umidade do solo verificada nos talhões de *P. oocarpa* e *O. caribaea* var. *hondurensis* utilizada nos estudos, durante o período de condução dos experimentos.

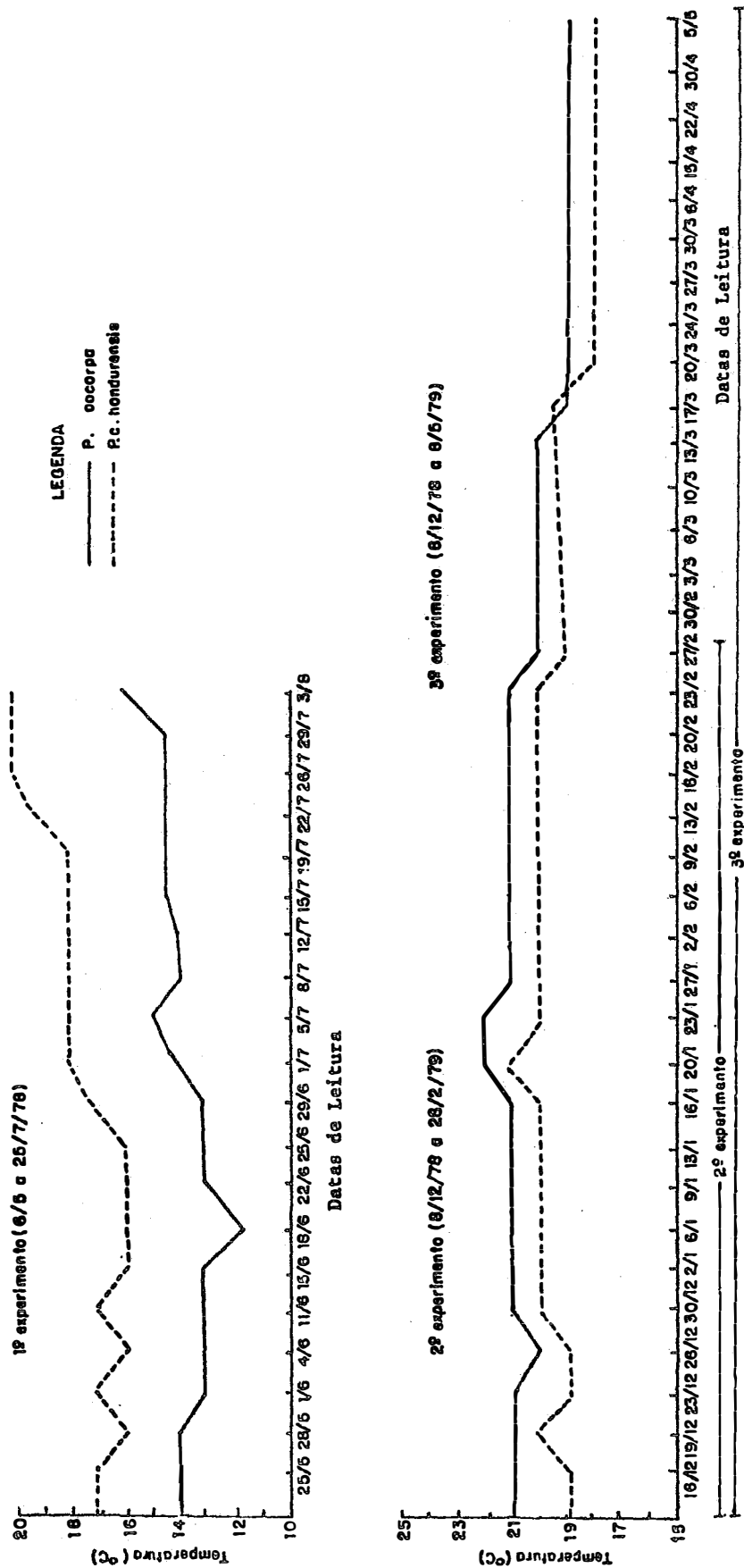


Figura 4 - Temperaturas do solo verificadas nos talhões de *P. occorpa* e *P. hondurensis* utilizadas no estudo durante o período de condução dos experimentos.

das. Os fragmentos após desinfecção com hipoclorito de cálcio e 1% foram plaqueados em BDA e incubados sob condições ambientes.

