



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

**ELISÂNGELA DOS SANTOS**

**VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS NA SELEÇÃO DE CACAUEIROS À MURCHA  
DE CERATOCYSTIS**

**ILHÉUS-BAHIA  
2015**

**ELISÂNGELA DOS SANTOS**

**VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS NA SELEÇÃO DE CACAUEIROS À MURCHA  
DE CERATOCYSTIS**

Dissertação apresentada à Universidade

Linha de Pesquisa: Proteção de Plantas

Orientadora: Dr<sup>a</sup> Edna Dora Martins Newman  
Luz

Coorientador: Dr. Uilson Vanderlei Lopes

**ILHÉUS-BAHIA  
2015**

ELISÂNGELA DOS SANTOS

**VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS NA SELEÇÃO DE CACAUEIROS À MURCHA  
DE CERATOCYSTIS**

Ilhéus – BA, 21/ 07 /2015.

---

Edna Dora Martins Newman Luz – PhD  
UESC/CEPLAC  
(Orientadora)

---

José Luíz Bezerra - PhD  
UESC/CEPLAC

---

Stela Dalva Vieira Midlej Silva – DS  
CEPLAC

**ILHÉUS-BAHIA  
2015**

Aos meus pais Elias e Eunice (*in memoriam*).  
Por tudo que me proporcionaram seus esforços, carinho, dedicação, força, estímulos  
e ensinamentos para a minha formação pessoal.

**Dedico**

## AGRADECIMENTO

- ★ A Deus, pela vida e força que me faz continuar a lutar por todos os meus sonhos e projetos. Minha fonte de existência.
- ★ À Dra. Edna Dora Martins Newman Luz, pela orientação, carinho, paciência, apoio, incentivo em todos os momentos, compreensão e confiança em meu trabalho.
- ★ À pesquisadora e coordenadora do laboratório de *Ceratocystis*, Dilze Maria Argôlo, pelo grande incentivo, colaboração, amizade e conhecimentos compartilhados.
- ★ Ao meu coorientador, Dr. Uilson Vanderlei Lopes, sugestões apresentadas e por todo auxílio na realização deste trabalho.
- ★ Às minhas irmãs Celidalva e Rosângela, meu irmão Lindevaldo e meus sobrinhos Gabriel e Marina, que são meus incentivadores.
- ★ A Emmerson pelo amor, companheirismo, atenção, apoio e incentivo em todos os momentos.
- ★ A Gildeir Braga, pelo apoio, palavras de incentivo e pela grande e inestimada amizade.
- ★ Às técnicas do Laboratório de *Ceratocystis*, Ana Rosa Niella e Virginia Damaceno, pela amizade, ajuda e por compartilharem seu conhecimento.
- ★ Aos colegas e amigos dos laboratórios de Fitopatologia CEPEC/CEPLAC, Francis Tocafundo, Gisele, Tacila, Antônio Neto, Renata Alpoim pelo convívio, pelo apoio e pela amizade.
- ★ A Lindolfo Pereira, pelo auxílio, pelas sugestões apresentadas e pela ajuda nas análises estatísticas.
- ★ Aos funcionários e técnicos da Seção de Fitopatologia, Lurdinha, Tita, Cenilda, Denise, Clélia, Eduardo Catarino, Joel e Durval, pelo apoio.
- ★ Aos operários de campo da seção de Fitopatologia, em especial a Orlando, Nane e Helenizio, pela ajuda nos trabalhos e pela amizade.

- ★ À UESC, pelos ensinamentos ministrados através de seus professores.
- ★ À secretária do mestrado de Produção Vegetal, Caroline Tavares, pela competência e boa vontade.
- ★ À CEPLAC/CEPEC, por conceder toda a infraestrutura para a execução dos trabalhos.
- ★ A CAPES, pela concessão da bolsa.
- ★ Meus agradecimentos a todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

EXTRATO.....	viii
ABSTRACT.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE TABELAS.....	xvi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. O Cacaueiro ( <i>Theobroma cacao</i> L.).....	3
2.2. Doenças do cacaueiro e o melhoramento genético.....	4
2.3. A Murcha de <i>Ceratocystis</i> .....	8
2.3.1. Agente causal.....	9
2.3.2. Sintomas.....	11
2.3.3. Disseminação.....	12
2.3.4. Controle da Murcha de <i>Ceratocystis</i> (MC).....	13
2.4. Metodologias de inoculação com <i>C. cacaofunesta</i> no cacaueiro.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
3.1. Material Genético.....	16
3.2. Preparo do inóculo.....	16
3.3. Inoculação de <i>C. cacaofunesta</i> em campo.....	17
3.4. Inoculação de <i>C. cacaofunesta</i> em discos de folhas.....	18
3.5. Avaliações e análise dos dados.....	19
4. RESULTADOS.....	20
4.1. Avaliação em campo.....	20
4.2. Avaliação em discos de folhas.....	25
4.3. Avaliação em campo x Avaliação discos de folhas.....	27
5. DISCUSSÃO.....	31
6. CONCLUSÕES.....	37
7. REFERÊNCIAS.....	38

## EXTRATO

Santos, Elisângela dos, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Julho de 2015. **VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA NA SELEÇÃO DE CACAUEIROS À MURCHA DE CERATOCYSTIS.** Orientadora: Dr<sup>a</sup> Edna Dora Martins Newman Luz; coorientador: Dr. Uilson Vanderlei Lopes.

A Murcha de ceratocystis do cacau (*Theobroma cacao* L.) é uma das principais doenças na região cacauífera da Bahia, e por ser de difícil controle, encontrar fontes de resistência, é prioritário. Neste estudo foi testada em campo e através de metodologia de inoculação precoce, em discos de folhas, a resistência a *C. cacaofunesta* de 39 clones selecionados por apresentarem características agronômicas desejáveis e resistência à vassoura de bruxa. As inoculações em campo foram feitas marcando em quatro árvores de cada clone cinco ramos lenhosos com aproximadamente 1,5 cm de diâmetro, sendo que quatro ramos receberam 30 µL do inóculo na concentração de  $3 \times 10^4$  UFC/mL e um ramo recebeu água (testemunha). Foram inoculados 41 clones, incluindo-se CCN-51 (padrão de suscetibilidade) e cacau Jaca (padrão de resistência). Sessenta dias após a inoculação, os ramos foram coletados e avaliados o comprimento, a largura e a área das lesões. Dos mesmos 41 clones, foram coletados 30 discos de folhas (1,5 cm de diâmetro) e dispostos com a parte abaxial voltada para cima em caixas plásticas sobre espumas umedecidas com água e aplicados 20 µL de suspensão com  $3 \times 10^4$  UFC/mL de *C. cacaofunesta*. Após quatro dias, foi contado o número de peritécios formados. As médias de comprimento, largura e área das lesões, assim como o número de peritécios formados nos clones foram comparadas às do Jaca e de CCN-51 ( $p < 0,05$ ; Dunnett). Os clones CP-41, CP-55, CP-40, HB-07, HB-08, CP-188, CP-56, CP-336, CP-181, CP-347, HB-15, CP-264, PS-1319, CP-176, CP-109, CP-129, CP-204, CEPEC-2002, CP-309, CP-301, CP-160, CP-102 não diferiram estatisticamente do cacau Jaca nos dois métodos de inoculação, sendo novas fontes de resistência. Houve ganho genético com o uso dos dois métodos de inoculação e correlações de Pearson positivas e altamente significativas, entre as variáveis comprimento e área de lesão, largura e área de lesão, número de peritécios formados e área de lesão e significativa entre comprimento e largura das lesões e número de peritécios e comprimento das lesões. Validou-se a metodologia de



inoculação em discos de folhas como plausível para testar resistência em cacauero ao patógeno.

**Palavras-chave:** *Ceratocystis cacaofunesta*; *Theobroma cacao*; Fontes de resistência.

Santos, Elisângela dos, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, July 2015.

VALIDATION of methodology to select Cacao trees for resistance to CERATOCYSTIS WILT. Advisor: Dr. Edna Dora Martins Newman Luz; Co-Advisor: Dr. Uilson Vanderlei Lopes.

## ABSTRACT

Ceratocystis wilt (CW) of cacao (*Theobroma cacao* L.) is a major disease in the cocoa region of Bahia, and being of difficult control, finding sources of resistance is a priority. In this study was tested under field conditions and through an early inoculation methodology in leaf discs the resistance to *Ceratocystis cacaofunesta* of 39 clones selected for having desirable agronomic characteristics and resistance to witches' broom. The field inoculations were performed marking on each of four trees per clone five woody branches with approximately 1.5 cm in diameter from which four branches received 30 uL of inoculum at a concentration of  $3 \times 10^4$  CFU /mL and one branch, received water (control). Forty one clones were inoculated, including CCN-51 (susceptibility control) and "cacao Jaca" (resistance control). Sixty days after inoculation, branches were collected and evaluated the length, width and area of the lesions. From each of the same 41 clones 30 leaf disks were cut (1.5 cm diameter) and placed with the abaxial face turned side up in plastic boxes on foams wetted with water. To each leaf disk was applied 20 uL suspension with  $3 \times 10^4$  CFU/mL of *C. cacaofunesta*. After four days the number of perithecia formed was counted. The averages of length, width and area of lesions, and the number of perithecia formed in the clones leaf disks were compared with the controls Jaca and CCN-51 ( $p < 0.05$ ; Dunnett). Clones CP-41, CP-55, CP-40, HB-07, HB-08, CP-188, CP-56, CP-336, CP-181, CP-347, HB-15, CP-264, PS-1319, CP-176, CP-109, CP-129, CP-204, CEPEC-2002, CP-309, CP-301, CP-160, and CP-102 did not differ from cacao Jaca in the two methods of inoculation, being so new sources of resistance to CW. There was a genetic gain with the use of the two methods of inoculation and highly significant positive Pearson correlations between the variable length and lesion area, width and lesion area, number of perithecia formed and lesion area; and significant between length and width of the lesions and number of perithecia and lesions length. The

Inoculation methodology using leaf discs was validated as useful to test resistance in cocoa to the pathogen.