Para avaliar a extensão da colonização dos tecidos, para cada um dos três isolados do patógeno, efetuou-se plaqueamentos de fragmentos da raiz, coletados em áreas adjacentes às lesões. Para tanto, escolheram-se ao acaso quatro pontos inoculados de cada raiz, para cada isolado e para cada espécie de *Pinus*. Foram utilizadas duas árvores por espécie de *Pinus*, selecionadas ao acaso entre aquelas pertencentes aos dois primeiros experimentos. Na área adjacente à lesão visível e a partir dos bordos da lesão no sentido longitudinal da raiz, até a uma distância aproximada de 2,5 cm, a intervalos de 0,5 cm, foram cortados pedaços da raiz, contendo tecidos da casca e do lenho com dimensões aproximadas de 0,5 cm de largura por 1 cm de profundidade. Cada pedaço foi posteriormente seccionado em quatro partes iguais, desinfetados com hipoclorito de cálcio a 1% e plaqueados em meio de BDA. A incubação foi efetuada sob condições ambientes.

5. RESULTADOS

Através da técnica de inoculação desenvolvida no presente trabalho, observou-se que o desenvolvimento dos sintomas eram semelhantes aqueles observados em raízes infectadas naturalmente no campo (Fig. 5). Nas raízes testemunhas, não inoculadas com o fungo, não houve desenvolvimento de lesão e sim a cicatrização dos tecidos ao redor do orifício onde foi introduzido o BDA esterilizado (Fig. 6A).

Por ocasião da avaliação dos resultados das inoculações, em todos os ensaios conduzidos, independente das espécies de *Pinus* e isolados do patógeno, os sintomas resultantes se caracterizaram por escurecimento e rachaduras da casca e exsudação de resina ao redor dos pontos de inoculação. Retirando-se a camada mais superficial da casca, observou-se uma área lesionada onde os tecidos se apresentavam escurecidos, formando ainda uma depressão em relação aos tecidos saudáveis das áreas adjacentes à lesão (Fig. 6A). Retirando-se a casca da raiz, observou-se um escurecimento dos tecidos do lenho, na área correspondente à lesão (Fig. 6B), que em alguns casos atingia a região central da raiz. As lesões não apresentaram forma definida em nenhum dos casos, apresentando sempre maior dimensão no



Fig. 5 - Reprodução dos sintomas da podridão de raízes em árvores de *Pinus*. A) raiz com infecção natural; B) raiz com lesão obtida 80 dias após a inoculação com o fungo *Cyindrocladium clavatum*.

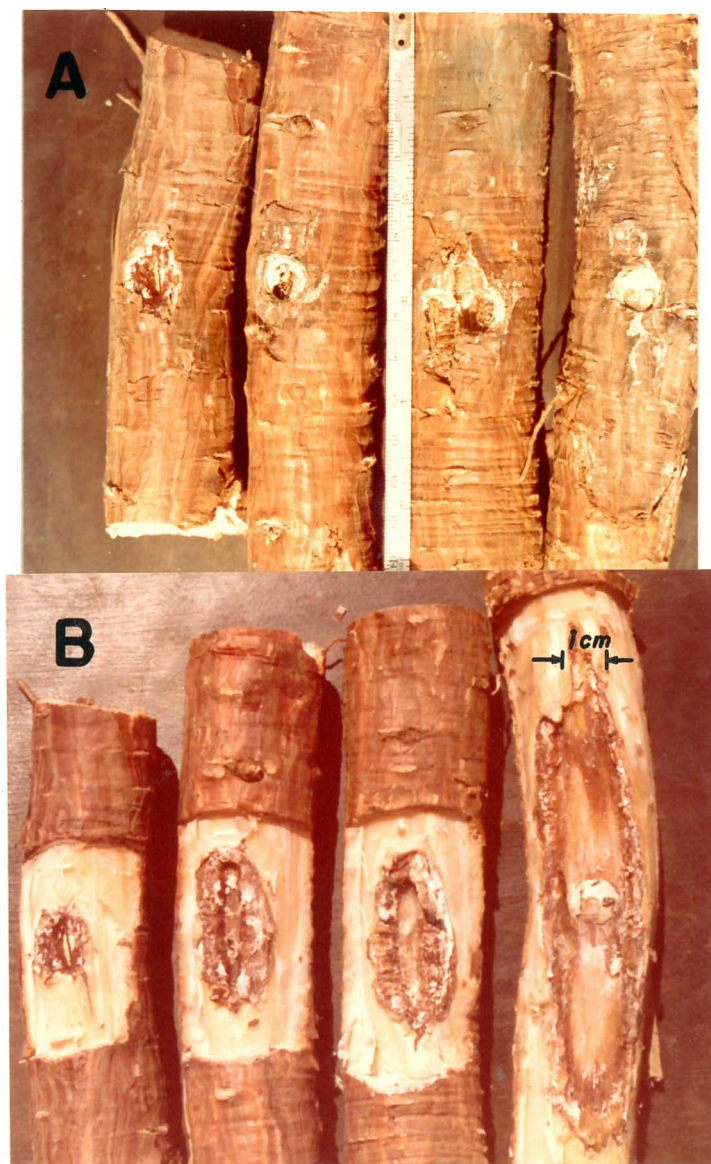


Fig. 6 - Desenvolvimento de lesões em raízes de *Pinus* inoculadas artificialmente com diferentes isolados de *Cylindrocladum clavatum*. Da direita para a esquerda, raízes inoculadas com os isolados 1, 2 e 3 e raiz testemunha, não inoculada. A) aspecto externo das lesões, com escurecimento, exudação de resina, rachaduras e depressão de casca; B) aspecto interno das lesões, com escurecimento dos tecidos do lenho e resinose.

sentido longitudinal da raiz que no sentido circunferencial (Fig. 6). Independente de experimentos, isolados e espécies foi observada, em algumas lesões, tendência de formação de calo cicatricial, sendo mais acentuada para os isolados 2 e 3 (Fig. 6B). Em alguns casos, ocorreram também escurecimentos dos tecidos do lenho na forma de filetes escuros, que se estendiam além das margens da lesão.

Nas tentativas de reisolamento do fungo inoculado, recuperou-se com frequência o fungo *C. olivatum* a partir dos fragmentos de raiz coletada na área da lesão, sendo notada a ausência de outros fungos fitopatogênicos associados.

Para os três experimentos conduzidos não ocorreram diferenças significativas entre as duas espécies de *Pinus*, em relação à sua suscetibilidade ao fungo (Tabela 2, Apêndice - Tabelas a, b e c). Verificou-se que nos três experimentos, as duas espécies se comportaram de maneira semelhante, apresentando índices de lesão com valores bem próximos dentro de cada experimento e para cada isolado. Nos experimentos 1, 2 e 3 o *P. caribaea* var. *hondurensis* mostrou uma ligeira tendência de ser mais suscetível aos três isolados, que o *P. oocarpa*, embora a diferença entre os índices não fossem significativos estatisticamente.

Para os três experimentos e ambas as espécies de *Pinus*, o isolado 1 (originário de tecido de raiz doente), foi o mais patogênico de todos apresentando um índice médio geral de lesão de 60,11 cm², enquanto que para os isolados 2 e 3, este índice foi de 37,90 e 20,75 cm² respectivamente. O isolado 2 (originário da rizosfera de raízes sadias), por sua vez, foi mais patogênico que o isolado 3 (proveniente de solo

Tabela 2 - Índices de lesão¹ (cm²) em raízes de plantas de *Pinus oocarpa* (P.o.c.) e *P. caribaea* var. *hondurensis* (P.c.h.), com cerca de seis anos de idade, inoculadas em três épocas do ano com isolados de *C. clavatum* de diferentes procedências². Os valores apresentados são médias de seis repetições (árvores) e seis pontos inoculados por repetição³.

Isolados ²	Experimento 1		Experimento 2		Experimento 3	
	P.o.c.	P.c.h.	P.o.c.	P.c.h.	P.o.c.	P.c.h.
1	25,24a	27,74a	56,13a	61,52a	93,35a	96,70a
2	14,29b	19,71b	22,54b	23,58b	29,05b	42,57b
3	13,33b	16,69b	17,31b	17,40b	28,95b	30,97b
Médias ⁴	17,62	20,78	33,92	32,30	50,45	56,74

¹ Índice de lesão: comprimento (cm) x largura (cm) da lesão.

² Isolado 1 = tecido de raiz doente de *P. oocarpa* (Pirapora, MG); Isolado 2 = rizosfera de raízes saudáveis de *P. caribaea hondurensis* (Monte Carmelo, MG); Isolado 3 = solo virgem de cerrado desmatado (Monte Carmelo, MG).