Keywords: *Ceratocystis* wilt; *Theobroma cacao*; sources of resistance.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** (A) Cultura de *C. cacaofunesta* em meio de BDA; (B) Peritécios com gotas de ascósporos; (C) Lesão causada por *C. cacaofunesta* em ramo de cacaueteiro; (D) Coleóptera do gênero *Xyleborus*; (E-F) Planta adulta e muda de cacaueteiro mortas pelo patógeno.....**10**
- Figura 2.** Inoculação de *C. cacaofunesta* em plantas de cacaueteiros. (A) Incisão no galho; (B) Inoculação com micropipeta; (C) Câmara úmida no local inoculado; (D) Planta de cacaueteiro inoculada; (E) Ramos coletados 60 dias após a inoculação com o isolado Cc 20; (F) Medição da área da lesão por *C. cacaofunesta* em ramos.....**17**
- Figura 3.** Inoculação em discos de folhas de cacaueteiros, (A) Incisão nas folhas de cacaueteiros; (B) Corte de discos de folhas com cortador semiautomático; (C) Inoculação de discos de folhas; (D) Peritécios de *C. cacaofunesta*.....**18**
- Figura 4.** Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as médias das variáveis área x comprimento da lesão causada por *Ceratocystis cacaofunesta* em ramos de 41 clones de cacaueteiros inoculados em campo.....**23**
- Figura 5.** Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as médias das variáveis, área x largura, da lesão causada por *Ceratocystis cacaofunesta* em ramos de 41 clones de cacaueteiro inoculados em campo.....**23**
- Figura 6.** Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as médias das variáveis largura x comprimento das lesões causadas por *Ceratocystis cacaofunesta* em ramos 41 clones de cacaueteiro inoculados em campo.....**24**
- Figura 7.** Diferenças entre as médias das áreas das lesões e do número de peritécios formados nos 41 clones nas duas metodologias testadas.....**28**
- Figura 8.** Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as médias do comprimento das lesões em ramos no campo e o número médio de peritécios

formados em discos de folhas de 41 clones inoculados com *Ceratocystis cacaofunesta*.....**29**

**Figura 9.** Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as médias da área das lesões em ramos no campo e o número médio de peritécios formados em discos de folhas de 41 clones inoculados com *Ceratocystis cacaofunesta*.....**29**

**Figura 10.** Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as médias da largura das lesões em ramos no campo e o número médio de peritécios formados em discos de folhas de 41 clones inoculados com *Ceratocystis cacaofunesta*.....**30**

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Análise de variância do comprimento, largura e área das lesões causadas por *Ceratocystis cacaofunesta* nos 41 clones de cacau inoculados em condições de campo.....**20**
- Tabela 2.** Comparação entre médias das lesões em campo dos 39 clones de cacau inoculados com *Ceratocystis cacaofunesta* em relação aos clones testemunhas padrão de resistência (cacau Jaca) e suscetibilidade (CCN-51), pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de significância.....**22**
- Tabela 3.** Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as médias de 41 clones de cacau e herdabilidade clonal para as variáveis comprimento, largura e área das lesões causadas por *C. cacaofunesta* quando inoculada em ramos de plantas adultas.....**24**
- Tabela 4.** Número médio de peritécios formados em discos de folhas dos 39 clones de cacau inoculados com *Ceratocystis cacaofunesta* em relação aos clones testemunhas padrão de resistência (cacau Jaca) e suscetibilidade (CCN-51), pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de significância.....**26**
- Tabela 5.** Herdabilidade clonal, correlação de Pearson e ganho genético pela seleção baseada na área, comprimento, largura da lesão, e número de peritécios.....**30**

## 1. INTRODUÇÃO

O cacauero (*Theobroma cacao* L.) é uma planta frutífera da família Malvaceae, nativa das florestas tropicais úmidas das Américas Central e do Sul. Atualmente os principais países produtores do cacau são: Costa do Marfim, Gana, Nigéria e Camarões (África); Indonésia, Malásia e Papua Nova Guiné (Ásia/Oceania) e Brasil, Equador e Colômbia (América) (WCF, 2014). A produção no Brasil na safra de 2014 registrou 218.472 t de amêndoas de cacau sendo 158.740 t produzidas na Bahia, enquanto os outros estados produtores contribuíram com 59.732 t (SEAGRI, 2015).

Desde a introdução da cacauicultura na Bahia, em 1746, a região tornou-se a principal produtora de cacau do país (GRAMACHO et al., 1992). Porém, com a constatação da doença vassoura de bruxa [*Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora], em 1989 (PEREIRA et al., 1989), perdas significativas foram observadas na produção, desencadeando sérios problemas socioeconômicos e ambientais (LUZ et al. 2013).

Na tentativa de reverter o quadro de baixa produtividade dos cacaueiros, o Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), adotou várias alternativas técnicas na região sul da Bahia, destacando-se a substituição dos cacaueiros infectados por variedades clonais com alta produtividade e resistência à doença (MONTEIRO; ANHERT, 2012).

Em meio à crescente busca para o controle da vassoura de bruxa, a cacauicultura baiana foi afetada pela murcha de ceratocystis, outra importante doença, cujo agente etiológico é o fungo ascomicota *Ceratocystis cacaofunesta* Engelbr. & T.C. Harr., que causou a morte de muitas plantas, especialmente, em plantios com material genético suscetível. As podas para remoção de vassouras e as enxertias para clonagem de material genético com resistência à vassoura de bruxa podem ter contribuído para a rápida disseminação da doença na região, uma vez que a principal via de propagação da enfermidade entre as plantas se dá pela realização dos tratos culturais, principalmente, desbrota, poda e enxertia, onde as unidades infectivas do patógeno são levadas de uma planta doente para outra sadia através das ferramentas (DELGADO; SUÁREZ, 2003; SILVA et al., 2004; OLIVEIRA; LUZ, 2005; SANCHEZ, 2007).

*Ceratocystis cacaofunesta* é um patógeno vascular de difícil controle (TUMURA et al., 2012; OLIVEIRA; LUZ, 2005). Uma vez penetrando na planta, bloqueia os vasos do xilema, impedindo o transporte da água absorvida pelo sistema radicular para a parte aérea da planta, o que ocasiona a murcha total ou parcial dela (ALBUQUERQUE et al., 2005; OLIVEIRA; LUZ, 2005).

Embora muitos genótipos (progênies e clones) já tenham sido testados para resistência a *C. cacaofunesta* na Bahia (SILVA et al., 2004; 2007a; 2010; 2012; 2013; OLIVEIRA et al., 2009; SANCHES, 2007), o número daqueles que foram considerados como resistentes ao patógeno ainda é pequeno e inclui materiais como a variedade 'Jaca' que não tem aceitação por parte dos produtores. Há, portanto, necessidade de continuar a busca por clones resistentes à doença, tanto para auxiliar o melhoramento genético, quanto para o uso pelos produtores como porta enxerto (SILVA et al., 2007b; 2012).

Com um extenso programa de melhoramento genético do cacauero (PMGC) estabelecido no CEPEC, foram gerados clones provenientes de seleções em fazendas e, também, de cruzamentos entre materiais produtivos e promissores para resistência à vassoura de bruxa (LOPES et al., 2011), tornando-se necessário, antes de lançá-los para cultivo, conhecer a natureza de suas reações em relação ao ataque de *C. cacaofunesta*. Com tal objetivo, realizou-se esta pesquisa, a fim de selecionar, entre clones que apresentam características agrônomicas desejáveis e resistência à vassoura de bruxa, aqueles que sejam também resistentes ao *C. cacaofunesta*, utilizando-se o método de inoculação em campo, sem danificar as plantas testadas e, também, buscando validar a metodologia, de discos de folhas para avaliação precoce de resistência ao patógeno.



## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. O Cacaueiro (*Theobroma cacao* L.)

Planta perene, arbórea, de clima tropical e nativa das margens dos rios Amazonas e Orinoco (GRAMACHO et al., 1992), o cacaueiro (*T. cacao*) expandiu-se a partir do seu centro de origem para vários países do continente americano, estando localizados nas Américas, África e Ásia, os principais países produtores de cacau (DIAS, 2001).

Inicialmente foi descrito pela literatura botânica como *Cacao fructus* por Charles de L'Écluse. Posteriormente, recebeu uma nova designação por Linnaeus, *Theobroma fructus*, que foi modificado depois por este mesmo autor para *Theobroma cacao*, nome científico utilizado até o presente (HERMÈ, 2006).

A classificação botânica atual do cacaueiro é: Divisão Magnoliophyta; Classe Magnoliopsida; Ordem Malvales; Família Malvaceae; Gênero *Theobroma*; Espécie *T. cacao* L. (LORENZI et al., 2006). Esta é a espécie mais cultivada dentre as 22 que compõem o gênero, seguida do cupuaçu [*Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng.) Schum], cujo cultivo vem sendo explorado comercialmente (DIAS, 2001).

O cacaueiro, sob condição silvestre, chega a atingir até 20 m de altura, porém em cultivo, as plantas alcançam entre 3 a 5 m de altura (MONTEIRO; ANHERT, 2012) com folhas oblongas, acuminadas e glabras com nervura central proeminente. É uma planta cauliflora, com flores hermafroditas que surgem em almofadas florais no tronco e ramos lenhosos. O fruto é uma baga indeiscente com cerca de 50 sementes recobertas com uma mucilagem de coloração branca, doce e ácida que é utilizada para a fabricação de suco, doces, geleias e sorvete. A semente, após fermentação e secagem, é o principal produto comercial, da qual é extraída a matéria prima para o chocolate e achocolatados, além de produtos farmacológicos e cosméticos (GRAMACHO et al., 1992).

Em 2014, os países africanos Costa do Marfim, Nigéria, Camarões e Gana foram responsáveis por 73% da produção mundial de cacau, Brasil e Equador atingiram em torno de 15%, Indonésia e Nova Guiné participaram com 12% (ICCO, 2015).

A cultura do cacaueiro é típica de sub-bosque, podendo ser cultivada em condições variadas, mas se adapta a áreas sombreadas, que amenizam a insolação

direta e reduzem o vento (SILVA; HANSEN, 2002). No Sul da Bahia, a cacauicultura é predominantemente agroflorestal, também conhecida como sistema cabruca, caracterizada pelo cultivo sombreado por árvores nativas da região, preservando fragmentos das florestas nativas (ALGER; CALDAS, 1996).

As variedades cultivadas de cacau estão divididas em três grandes grupos: Criollo, Forastero e Trinitário. Estes três grupos são geneticamente diferentes, contudo, o cacau Trinitário é um híbrido dos dois primeiros grupos. As principais diferenças botânicas encontradas na espécie (*Theobroma cacao* L.) estão relacionadas à origem e à localização geográfica dos grupos Criollo e Forastero (MONTEIRO; ANHERT, 2012).

O cacau Criollo possui frutos grandes que, em geral, apresentam a casca fina e rugosa, dando origem a um produto de superior qualidade, conhecido, comercialmente, como “cacau fino”. O cacau Forastero possui frutos com forma variada, sementes achatadas de cor violeta-intenso e produz um cacau conhecido como tipo “básico”. O cacau Trinitário é um produto de qualidade comercial intermediária (CUATRECASAS, 1964). Segundo Monteiro e Anhert (2012), cacauzeiros pertencentes ao grupo Criollo possuem excelentes qualidades organolépticas, enquanto os grupos Amazônicos apresentam maior resistência a pragas e doenças.

No Brasil, o cultivo do cacauzeiro teve início na segunda metade do século XVII, no Estado do Pará, onde a Carta Régia autorizava os colonizadores a cultivá-lo em suas terras (LEÃO, 2010). Na Bahia, o cultivo foi introduzido em 1746 e, devido às condições edafoclimáticas favoráveis, tornou-se a principal região produtora do país. Atualmente, há plantios nos estados do Espírito Santo, Rondônia, Mato Grosso, Pará e Amazonas (GRAMACHO et al., 1992).

## **2.2. As doenças do cacauzeiro e o melhoramento genético**

Um dos fatores limitantes ao cultivo do cacauzeiro é, sem dúvida, a ocorrência de doenças. No Brasil, segundo Oliveira e Luz (2012) ocorrem as seguintes doenças no cacauzeiro: Vassoura de Bruxa, Podridão Parda, Murcha de Ceratocystis, Murcha de Verticillium, Podridão Vermelha, Podridão Castanha, Podridão Branca, Podridão de Mycoleptodiscus, Cancro de Phytophthora, Cancro de Lisiodiplodia, Morte Descendente, Mal Rosado, Galha Floral e Antracnose.

Durantes muitos anos, a podridão parda dos frutos do cacauzeiro, causada por *Phytophthora capsici*, *P. palmivora*, e *P. citrophthora* foi considerada a principal doença do cacauzeiro na região Sul da Bahia, causando perdas estimadas entre 20 a 30% ao ano (OLIVEIRA; LUZ, 2005).

Na década de 80, a cacauicultura na região sul da Bahia ocupava lugar de destaque na economia do país, responsável por mais de 80% da produção de amêndoas do Brasil (CEPLAC, 2015). Porém, no final desta mesma época, em 1989, ocorreu o aparecimento de outra doença de maior importância fitossanitária, a vassoura de bruxa, causada pelo basidiomiceto *Moniliophthora perniciosa*, que se disseminou rapidamente pela região, causando sérios problemas econômicos, sociais e ambientais e reduzindo a produção em 75% (OLIVEIRA; LUZ, 2005).

Para amenizar a situação após a queda na produção, o Brasil adotou como alternativa a importação de cacau em amêndoas, o que alterou por completo o panorama comercial de cacau, isto é, de tradicional país exportador passou a ser importador de cacau em amêndoas, somente exportando subprodutos (CEPLAC, 2015). Diante da situação de crise, tornou-se necessária a busca por novas estratégias para o controle da vassoura de bruxa, tais como o manejo com controle fitossanitário e a seleção de material genético tolerante e/ou resistência à ação do patógeno entre outras (LEITE, 2006).

Em 1997, em mudas enxertadas com sintomas de cancro provenientes de fazenda do município de Ilhéus (BEZERRA, 1997), constatou-se, pela primeira vez, oficialmente, na Bahia, a ocorrência de *Ceratocystis fimbriata* como agente da causa da seca e morte das mudas de cacauzeiro. No ano seguinte, a murcha de ceratocystis foi constatada em cacauzeiros adultos que haviam sido clonados em Ituberá (BEZERRA et al., 1998). A partir daí, a doença se disseminou na região, principalmente, em função da técnica de clonagem que já estava sendo muito utilizada para diminuir o impacto causado pela vassoura de bruxa, na tentativa de amenizar o desastre econômico que a região já estava vivendo, em função das perdas causadas por *M. perniciosa* (LUZ et al., 2013).

A utilização de fontes genéticas resistentes é comprovadamente a medida de controle mais eficiente para as doenças do cacauzeiro por ser econômica, estável e possuir características ambientais desejáveis, não causando qualquer impacto ao meio ambiente (DIAS, 2001; PINTO; PIRES, 1998). Por isso, vem sendo o método mais pesquisado e adotado, visto que outros tipos de controle mostram-se onerosos

e ineficazes quando não são feitos corretamente, principalmente em propriedades onde são cultivadas variedades suscetíveis e de baixa produtividade (PINTO; PIRES, 1998; PIRES, 2003).

Estudos sobre melhoramento genético do cacau em geral e para resistência às doenças foram iniciados em Trinidad, nas décadas dos anos 30 e 40 do século 20. Coletas foram feitas nos rios da Amazônia peruana, selecionando os mais promissores, denominados clones Alto Amazônicos, que foram cruzados com seleções locais, mais produtivas, em busca de genes de resistência. Resultaram daí os clones altamente produtivos da série TSH (“Trinidad Selected Híbridos”) (RIOS-RUIZ, 2001; BARTLEY, 2005).

O Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC) iniciou seu programa de melhoramento desenvolvendo cultivares híbridas através do cruzamento entre variedades clonais competitivas e com outras características agrônômicas desejáveis, originárias de Trinidad e da Costa Rica, na busca de obter variedades com boas características de qualidade, produção e resistência. Os híbridos, assim obtidos, foram cultivados, bem como seleções locais da cultivar ‘comum’, que já existiam na região (PEREIRA, 2001).

Estes híbridos foram responsáveis pelo aumento da produção e, conseqüentemente, pela expansão da cultura, impulsionada pelos programas pró-cacau na década dos anos 70 do século 20 (MANDARINO; SENA GOMES, 2009), levando o Brasil ao posto de segundo maior produtor de cacau do mundo na década de 80 do século passado. O melhoramento para resistência às doenças na Bahia visava então apenas à resistência à podridão parda que, em termos mundiais, é, ainda hoje, a principal doença do cacau (LUZ et al., 2013).

Concomitantemente, a CEPLAC realizou a partir de 1965, diversas expedições botânicas na região amazônica com o objetivo de obter maior diversidade de genótipos de cacau com características de resistência à vassoura de bruxa, doença endêmica naquela região, formando uma ampla coleção de material genético representativa da diversidade genética de cacau existentes, principalmente nas bacias hidrográficas da Amazônia brasileira (PAIM, 2005; ALBUQUERQUE et al., 2005). Almeida et al. (2009), afirmam que na ampla população existente ao longo das áreas de distribuição natural na Amazônia, região de origem da espécie *T. cacao*, encontram-se presentes ainda recursos genéticos

com possibilidade de seleção de variedades mais produtivas, adaptadas às regiões de cultivos e com maior resistência a pragas e doenças.

Já na década de 90, após a introdução da vassoura de bruxa na Bahia, as buscas por novos materiais resistentes foram realizadas nas fazendas de cacau da região, nas populações de cacauzeiros formadas basicamente por variedades híbridas distribuídas pela CEPLAC, tendo sido obtidos os genótipos que formaram a série VB (LOPES et al., 2011).

Também na década de 90 o Programa de Melhoramento Genético do Cacauzeiro (PMGC) do CEPEC/CEPLAC voltou suas pesquisas para o desenvolvimento de cultivares resistente a VB, e passou a destacar os métodos de seleção recorrente, em busca de genes de resistência e de outros caracteres de interesse agrônomo (PIRES, 2003). Entre 1995 e 1997 foram recomendados para plantio a primeira variedade (Theobahia) e os primeiros clones resistentes a *M. pernicioso*, após o declínio da produção de cacau ocasionada pelo avanço da VB na região cacauzeira baiana (PEREIRA, 2001).

Para a obtenção de uma resistência estável, durável e ativa, Pinto e Pires (1998) recomendam como estratégia o desenvolvimento e seleção de variedades através de cruzamentos em primeira e segunda geração, obtendo materiais genéticos que acumulem um maior número de genes ligados à resistência.

O PMGC da CEPLAC, buscando renovar gradativamente a lavoura da região cacauzeira na Bahia, desenvolveu dois tipos de populações-base, as geneticamente estruturadas e as não estruturadas. As primeiras foram formadas a partir de autofecundação de clones, retrocruzamentos e cruzamentos complexos, utilizando-se da diversidade encontrada a partir dos híbridos gerados, anteriormente, pelo programa. Estas populações contêm materiais que apresentam além de genes de resistência à vassoura de bruxa, obtidos das diversas fontes de resistência testadas, outras características agronomicamente desejáveis e que são selecionadas também para produção, como número e peso de sementes e frutos produzidos (MONTEIRO; AHNERT, 2012). Em algumas progênies deste material constatou-se alta resistência à inoculação com *M. pernicioso* (BENJAMIN et al. 2014). O mesmo obtendo-se em relação àquelas oriundas de populações estruturadas (SILVA et al. 2010; BENJAMIN, 2012).

### 2.3. A Murcha de *Ceratocystis*

Essa doença do cacauzeiro é também conhecida como Mal do facão, por estar associada a cortes realizados com esta ferramenta durante as práticas culturais. No Sul da Bahia, dentre as doenças que afetam o cacauzeiro, três têm se destacado por apresentarem maior importância econômica e pelo emprego de tecnologias avançadas para controle, a vassoura de bruxa, a podridão parda e a murcha de *ceratocystis*, esta última é responsável pela morte de muitas plantas em diferentes estágios de desenvolvimento (LUZ et al., 2013).

Foi descrita pela primeira vez em 1918, no Equador, tendo como agente etiológico *Ceratocystis fimbriata* Ellis e Halst. Ocorre na Colômbia, Costa Rica, Guatemala, Haiti, México, República Dominicana, Trinidad e Tobago e Venezuela (DELGADO; SUÁREZ, 2003; SILVA et al., 2004; 2007a). No Brasil, a murcha de *ceratocystis* foi registrada, inicialmente, no estado de Rondônia, causando esporadicamente morte de plantas (BASTOS; EVANS, 1978); em 1997 a doença foi constatada na Bahia (BEZERRA, 1997; BEZERRA et al., 1998); posteriormente, em 2001, no norte do Espírito Santo (ALMEIDA et al., 2005); e em 2004, no Pará (BASTOS; ALBUQUERQUE, 2005). Recentemente foi assinalada em cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Willd. ex Spreng) (OLIVEIRA et al., 2013).