³ Em cada coluna, médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

⁴ Médias para espécies de *Pinus* em cada experimento não diferem estatisticamente entre si (ver Apêndice tabelas a, b e c).

virgem de cerrado desmatado), sendo essa diferença mais evidente no experimento 3 (Tabela 2).

Os índices de lesão obtidos para cada um dos experimentos conduzidos, em diferentes períodos, diferiram estatisticamente entre si ao nível de 1%. Para os experimentos 1, 2 e 3, as médias gerais foram de 19,21, 33,12 e 53,60 cm², respectivamente (Tabela 2).

Pela diferença dos índices de lesão obtidos nos experimentos 2 e 3, os quais tiveram 80 e 150 dias de duração, respectivamente, verificou-se que a taxa de desenvolvimento das lesões no período final de 70 dias do experimento 3, foi próxima àquela do experimento 1 (cuja duração foi de 80 dias). Daí, pode-se concluir que o período mais favorável ao desenvolvimento da doença foi o do experimento 2.

Em todos os experimentos conduzidos observou-se que não houve nenhuma relação entre a taxa de progressão das lesões com a localização dos pontos de inoculação nas raízes.

No experimento 1 o isolado 1 colonizou os tecidos até a uma distância aproximada de 1,5 cm além da área lesionada visível, sendo que para o experimento 2 a distância colonizada foi superior, atingindo uma distância de até 2,0 cm nas duas espécies (Tabela 3). Com relação ao isolado 2 a extensão máxima de colonização foi de 1,0 cm além das margens da lesão, para o *P. caribaea* var. *hondurensis* no experimento 1 e para *P. oocarpa* e *P. caribaea* var. *hondurensis* no experimento 2. Para o isolado 3 a colonização máxima obtida foi até a uma distância de 0,5 cm para *P. oocarpa* no experimento 1 e *P. caribaea* var. *hondurensis* e *P.*

Tabela 3 - Extensão da colonização¹ dos tecidos de raízes de *Pinus oocarpa* (P.o.c.) e *P. caribaea* var. *hondurensis* (P.c.h.) por três isolados de *C. clavatum*² inoculados em duas épocas do ano. Os valores apresentados representam a média de duas placas. Em cada placa foram colocados quatro fragmentos de tecidos retirados das adjacências das áreas lesionadas visíveis.

Isolados	Distância da margem da lesão (cm)	EXPERIMENTO 1 (6/5 a 25/8/78)		EXPERIMENTO 2 (8/12/78 a 28/2/79)	
		P.o.c.	P.c.h.	P.o.c.	P.c.h.
	0,0	100	100	100	75
	0,5	75	50	75	75
	1,0	50	25	50	50
	1,5	25	25	25	25
	2,0	0	0	25	25
	2,5	0	0	0	0
	0,0	100	100	100	100
	0,5	25	25	50	50
	1,0	0	25	25	25
	1,5	0	0	0	0
	2,0	0	0	0	0
	2,5	0	0	0	0
	0,0	100	80	100	100
	0,5	25	0	25	25
	1,0	0	0	0	0
	1,5	0	0	0	0
	2,0	0	0	0	0
	2,5	0	0	0	0

¹ Extensão de colonização: expressa em % de fragmentos de tecidos que deram origem a colônias de *C. clavatum* em meio de BDA.

² Isolado 1 = tecido de raiz doente de *P. oocarpa* (Pirapora, MG); Isolado 2 = rizosfera de raízes sadias de *P. caribaea* var. *hondurensis* (Monte Carmelo, MG); Isolado 3 = solo de cerrado virgem desmatado (Monte Carmelo, MG).

oocarpa no experimento 2. Conclui-se, desta forma, que o isolado 1 foi o mais patogênico dos isolados empregados nos dois experimentos e o período que mais favoreceu a colonização dos tecidos da raiz pelo fungo foi o do experimento 2 (8/12/78 a 28/2/79).

6. DISCUSSÃO

A técnica de inoculação desenvolvida neste trabalho mostrou-se eficiente, visto que em todos os pontos de inoculação, com os 3 isolados, ocorreram a formação de lesões, das quais o fungo inoculado foi recuperado em meio de cultura. Além de eficiente, a técnica apresenta a vantagem de não requerer o uso de material específico para vedação do ponto de inoculação, como cera, usada por RISHBETH (1951) e TOWERS e STAMBAUGH (1968), ou algodão umedecido com água e envolvido por plástico como na técnica descrita e utilizada por ROCKELL (1977).