Segundo Oliveira e Luz (2005), as novas técnicas e estratégias de manejo para o controle da vassoura de bruxa, favoreceram o aparecimento e a disseminação da murcha de *ceratocystis* na região cacauzeira da Bahia. Os autores citam também a possibilidade da presença da doença, de forma esporádica, na região há alguns anos, sendo que sua importância econômica foi observada apenas após causar danos em novos materiais genéticos, principalmente, a cultivar Theobahia, que apresentavam resistência à vassoura de bruxa, e mostraram-se bastante susceptíveis à murcha de *ceratocystis*. Em algumas fazendas da região a doença chegou a causar a morte de aproximadamente 85% do plantio (SANCHES, 2007).

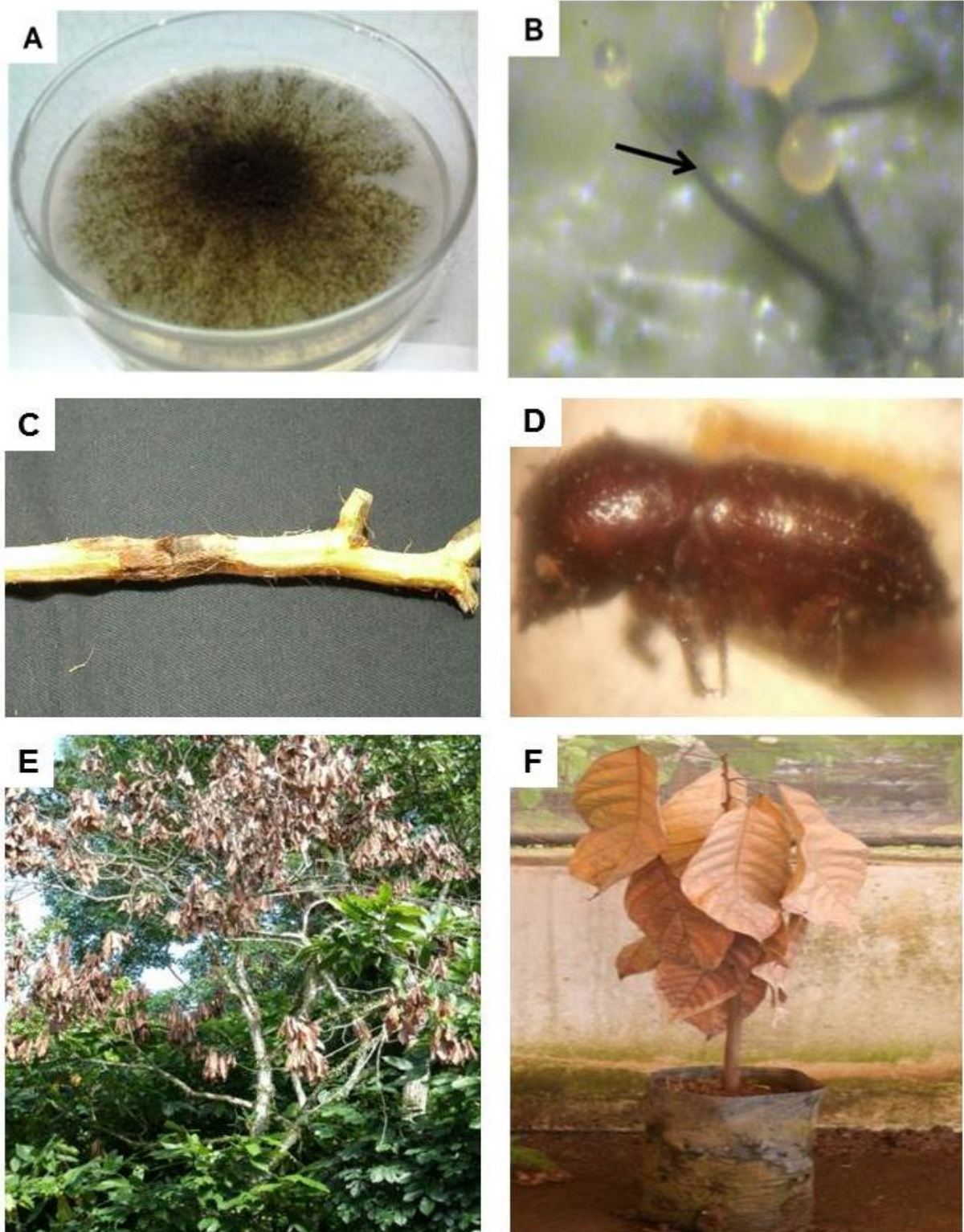
É difícil precisar as perdas econômicas causadas pela murcha de *ceratocystis* ao cacauzeiro. Segundo Saunders (1965), milhões de árvores foram mortas por esta doença na Costa Rica. Barros (1981) relata a destruição, em 1955, de mais de 50% dos cacauzeiros dos departamentos de Valle e Cauca, na Colômbia, levando ao abandono de muitas fazendas e ao declínio na produção de cacau daquele país,

enquanto Lass (1970) afirma que mais de 40 mil plantas das cultivares ICS 1 e ICS 45 morreram no Equador em função do ataque do patógeno.

### 2.3.1. Agente causal

A espécie *Ceratocystis cacaofunesta* Engelbr. & T.C. Harr., pertence ao filo Ascomycota, classe Sordariomycetes, ordem Microascales, família Ceratocystidaceae e gênero *Ceratocystis* (Engelbrecht; Harrington, 2005). Produz peritécios superficiais, parciais ou completamente imersos no substrato, globosos, pescoços longos e fimbriados, de coloração castanha a preta (Figura 1B). Os ascos, distribuídos ao acaso na cavidade do ascoma, possuem paredes evanescentes ao amadurecerem, liberando os ascósporos (KRÜGNER; BACCHI, 1995; TRINDADE; FURTADO, 1997). Os ascósporos são elípticos, hialinos, com presença de uma espécie de bainha gelatinosa, com uma aparência de chapéu. O patógeno produz ainda endoconídios catenulados e clamidósporos (aleuroconídios), presentes também nas plantas infectadas como estruturas de resistência (OLIVEIRA; LUZ, 2005; 2012). Em ambientes favoráveis ao desenvolvimento da doença, a planta morre e o fungo passa a crescer no tecido em decomposição sobre o qual realiza sua reprodução através da formação de esporos e estruturas de resistência (clamidósporos) (BEDENDO, 1995).

No Brasil, há relatos de poucas espécies do gênero *Ceratocystis*, dentre elas, *C. paradoxa*, *C. cacaofunesta* e *C. fimbriata*, esta última, a de maior relevância, causando doenças em plantas lenhosas e herbáceas de importância econômica no país (FIRMINO, 2011; MONTOYA; WINGFIELD, 2006; SANTOS et al., 2011; OLIVEIRA; LUZ, 2005). Podem ser citadas entre os hospedeiros de *C. fimbriata*: mangueira (*Mangifera indica*) (TRINDADE; FURTADO, 1997), atemóia (híbrido de *Annona cherimola* com *A. squamosa*) (FIRMINO et al., 2012), eucalipto (*Eucalyptus spp.*) (TRINDADE; FURTADO, 1997; AUER, SANTOS 2011; TUMURA, 2011; FIRMINO et al., 2013), acácia negra (*Acacia mearnsii*) (RIBEIRO et al., 1988; TRINDADE; FURTADO, 1997), batata doce (*Ipomoea batatas*) (FERREIRA et al., 2005), cacau (*Theobroma cacao*) (SILVA et al., 2004; 2007a), café (*Coffea arabica*) (TRINDADE; FURTADO, 1997), coco (*Cocos nucifera*) (COSTA CARVALHO et al., 2011), seringueira (*Hevea brasiliensis*) (SILVEIRA et al., 1994; TRINDADE; FURTADO, 1997), cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) (OLIVEIRA, 2013).



**Figura 1.** (A) Cultura de *C. cacaofunesta* em meio de BDA; (B) Peritécios com gotas de ascósporos; (C) Lesão causada por *C. cacaofunesta* em ramo de cacaveiro; (D) Coleóptera do gênero *Xyleborus*; (E-F) Planta adulta e muda de cacaveiro mortas pelo patógeno.



Engelbrecht e Harrington (2005), utilizando técnicas de biologia molecular, descreveram os isolados do cacau como *Ceratocystis cacaofunesta*, partindo da observação de diferenças morfológicas entre 37 isolados de cacau (*T. cacao*), batata-doce (*Ipomoea batatas* L. Lam) e plátano (*Platanus* spp.).

Culturas do fungo *C. cacaofunesta* exalam odor característico de fruta madura bem como as plantas infectadas quando cortadas. Estas substâncias voláteis são responsáveis, por atraírem o inseto vetor (ROSSETO et al., 1980). O patógeno é facilmente cultivado em BDA, desenvolvendo, inicialmente, um micélio esbranquiçado, que se torna escuro com o passar do tempo (Figura 1A) (VIEGAS, 1960). Esporula também com facilidade em cultura, sendo formados, primeiro, dois tipos de conídios, os endósporos e os artrósporos e, após, ocorre a formação dos peritécios e clamidósporos.

Delgado e Soares (2003), testando as diferenças na agressividade entre isolados de *Ceratocystis* coletados em cacauzeiros do Equador e do Brasil, observaram uma maior agressividade nos isolados brasileiros. O que foi confirmado por Silva et al. (2004), comprovando a agressividade do isolado brasileiro (Cc 20) ao testar o clone IMC 67, considerado como resistente na literatura, e que apresentou-se suscetível nas avaliações realizadas na Bahia e no Equador.

Fungos do gênero *Ceratocystis* possuem maior esporulação e crescimento em temperaturas, variando entre 25°C e 28°C e sob saturação de umidade (COSTA; CARVALHO et al., 2011; SANTOS et al., 2011; TUMURA, 2011).