Os sintomas obtidos com as inoculações artificiais das raízes nas espécies de *P. oocarpa* e *P. caribaea* var. *hondurensis*, com os três isolados do fungo, 80 e 150 dias após as inoculações, mostraram-se semelhantes aos sintomas originados de infecção natural no campo (Fig.5). Os sintomas relacionados com encharcamento de tecidos e exsudação intensa de resina foram idênticos àqueles observados por HODGES e MAY (1972), quando descreveram pela primeira vez a doença. A sintomatologia observada pelas inoculações efetuadas sugerem que o agente causal da podridão de raízes, que ocorre em várias áreas reflorestadas com espécies de *Pinus*

tropicais na região do Triângulo Mineiro e Pirapora, MG é o fungo *Cylindrocladium clavatum* HODGES e MAY (1972)

Não pode ser afastada também a possibilidade do enovelamento de raízes ser um fator de predisposição das raízes das plantas à colonização pelo fungo, pois, normalmente, ocorrem ferimentos nos pontos de contato de uma raiz com outra, por onde o fungo pode penetrar. Portanto, o enovelamento de raízes pode contribuir significativamente para a severidade da doença, causada pelo referido fungo.

Os resultados do presente estudo mostram que não existem diferenças significativas entre os graus de suscetibilidade de *P. caribaea* var. *hondurensis* e *P. oocarpa* aos três isolados de *Cylindrocladium clavatum* utilizados (Tabela 2). Apesar de ter ocorrido uma ligeira tendência para formação de maiores lesões na espécie *P. caribaea* var. *hondurensis*, esta não é suficiente para considerar esta espécie menos resistente ao patógeno que o *P. oocarpa* (Tabela 2).

Entre os experimentos 1 e 2, ambos avaliados aos 80 dias, após a inoculação, existiram diferenças estatísticas significativas em relação aos índices de lesão observados para ambas as espécies de *Pinus*, sendo estes índices maiores no experimento 2. Durante o período de condução deste experimento, foram observados níveis mais elevados de temperatura e umidade do solo do que no experimento 1. É provável, portanto, que estes fatores foram os responsáveis pelos maiores índices de lesão, bem como a maior taxa de colonização observada no experimento 2 em relação ao experimento 1 (Tabela 2).

Os efeitos da umidade e temperatura foram estudados isoladamente por outros autores. BELL (1967), estudando o efeito da temperatura na podridão de raízes de amendoim causada por *C. clavatum*, verificou aumento na severidade da doença com temperatura de solo na faixa de 15 a 30°C. WEAVER (1971), no estudo da podridão de raízes de pessegueiro causado por *C. floridanum*, observou que a temperatura de solo ótima para o desenvolvimento da doença situava-se entre 20 e 30°C. PHIPPS e BEUTE (1977), observaram que a podridão radicular de plantas de amendoim era mais severa a 25°C do que a 20°C, quando a umidade do solo se encontrava próximo à capacidade de campo. Os índices de temperatura de solo no presente estudo, foram relativamente baixos e as diferenças entre índices observadas nos experimentos 1 e 2 devem ter contribuído significativamente para o aumento dos índices de lesões (Fig. 4).

De maneira idêntica aos estudos feitos por BELL (1967) e WEAVER (1971), PHIPPS e BEUTE (1977), em plantas de amendoim, e TOWERS e STAMBAUGH (1968), em *Pinus taeda*, estudaram a influência da umidade do solo na podridão de raízes, concluindo que a baixa umidade do solo diminuía a resistência das plantas ao fungo. Por outro lado, RISHBETH (1951), estudando a influência da umidade na severidade da podridão de raízes de *P. nigra* var. *calabrica* e *P. sylvestris*, causada por *Fomes annosus*, verificou que um aumento da umidade do solo confere maior resistência às plantas.

Na literatura não foram encontradas referências sobre a influência da umidade na podridão de raízes causada por *C. clavatum*. Com base nos estudos efetuados com outros patógenos causadores de podridão de

raízes e na diferença de índices de lesão observada entre os três experimentos, pode-se sugerir que a temperatura exerceu um efeito mais pronunciado no desenvolvimento da doença do que a umidade do solo. As observações de campo efetuadas na região de Pirapora, MG, onde as condições de umidade são mais baixas do que na região de Monte Carmelo, tem mostrado que a ocorrência da doença naquela região é maior do que na região de Monte Carmelo. Essa observação concorda com a sugestão apresentada acima, de que o aumento da temperatura contribuiu mais favoravelmente ao desenvolvimento da doença do que o aumento da umidade.