### **2.3.2. Sintomas**

É um patógeno vascular e, nas seções transversais de órgãos lenhosos, observam-se estrias radiais escuras da medula para o exterior do lenho ou, da periferia do lenho para a medula ou, descoloração (mancha escura) do tipo cunha, em geral, da periferia para a medula, quando o lenho de um ramo afetado é cortado transversalmente, pois, o patógeno provoca a desintegração do sistema vascular (Figura 1 C) (TUMURA et al., 2012).

Na parte aérea, os sintomas são caracterizados com a clorose, murcha e seca dos galhos ou de toda a planta, dependendo do local de infecção. As folhas perdem a turgidez, pendendo verticalmente, amarelecendo, enrolando, secando e,

mesmo após a morte da planta as folhas permanecem aderidas aos ramos por duas a quatro semanas (Figura 1 E-F) (SILVA et al., 2004; OLIVEIRA; LUZ, 2005).

Os sintomas da murcha surgem em consequência do bloqueio dos vasos pelo crescimento micelial do fungo, impedindo que a água absorvida pelo sistema radicular supra adequadamente a parte aérea da planta. O escurecimento dos vasos ocorre devido ao transporte de substâncias resultantes da oxidação e polimerização de compostos fenólicos. Em ambientes favoráveis ao desenvolvimento da doença, a planta morre, e o fungo passa a crescer no tecido em decomposição onde são formados os esporos sexuados e assexuados (BEDENDO, 1995; SILVA et al., 2004; LEÃO, 2010; TUMURA et al., 2012).

### **2.3.3. Disseminação**

Plantas que sofreram estresse por deficiência de chuvas ou estiveram sujeitas ao alagamento em consequência de chuvas fortes ou enchentes, ou que estejam sofrendo por deficiência nutricional são mais predispostas ao ataque do patógeno servindo de fontes de inóculo dentro de uma plantação (SPENCE; MOLL, 1958).

A propagação da enfermidade entre as plantas se dá a partir da realização dos tratos culturais, principalmente, desbrota, poda e enxertia, quando esporos são levados de uma planta infectada para outra sadia através da ferramenta (DELGADO; SUÁREZ, 2003; SILVA et al., 2004; OLIVEIRA; LUZ, 2005; SANCHES, 2007).

O fungo desenvolve-se, principalmente, em galerias abertas no tecido das plantas pelas coleobrocas do gênero *Xyleborus* (Figura D) e *Xylosandrus*. Ao perfurar o tecido para abrir galerias, fragmentos de pó de serra são liberados juntamente com propágulos do fungo, que são disseminados pelo vento. A disseminação direta dá-se quando o inseto transporta externamente, aderido ao corpo, e internamente, no trato alimentar, os propágulos do fungo (OLIVEIRA; LUZ, 2005).

Os insetos possuem entre 1,5 e 2,0 mm de comprimento e coloração castanho avermelhado. Acredita-se que sua ocorrência e ataque ao cacaueteiro estão associados à deficiência hídrica, ao empobrecimento nutricional do solo, a elevados teores de acidez e ao manejo inadequado das plantas, o que as debilita e, conseqüentemente, favorece a proliferação e o ataque dos vetores, podendo levar à morte da planta devido à grande quantidade de larvas que perfuram o interior dos

caules. Em consequência da perfuração dos caules, os ferimentos dos tecidos servem como habitat ao desenvolvimento de fungos fitopatogênicos, principalmente *C. cacaofunesta* (SÁNCHEZ 2011).

#### **2.3.4 Controle da Murcha de Ceratocystis**

É uma doença de difícil controle, pois, quando os sintomas aparecem, a planta ou parte dela já está em fase de morte. Por isso, recomenda-se o monitoramento constante da área cultivada, com a finalidade de detectar plantas mortas ou doentes, evitando, assim a disseminação da doença (ALBUQUERQUE et al., 2005; OLIVEIRA; LUZ, 2005). As plantas mortas devem ser arrancadas e removidas ou queimadas para evitar a atração de insetos vetores, aumentando a sua população e o risco de disseminação dentro da área de plantio (RAM et al., 2012).

Segundo Albuquerque et al. (2005), a utilização do controle químico com aplicação de fungicida protetores ou sistêmicos, até o momento, não propiciou resultados satisfatórios. A recomendação de tratamentos preventivos como uso de ferramentas esterilizadas em hipoclorito de sódio a 1% durante o manejo de uma planta doente para uma sadia (OLIVEIRA et al., 2009) e a remoção das partes infectadas pode recuperar plantas que apresentem galhos doentes. É uma prática onerosa, que só justifica ser realizada em plantas de alto valor genético, ou quando se tem poucas plantas infectadas em jardins e pomares, ou em pequenas áreas (ALBUQUERQUE et al., 2005).

Nos anos da década de 1960 (CAPRILES DE REYS et al., 1964; CAPRILES DE REYS; REYS, 1968) foram encontradas evidências de que altos índices de compostos fenólicos estariam presentes em plantas de cacauero resistentes a *C. fimbriata* em relação às suscetíveis. Observaram a variação desses compostos e concluíram que a resposta depende da interação entre a planta e o patógeno.

A utilização de materiais genéticos resistentes é o método mais eficiente e econômico para o controle da enfermidade (DELGADO; SUÁREZ, 2003; SILVA et al., 2004; 2007a; RAM et al., 2004; ALBUQUERQUE et al., 2005 ; OLIVEIRA; LUZ, 2005; SANCHEZ, 2007) e tem sido muito utilizada na Bahia (SILVA et al., 2007).

O primeiro clone considerado como resistente à murcha de ceratocystis em Trinidad foi o clone

IMC 67, que foi muito usado em diversos cruzamentos naquele país, visando à transmissão desse caráter aos seus descendentes. Muitas das seleções da série ICS mostraram-se altamente suscetíveis à doença (DELGADO; ECHANDI, 1965). Gardella et al. (1982), sugeriram que tanto o IMC 67 como o SPA 9, provavelmente, possuem genes dominantes para resistência a esta doença. Progênie de IMC 67 também foram consideradas como os materiais mais resistentes em um estudo na Venezuela (REYS, 1981). Já, na Colômbia, houve indicação de que os clones ICS 6, TSA 654 e ICS 95 seriam resistentes (BARROS, 1981). Entretanto, na Bahia, os estudos realizados por Silva e colaboradores (SILVA et al., 2004), não comprovaram a resistência destes materiais em face da agressividade dos isolados regionais de *C. cacaofunesta*.

Novos genótipos estão sendo produzidos através do Programa de Melhoramento Genético do Cacaueiro, na Bahia, com vistas a ampliar o número de genes obtidos de diferentes fontes para resistência à vassoura de bruxa. Mas há, pois, a constante necessidade de testá-los também com *C. cacaofunesta*.

Silva et al. (2007a), avaliando a reação de 17 genótipos de cacaueiro à murcha de ceratocystis, utilizando três isolados de *C. cacaofunesta* classificaram o genótipo VB 1159 como altamente resistente ao patógeno. Os genótipos MUC 43, FL 78, VB 681, FC 101, VB 184, LP 06, ICS 1, VB 902, FA 13, NO 34, PS 5784 e Theobahia apresentaram resistência intermediária, enquanto que CA 1.4, VB 206, LCT 37 A e SJ 02 foram mais suscetíveis.

Silva et al., (2012), classificaram, também, 20 novos clones em três grupos: resistente (FCB-01, CSG-70, BOBA-01, VB-902, TSH-1188, VB-1151, PS-1319 e MAC-01), moderadamente suscetível (HW-25, PM-02, FA-13, PH-15, MO-5 e BJ-11) e suscetível (CCN-51, FB-206, PH-16, SJ-02, CCN-10 e FSU-77).

#### **2.4. Metodologias de inoculação com *C. cacaofunesta* no cacaueiro**

Devido à importância da resistência genética no controle da murcha de ceratocystis a padronização de uma metodologia de inoculação e avaliação da reação de genótipos ao patógeno deve ser alvo de estudos. Até o momento, diversas metodologias foram utilizadas para testar a resistência do cacaueiro a *C. cacaofunesta*.

Delgado e Echandi (1965) utilizaram a inoculação em pedaços de ramos destacados e posterior avaliação através de uma escala de notas baseada no número de peritécios formados. Esta metodologia também foi testada por Delgado e Suárez (2003) e Silva et al. (2004), tendo os últimos autores avaliado a resistência de clones e a agressividade de isolados, confirmando a maior agressividade do isolado da Bahia, o que, conseqüentemente, dificultou o uso da escala de notas proposta no método.

A inoculação em mudas para avaliação de resistência a *C. cacaofunesta* é a metodologia mais utilizada pela praticidade, pela possibilidade de obtenção de um número maior de repetições, além de permitir avaliar a área da lesão e, também, a quantidade de mudas mortas (SILVA et al., 2007 a; b; 2010; 2012; OLIVERA et al., 2009). Porém, possui as desvantagens de ser uma metodologia trabalhosa, obter os resultados somente após 60 dias de inoculação, além de eliminar as mudas, para seccionar a área lesionada, no final dos experimentos.

Em campo, é utilizada normalmente a metodologia de inoculação em ramo nas plantas, inoculando discos de micélio do patógeno (CHONG, 1961) ou gotas do inóculo (SILVA et al., 2013). Segundo Monteiro e Ahnert (2012) em condições de campo seria a forma mais precisa para avaliar genótipos de cacauzeiros quanto à resistência a patógenos, porém, segundo os autores, esse seria um processo demorado, e as respostas restringir-se-iam às condições ambientais testadas. O método de inoculações em ramo abreviaria a demora de obtenção de dados por infecção natural, mas acarretaria o risco de levar infecção para as áreas de plantio, apesar das precauções tomadas.

A avaliação de resistência a *C. cacaofunesta* utilizando discos de folhas, desenvolvida por MAGALHÃES et al. (2013), mostrou-se eficiente, e pode ser uma alternativa viável para a avaliação precoce por apresentar resultados em quatro a cinco dias após a inoculação, possibilitar testar a resistência de um maior número de clones por vez de forma prática, e não ser destrutiva. Validar essa metodologia será, pois, um dos objetivos desta pesquisa.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados em áreas experimentais da Seção de Genética e no laboratório de *Ceratocystis* da Seção de Fitopatologia do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), situada na sede da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), em Ilhéus, BA.

#### 3.1. Material Genético

Foram selecionados pelo Programa de Melhoramento Genético do Cacaueiro da CEPLAC, alguns clones de interesse por apresentarem características agrônômicas desejáveis, produtividade e resistência à vassoura de bruxa combinando genes de diferentes fontes (LOPES et al., 2011).

Trinta e sete clones gerados no CEPEC (CP-40, CP-41, CP-47, CP-55, CP-56, CP-102, CP-109, CP-117, CP-129, CP-160, CP-176, CP-181, CP-188, CP-196, CP-197, CP-199, CP-201, CP-204, CP-207, CP-215, CP-223, CP-230, CP-237, CP-234, CP-242, CP-264, CP-301, CP-309, CP-336, CP-347, CP-366 CP-477, CP-480, CP-486 e HB-07, HB-08, HB-15) e o clone PS-1319 (Seleção da fazenda Porto Seguro), juntamente com os clones CCN-51 – padrão de suscetibilidade (OLIVEIRA et al., 2009) e o cacau Jaca – padrão de resistência (SILVA et al., 2004; 2007a). Além desses, foi testado também o clone CEPEC-2002 indicado para plantio na região. Estes clones encontram-se todos em jardins clonais do CEPEC, tendo as plantas, em média 10 anos de idade.

#### 3.2. Preparo do inóculo

Para as inoculações foi usado o isolado Cc 20 de *C. cacaofunesta*, da Micoteca da Seção de Fitopatologia do CEPEC, que foi repicado para placas de Petri com Batata Dextrose Ágar (BDA) e mantido em BOD na temperatura de 25°C, por 10 dias. Após este prazo, acrescentou-se cerca de 10 mL de água destilada estéril a cada placa. A suspensão obtida foi filtrada com gaze estéril, agitada em vortex a 2000 rpm durante dois minutos e, logo após, avaliada a concentração em câmara de Neubauer e ajustada para  $3 \times 10^4$  UFC/mL, contendo três gotas/mL de Tween 20 (OLIVEIRA et al., 2009).

### 3.3. Inoculação de *C. cacaofunesta* em campo

Em campo, foram escolhidas, aleatoriamente, quatro plantas de cada clone e em cada uma delas selecionados cinco ramos. Em cada ramo foi feita uma incisão com bisturi, no sentido horizontal acima do primeiro entrenó para expor o lenho (Figura 2 A) e com uma micropipeta, depositou-se uma gota com 30  $\mu$ L do inóculo (Figura 2 B) (OLIVEIRA et al., 2009). Quatro ramos de cada planta receberam o inóculo e um quinto ramo, água esterilizada (testemunha) (Figura 2 C). Abaixo da incisão, foi colocada uma mecha de algodão umedecido com água destilada esterilizada e envolvida com fita vedante para formar uma câmara úmida e proporcionar condições para o fungo penetrar e colonizar os tecidos do hospedeiro (Figura 2 D).

Sessenta dias após a inoculação, os ramos inoculados e as testemunhas foram cortados a 20 cm abaixo do ponto de inoculação, identificados e levados ao laboratório (Figura 2 E), onde a casca foi removida e mensuradas as variáveis, comprimento e largura para obter a área das lesões (Figura 2 F). Estas três variáveis foram utilizadas para avaliar a resistência.

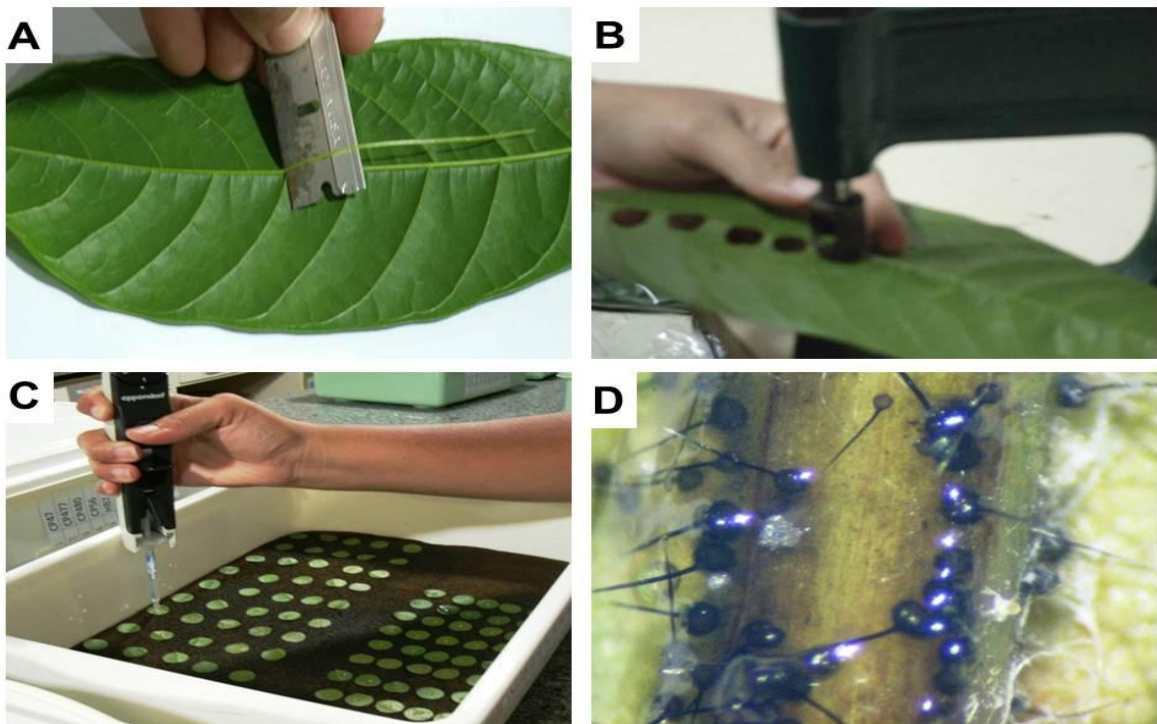


**Figura 2.** Inoculação de *C. cacaofunesta* em plantas de cacaueiros. (A) Incisão no galho; (B) Inoculação com micropipeta; (C) Câmara úmida no local inoculado; (D) Planta de cacaueiro inoculada; (E) Ramos coletados 60 dias após a inoculação com o isolado Cc 20; (F) Medição da área da lesão por *C. cacaofunesta* em ramos.

O experimento foi repetido duas vezes em épocas diferentes, nos meses de janeiro e maio de 2014.

### 3.4. Inoculação de *C. cacaofunesta* em discos de folhas

Folhas dos 41 clones testados foram coletadas em campo em idade intermediária (quando os ramos estão mudando da cor verdes para a marrom) e levadas para o laboratório onde foram limpas com algodão umedecido em água, feito uma incisão superficial ao longo da nervura (Figura 3 A), e cortados discos de 1,5 cm de diâmetro com cortador semiautomático (Figura 3 B), abrangendo a nervura central. Selecionaram-se 30 discos de folhas de cada clone. Cinco discos de folhas de cada clone, com a parte abaxial da folha voltada para cima, foram dispostos em caixas plásticas (blocos), contendo espumas umedecidas com água, criando um ambiente favorável ao crescimento do fungo. Em seguida, esses discos foram inoculados com uma gota com 20  $\mu$ L da suspensão do inóculo de *C. cacaofunesta* (MAGALHÃES et al., 2013) (Figura 3 C). Foram utilizadas seis repetições, ou seja, seis caixas para cada clone, totalizando-se 30 discos por clone.



**Figura 3.** Inoculação em discos de folhas de cacauzeiros, (A) Incisão nas folhas de cacauzeiros; (B) Corte de discos de folhas com cortador semiautomático; (C) Inoculação de discos de folhas; (D) Peritécios de *C. cacaofunesta*.



Cinco dias após a inoculação, as avaliações foram realizadas sob um estereomicroscópio, a partir da contagem dos peritécios completamente desenvolvidos (Figura 3 D).

### **3.5. Avaliações e análise dos dados**

Com o programa SAS (Statistical Analysis System Institute, 1989), foi feita a análise de variância, a estimativa do coeficiente de correlação de Pearson e dos componentes de variância. A herdabilidade clonal ( $h^2_c$ ) foi estimada como:  $h^2_c = \sigma^2_c / [\sigma^2_c + (\sigma^2_b/4) + (\sigma^2_r/16)]$ , onde  $\sigma^2_c$ ,  $\sigma^2_b$  e  $\sigma^2_r$  são estimativas dos componentes de variância associados a clones, planta dentro de clone e resíduo. As médias de área, comprimento e largura de lesão obtidas nos clones foram contrastadas com as dos padrões de resistência e suscetibilidade pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ). Os dados dos dois experimentos em campo foram analisados conjuntamente. O mesmo ocorreu com os dos experimentos em discos de folhas. Foi avaliada também a correlação entre as duas metodologias.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Avaliação em campo

Nos ensaios realizados no campo, não houve formação de lesão nos ramos que foram utilizados como testemunhas (não inoculados) para todos os clones.

Os clones diferiram significativamente a 0,01 de probabilidade (ANOVA, teste F, Tabela 1) em relação às variáveis comprimento, largura e área das lesões geradas pela infecção de *C. cacaofunesta*, evidenciando a variabilidade entre eles com relação à inoculação pelo patógeno. Os coeficientes de variação calculados para cada variável foram 37,43% (largura da lesão), 58,27% (comprimento da lesão) e 70,64% (área da lesão), sendo, portanto, a largura da lesão a variável mais precisa, entre as três avaliadas, por apresentar o mais baixo coeficiente de variação.

**Tabela 1.** Análise de variância do comprimento, da largura e da área das lesões causadas por *Ceratocystis cacaofunesta* nos 41 clones de cacauero inoculados em condições de campo.