Os três isolados do fungo originário de duas regiões geográficas e três diferentes habitats, apresentaram diferenças estatísticas em relação à patogenicidade (Tabela 2). A variabilidade observada pode estar relacionada com a origem geográfica e/ou habitat dos isolados. Existe a possibilidade de surgirem novos focos da podridão de raízes, causada por *C. clavatum*, em espécies de *Pinus* tropicais, uma vez que no presente estudo, isolados obtidos a partir da rizosfera de raízes sadias e de solo virgem de cerrado desmatado foram patogênicos às duas espécies testadas, embora em níveis inferiores aos do isolado de raízes doentes.

7. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo, permitem as seguintes conclusões:

a) o fungo *C. clavatum* é agente causal de podridão de raízes de árvores de *P. caribaea* var. *hondurensis* e *P. oocarpa*, em plantações estabelecidas nas regiões do Triângulo Mineiro e de Pirapora, MG;

b) ambas as espécies de *Pinus* estudadas foram susceptíveis a *C. clavatum*, revelando os mesmos níveis de suscetibilidade ao referido fungo;

c) os três isolados de *C. clavatum* foram patogênicos às duas espécies de *Pinus* estudadas, ocorrendo diferenças na patogenicidade entre os mesmos. O isolado procedente de tecidos de raízes doentes foi mais patogênico que os outros dois, um deles obtido da rizosfera de raízes sadias de *P. caribaea* var. *hondurensis* e outro de solo virgem de cerrado recém-desmatado;

d) quanto à colonização dos tecidos pelo fungo, foi detectada a presença do mesmo nos tecidos adjacentes à lesão, a distâncias máximas

variando de 0,5 a 1,5 cm e 0,5 a 2,0 cm dependendo do isolado para os experimentos 1 e 2, respectivamente. O isolado 1 foi também o mais patogênico quanto à extensão da colonização dos tecidos.

e) o período mais favorável ao desenvolvimento da doença (8 de dezembro de 1978 a 28 de fevereiro de 1979) foi aquele em que ocorreram as mais altas temperaturas de solo, maior precipitação pluviométrica e as mais elevadas porcentagens de umidade do solo.

8. SUMMARY

The objectives of the present study were to determine the primary cause of a root rot of trees of tropical pine species, to evaluate the susceptibility of *Pinus caribaea* var. *hondurensis* e *P. oocarpa* to *Cylindrocladium clavatum* and to verify the occurrence of variation in pathogenicity among different isolates of this fungus.

Three experiments were carried out in different periods of the year in one stand of *P. oocarpa* and another of *P. caribaea* var. *hondurensis*, both with about six years of age. These stands were set up in a "cerrado" area, in Monte Carmelo, MG.

Three isolates of *C. clavatum* were used in the pathogenicity tests. These isolates had the following origins: a) diseased roots of *P. oocarpa*, from Pirapora, MG (isolate 1); b) rhizosphere of healthy trees of *P. caribaea* var. *hondurensis*, from Monte Carmelo, MG (isolate 2); and c) virgin soil of a "cerrado" area recently cut, also from Monte Carmelo, MG (isolate 3).

The fungus was inoculated by placing a mycelium-agar disc into circular holes done with a cork borer in the bark of lateral roots, in different points along the roots. The protection of the inoculation points was performed by replacing the bark disc into the inoculated holes and recovering the roots with the local soil.

Lesion development was evaluated 80 days after the inoculation for experiments 1 and 2 and 150 days for experiment 3, by the calculation of a lesion index (length x width of the lesions). The extension of the tissue colonization by the fungus was also evaluated by plating pieces of root tissues collected at different distances from the margin of the lesions.

The results obtained showed that: a) *Cylindrocladium clavatum* is the causal agent of the root rot of trees of *P. caribaea* var. *hondurensis* and *P. oocarpa*; b) both pine species tested were equally susceptible to the fungus; c) the three isolates of the fungus tested were pathogenic to both pine species tested. There were differences in pathogenicity among isolates the isolate from diseased roots being the most pathogenic in relation to the others; d) with respect to the colonization of the tissues by the fungus, its presence was detected in the vicinity of the lesions at maximum distances which varied from 0.5 to 1.5 cm and 0.5 to 2.0 cm depending on the isolate, for experiments 1 and 2, respectively. Isolate 1 was also the most pathogenic with respect to the extension of colonization; e) the most favorable period (December 8, 1978 to January 28, 1979) for development of the disease was that in which the highest soil temperatures, greatest rainfall and highest percentages of soil moisture occurred.