Variáveis	FV	GL	SQ	QM	F	Probab.
<b>Comprimento</b>	Clone	40	24425,07	610,63	8,74	<.0001
	Planta(Clone)	123	8598,31	69,90	1,77	
	Resíduo	1148	45225,70	39,40		
	CV (%)		58,27			
<b>Largura</b>	Clone	40	11,95	0,30	3,31	<.0001
	Planta(Clone)	123	11,12	0,09	1,1	
	Erro	1148	94,02	0,08		
	CV		37,43			
<b>Área</b>	Clone	40	19461,61	486,54	12,85	<.0001
	Planta(Clone)	123	7124,49	57,92	1,53	0,0004
	Erro	1148	43467,29	37,86		
	CV		70,64			

Para o comprimento médio da lesão houve ampla variação entre os clones com médias entre 4,38 cm (CP-41) e 25,86 cm (CP-207) (Tabela 2). Para a largura, tendo em vista que se limitou o diâmetro dos galhos a 1,5 cm, a variação ficou entre 0,60 cm (CP-41) e 1,05 cm (CP-129), indicando que houve lesões que expandiram-se quase a ponto de circundar o ramo, com destaque para os clones CP-41 e CP-486 com as menores larguras de lesão e CP-129, com a lesão mais larga. As áreas médias de lesão, obtidas para os 41 clones inoculados, variaram entre 2,68 cm<sup>2</sup>

(CP-41) e 20,72 cm<sup>2</sup> (CP-207), com média geral de 8,41 cm<sup>2</sup>, com 24 clones com média inferior à média geral do experimento.

As médias de comprimento, largura e área de lesão obtidas nos 32 ramos (4 plantas x 4 ramos x 2 épocas ou ensaios) avaliados por cada um dos 39 clones em teste, foram comparadas às dos genótipos utilizados como padrão de resistência (cacau Jaca) e suscetibilidade (CCN-51) (Teste de Dunnett < 0,05), e permitiram a formação de quatro grupos para comprimento de lesão e três para largura e área da lesão.

As classes foram constituídas de: **a)** clones que não diferiram estatisticamente do cacau Jaca, mas diferiram das médias para todas as variáveis do clone CCN-51; **b)** Clones que não diferiram estatisticamente das médias dos dois padrões de resistência e suscetibilidade; **c)** Clones que diferiram estatisticamente do cacau Jaca, por apresentarem lesões maiores que as do padrão de resistência, mas não diferiram do padrão de suscetibilidade; e **d)** Clones que apresentaram lesões maiores que a do padrão de suscetibilidade. Esta última classe só ocorreu para a variável comprimento de lesão em relação ao clone CP-207.

Desse modo, foram classificados com base na área média de lesão 28 dos clones testados como resistentes, três, como moderadamente resistentes e oito, como suscetíveis (Tabela 2).

Variações ocorreram nas reações dos clones com relação às variáveis analisadas. Por exemplo, CP-181 ficou no grupo **b** para comprimento e largura média das lesões e **a** para área da lesão; CP-129, grupo **a** para comprimento e área média de lesão e **c** para largura média de lesão; CP-117, considerado como moderadamente resistente, teve média de comprimento de lesão classe **c** e **b** para as demais variáveis.

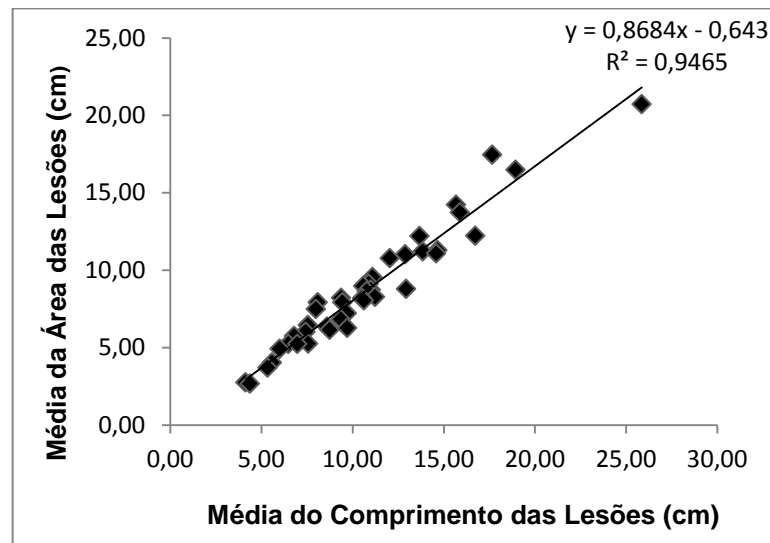
Os clones considerados como moderadamente resistente, CP-117, CP-237 e CP-215, variaram de grupo em relação à média de comprimento de lesão, mas mantiveram-se na classe **b** para as demais variáveis. No entanto, as variações de maior destaque ficaram para os clones considerados resistentes, que, com as exceções já destacadas anteriormente, foram considerados classe **b** para a largura das lesões e **a** para as demais variáveis. Somente os clones CP-41 e CP-486 foram grupo **a** para todas as variáveis, por haverem apresentado lesões com largura menores que aquelas do cacau Jaca. Houve maior variação no comportamento dos clones em relação à largura de lesões (Tabela 2).

**Tabela 2:** Comparação entre médias das lesões em campo dos 39 clones de cacauero inoculados com *Ceratocystis cacaofunesta* em relação aos clones testemunhas, padrão de resistência (cacau Jaca) e suscetibilidade (CCN-51), pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de significância.

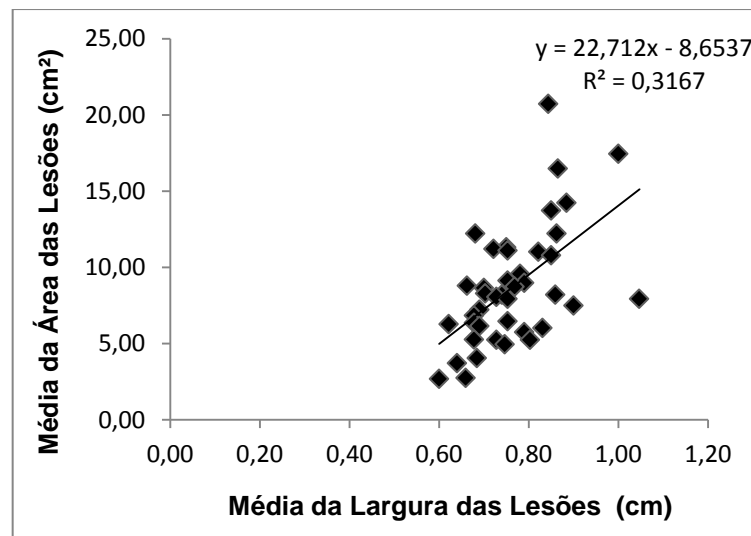
Clone	Comprimento (cm <sup>2</sup> )	Largura (cm <sup>2</sup> )	Área (cm <sup>2</sup> )	Classe
CP-207	25,86 b	0,84 c	20,72 c*	S
CP-242	17,68 d	1,00 d	17,44 c	S
CCN-51	18,95 d	0,87 c	16,48 c	S
CP-47	15,68 d	0,88 c	14,22 c	S
CP-223	15,90 d	0,85 c	13,73 c	S
CP-477	16,74 d	0,68 c	12,21 c	S
CP-196	13,68 d	0,86 c	12,2 c	S
CP-366	14,66 d	0,75 c	11,3 c	S
CP-199	13,87 d	0,72 c	11,21 c	S
CP-117	14,60 d	0,75 c	11,09 b	MR
CP-237	12,89 c	0,82 c	11,02 b	MR
CP-215	12,05 a	0,85 c	10,78 b	MR
CP-102	11,11 a	0,78 c	9,56 a	R
CP-160	10,89 a	0,75 c	9,11 a	R
CP-301	10,59 a	0,79 c	8,98 a	R
CP-181	12,94 c	0,66 c	8,79 a	R
CP-197	11,01 a	0,77 c	8,73 a	R
CP-188	10,78 a	0,70 c	8,65 a	R
CP-309	11,24 a	0,70 c	8,28 a	R
CP-201	9,38 a	0,86 c	8,2 a	R
CP-234	10,55 a	0,74 c	8,19 a	R
CEPEC-2002	10,63 a	0,73 c	8,05 a	R
CP-204	9,45 a	0,75 c	7,93 a	R
CP-129	8,10 a	1,05 d	7,93 a	R
CP-109	7,99 a	0,90 c	7,49 a	R
CP-176	9,69 a	0,69 c	7,21 a	R
PS-1319	9,36 a	0,68 c	6,83 a	R
CP-56	7,55 a	0,75 c	6,45 a	R
CP-480	8,60 a	0,68 c	6,34 a	R
CP-486	9,72 a	0,62 a	6,26 a	R
CP-347	8,75 a	0,69 c	6,15 a	R
CP-264	7,43 a	0,83 c	6,02 a	R
HB-15	6,80 a	0,79 c	5,75 a	R
CP-336	7,58 a	0,68 c	5,26 a	R
CP-230	6,48 a	0,80 c	5,24 a	R
JACA	6,97 a	0,73 c	5,23 a	R
CP-55	6,00 a	0,75 c	4,93 a	R
HB-08	5,59 a	0,68 c	4,03 a	R
CP-40	5,35 a	0,64 c	3,71 a	R
HB-07	4,14 a	0,66 c	2,74 a	R
CP-41	4,38 a	0,60 a	2,68 a	R

\* Médias seguidas pela mesma letra são agrupadas na mesma classe quanto ao padrão de resistência pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ). **R** (Resistente), **MR** (Moderadamente Resistente), **S** (Suscetível).

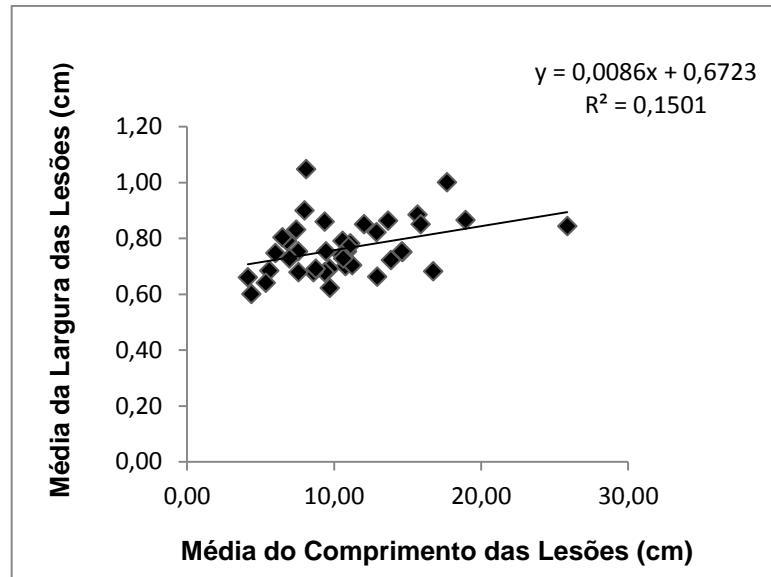
Houve uma forte correlação positiva entre as variáveis estimada pelo coeficiente de correlação de Pearson. Os maiores valores foram encontrados entre as variáveis comprimento e área da lesão ( $r=0,973$ ) (Figura 4) em relação ao observado entre largura e área da lesão ( $r=0,563$ ) (Figura 5), embora ambas as correlações tenham sido altamente significativas ( $p<0,01$ ). O coeficiente de correlação de Pearson entre comprimento e largura foi significativo a 5% ( $r=0,387$ ) (Figura 6).