9. LITERATURA CITADA

- ALFIERI, S.A. Jr.; R.G. LINDERMAN; R.H. MORRISON e E.K. SOBERS. 1972. Comparative pathogenicity of *Calonectria theae* and *Cylindrocladium scoparium* to leaves and roots of azalea. *Phytopathology*, 62:647-650.
- BELL, D.K. 1967. Effects of soil temperature and plant age on the severity of *Cylindrocladium* rot of peanut. *Plant Disease Repr.*, 51:986-988.
- BERTUS, A.L. 1976. *Cylindrocladium scoparium* Morgan on Australian native plants in cultivation. *Phytopathologische Zeitschrift. Journal of Phytopathology*, 85:15-25.
- GARREN, H.G.; D.M. PORTER e A.H. ALLISON. 1971. *Cylindrocladium* black rot of peanuts in Virginia. *Plant Disease Repr.*, 55:419-421.
- HODGES, C.S. 1962. Black root rot of pine seedlings. *Phytopathology*, 52:210-219.

- HODGES, C.S. e L.C. MAY. 1972. A root disease of Pine, Araucaria, and Eucalyptus in Brazil caused by a new species of *Cylindrocladium*. *Phytopathology*, 62:898-901.
- KELMAN, A.; V.G. GOODING, Jr. 1965. A root and stem rot of yellow poplar caused by *Cylindrocladium scoparium*. *Plant Disease Repr.*, 49:797-801.
- KRÜGNER, T.L.; S.V. VALERI; L.R. CAPITANI e G.E. SPELTZ. 1978. Aspectos epidemiológicos da podridão de raiz de *Pinus* spp., causada por *Cylindrocladium clavatum*, nas regiões do Triângulo Mineiro e Pirapora, Minas Gerais. III Congresso Florestal Brasileiro, Manaus, 4 a 7 de dezembro (datilografado).
- PHIPPS, P.M. e M.K. BEUTE. 1977. Influence of soil temperature and moisture on the severity of *Cylindrocladium* black rot in peanut. *Phytopathology*, 67:1104-1107.
- RISHBETH, J. 1951. Observations on the biology of *Fomes annosus* with particular reference to East Anglian Pine plantations. III. Natural and experimental infection of pines and some factors affecting severity of the disease. *Ann. Bot.*, 15:221-246.
- ROCKELL, B.A. 1977. A simple method of inoculation large woody roots *in situ* with *Phytophthora cinnamomi* Rands. *Aust. For. Res.*, 7:271-272.
- ROWE, R.C. e M.K. BEUTE. 1975. Ascospore formation and discharge by *Calonectria crotalarie*. *Phytopathology*, 65:393-398.
- SOBERS, E.K. 1972. Morphology and Pathogenicity of *Calonectria floridana*, *Calonectria kyotensis* e *Calonectria uniseptata*. *Phytopathology*, 62:485-487.

SOBERS, E.K. e R.H. BELL. 1976. Pathogenicity of three species of *Cylindrocladium* to select hosts. *Plant Dis. Reprtr.*, 58:1017-1019.

TOWERS, B. e W.J. STAMBAUGH. 1968. The influence of induced soil moisture upon *Fomes annosus* root rot of Loblolly pine. *Phytopathology*, 58:269-272.

WEAVER, D.J. 1971. Influence of soil temperature on root rot of peach cause by *Cylindrocladium floridanum*. *Phytopathology*, 61:915-916.

APENDICE

Tabela a - Análise de variância para os Índices de lesão obtidos no experimento 1 (6/5 a 27/7/78), a partir da inoculação dos isolados 1, 2 e 3, em raízes de *P. occarpa* e *P. caribaea* var. *hondurensis*

CV	GL	SQ	QM	F
Espécie ¹	1	89.8009720	89.8009720	15.5533**
Resíduo A	10	57.737548	5.773754	
Parcelas	11	147.538520		
Isolado ²	2	956.374581	78.187290	71.1933**
Espécie	2	9.09410095	4.54705047	0.6769
Isolado dentro Espécie 1	2	439.839538	219.919769	32.742034**
Isolado dentro Espécie 2	2	525.629086	262.814543	39.128282**
Grau de liberdade V D I	30			
Quadrado Médio do Resíduo V D I		6.402412		
Espécie dentro Isolado 1	1	18.622718	18.622718	2.908703
Espécie dentro Isolado 2	1	17.356884	17.356884	2.710991
Espécie dentro Isolado 3	1	62.915460	62.915460	9.826836**
Resíduo B	20	134.334823	6.716741	
Total	35	1247.342027		

Média Geral = 19.2066
 CV Resíduo A = 12.5105
 CV Resíduo B = 13.4935

¹ Espécies: 1. *P. occarpa*; 2. *P. caribaea* var. *hondurensis*.
² Isolados: 1. tecido de raiz doente de *P. occarpa* (Pirapora, MG); 2. rizosfera de raízes sadias de *P. caribaea hondurensis* (Monte Carmelo, MG); 3. solo virgem de cerrado desmatado (Monte Carmelo, MG).

Tabela b - Análise de variância para os índices de lesão obtidos no experimento 2 (08/12/78 a 28/02/79) a partir da inoculação dos isolados 1, 2 e 3 em raízes de *P. occarpa* e *P. caribaea* var. *hondurensis*.

CV	GL	SQ	QM	F
Espécie ¹	1	23.6247253	23.6247253	0.3742
Resíduo A	10	631.253876	63.125387	
Parcelas	11	654.878601		
Isolado ²	2	12117.0824	6058.54123	65.0486**
Espécie	2	64.7729187	32.3864593	0.3477
Isolado dentro Espécie 1	2	5232.262729	2616.131364	28.088600**
Isolado dentro Espécie 2	2	6049.592580	3474.796290	37.307822**
Grau de liberdade V D I	29			
Quadro Médio do Resíduo V D I		83.134159		
Espécie dentro Isolado 1	1	87.129364	87.129364	1.048057
Espécie dentro Isolado 2	1	0.037523	0.037523	0.000451
Espécie dentro Isolado 3	1	1.230716	1.230716	0.014803
Resíduo B	20	1862.770905	93.138545	
Total	35	14699.504890		

Média Geral = 33.1215

C.V. Resíduo A = 23.9878

C.V. Resíduo B = 29.1376

¹ Espécies: 1. *P. occarpa*; 2. *P. caribaea* var. *hondurensis*.

² Isolados: 1. tecido de raiz doente de *P. occarpa* (Pirapora, MG); 2. rizosfera de raízes sadias de *P. caribaea hondurensis*; 3. solo virgem de cerrado desmatado (Monte Carmelo, MG).

Tabela c - Análise de variância para os índices de lesão obtidos no experimento 3 (08/12/78 a 08/05/79) a partir da inoculação dos isolados 1, 2 e 3, em raízes de *P. oocarpa* e *P. caribaea* var. *hondurensis*.

CV	GL	SQ	QM	F
Espécie ¹	1	35,6272461	35,6272461	2,9711
Resíduo A	10	1199,104004	119,910400	
Parcelas	11	1555,376465		
Isolado ²	2	1086,9693	15543,4846	133,3685**
Espécie	2	244,569824	122,284912	1,0492
Isolado dentro Espécie 1	2	14769,277473	7384,638736	63,362772**
Isolado dentro Espécie 2	2	16562,261405	8281,130702	71,054985**
Grau de liberdade V D I	30			
Quadrado Médio do Resíduo V D I			117,667057	
Espécie dentro Isolado 1	1	33,573913	33,573913	0,285329
Espécie dentro Isolado 2	1	556,295296	556,295296	4,727706*
Espécie dentro Isolado 3	1	10,972969	10,972969	0,093254
Resíduo B	20	2330,907717	116,545385	
Total	35	35217,823410		

Média Geral = 53,6045

C.V. Resíduo A = 20,4280

C.V. Resíduo B = 20,1393

¹ Espécies: 1. *P. oocarpa*; 2. *P. caribaea* var. *hondurensis*.
² Isolados: 1. tecido de raiz doente de *P. oocarpa* (Pirapora, MG); 2. rizosfera de raízes sadias de *P. caribaea hondurensis* (Monte Carmelo, MG); 3. solo virgem de cerrado desmatado (Monte Carmelo, MG).