**Figura 4.** Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as médias das variáveis área x comprimento da lesão causada por *Ceratocystis cacaofunesta* em ramos de 41 clones de cacauero inoculados em campo.



**Figura 5.** Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as médias das variáveis, área x largura, da lesão causada por *Ceratocystis cacaofunesta* em ramos de 41 clones de cacauero inoculados em campo.



**Figura 6.** Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as médias das variáveis largura x comprimento da lesão ocasionada por *Ceratocystis cacaofunesta* em ramos de 41 clones de cacaueteiro inoculados em campo.

As variáveis comprimento e área da lesão apresentaram as maiores estimativas de herdabilidade clonal ( $h^2_{clo}$ ), com valores de 0,83 e 0,89, respectivamente (Tabela 3), o que resulta numa maior probabilidade de ganhos genéticos e maior confiabilidade destas variáveis para avaliação da resistência do material clonal testado pelo método de inoculação utilizado para comparar as reações dos clones ao *C. cacaofunesta*.

**Tabela 3.** Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as médias de 41 clones de cacaueteiro e herdabilidade clonal para as variáveis comprimento, largura e área da lesão causada por *C. cacaofunesta* quando inoculada em ramos de plantas adultas.

Variável	Largura	Área	$h^2_{clo}$
Comprimento	0,387*	0,973**	0,83
Largura		0,563**	0,55
Área			0,89

\*significativo 5%, \*\* significativo 1%

## 4.2. Avaliação em discos de folhas

Os discos testemunhas, que não foram inoculados, não apresentaram qualquer tipo de lesão, apenas a marca do ferimento realizado nas nervuras.

Houve ampla variação entre os clones em relação à formação de peritécios nos discos de folhas, com médias entre 0,1 (CP-55) e 49,4 (CP-477) (Tabela 4). A média geral do experimento foi 12,47 peritécios/discos, com apenas 13 clones com médias superiores a este valor.

As médias do número de peritécio nos discos dos 39 clones avaliados foram comparadas às dos genótipos utilizados como padrão de resistência (cacau Jaca) e suscetibilidade (CCN-51) (Teste de Dunnett  $p < 0,05$ ), permitindo a formação de três grupos, assim constituídos: **a)** clones que não diferiram estatisticamente do cacau Jaca, mas diferiram do clone CCN-51; **b)** Clones que não diferiram estatisticamente das médias dos dois padrões de resistência e suscetibilidade; **c)** Clones que diferiram estatisticamente do cacau Jaca, por apresentarem menores números médios de peritécios formados que os do padrão de resistência, mas não diferiram do padrão de suscetibilidade.

Desse modo, foram classificados com base no número de peritécios: seis clones (CP-477, 486, 480, 366, 215, 223) como tão suscetíveis quanto o padrão de suscetibilidade, com médias entre 21,33 e 49,4 peritécios/disco; seis clones como moderadamente suscetíveis (CP- 47, 196, 197, 201, 207, 230, 234), com médias entre 12,33 e 17,47 peritécios/disco, enquanto que 26 dos clones testados reagiram de forma similar ao clone resistente Jaca (CP-160, 199, 102, 117, 242, 264, 309, 204, 301, 129, 176, 109, 237, 181, 336, 347, 41, 56, 188, 40, 55; HB- 07, 08, 15; PS-1319; CEPEC-2002) (Tabela 4), com médias entre 0,10 e 11,73 peritécios/disco de folha.

Chamamos atenção para os valores muito baixos de peritécios por disco nos clones CP-188, CP-40 e CP-55. Houve discos destes clones que não apresentaram formação destas estruturas reprodutivas do patógeno.

A herdabilidade clonal foi alta, 0,930 (Tabela 5), o que representa alta probabilidade de ganho genético como a utilização destes materiais no melhoramento genético do cacau e alta confiabilidade no método de inoculação.

**Tabela 4:** Número médio de peritécios formados em discos de folhas dos 39 clones de cacauero inoculados com *Ceratocystis cacaofunesta* nos clones testemunhas padrão de resistência (cacau Jaca) e suscetibilidade (CCN-51), pelo teste de Dunnett ao nível de 5% de significância.

Clone	Números de peritécios	Classe
CP-477	49,40 c*	S
CP-486	45,20 c	S
CCN-51	34,10 c	S
CP-480	33,90 c	S
CP-366	26,87 c	S
CP-215	25,13 c	S
CP-223	21,33 c	S
CP230	17,47 b	MS
CP-201	17,43 b	MS
CP-196	15,40 b	MS
CP-47	14,20 b	MS
CP-197	14,03 b	MS
CP-207	12,97 b	MS
CP-234	12,33 b	MS
CP-160	11,73 a	R
CP-199	11,63 a	R
CP-102	11,27 a	R
HB-08	11,27 a	R
CP-117	10,33 a	R
CP-242	9,90 a	R
PS-1319	9,87 a	R
CP-264	8,73 a	R
CP-309	8,67 a	R
CP-204	7,60 a	R
CP-301	6,83 a	R
CEPEC-2002	6,33 a	R
HB-15	5,80 a	R
CP-129	5,70 a	R
CP-176	5,63 a	R
JACA	5,63 a	R
CP-109	4,70 a	R
HB-07	4,57 a	R
CP-237	4,37 a	R
CP-181	4,33 a	R
CP-336	4,33 a	R
CP-347	4,10 a	R
CP-41	4,07 a	R
CP-56	2,47 a	R
CP-188	0,83 a	R
CP-40	0,80 a	R
CP-55	0,10 a	R

\* Médias seguidas pela mesma letra são agrupadas na mesma classe quanto ao padrão de resistência pelo teste de Dunnett ( $p < 0,05$ ). **R** (Resistente), **MS** (Moderadamente Suscetível), **S** (Suscetível).

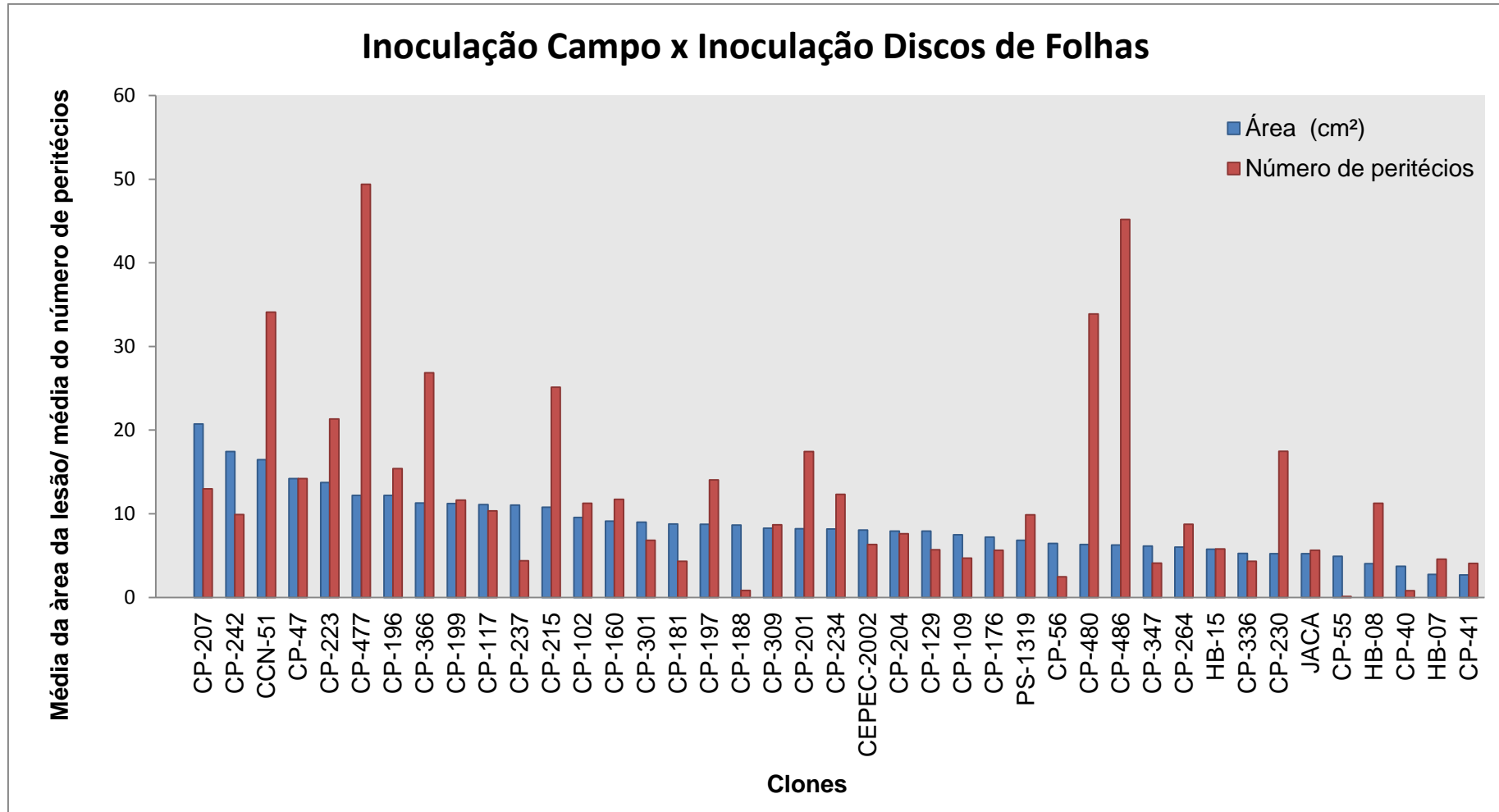


### 4.3. Avaliação em campo x Avaliação discos de folhas

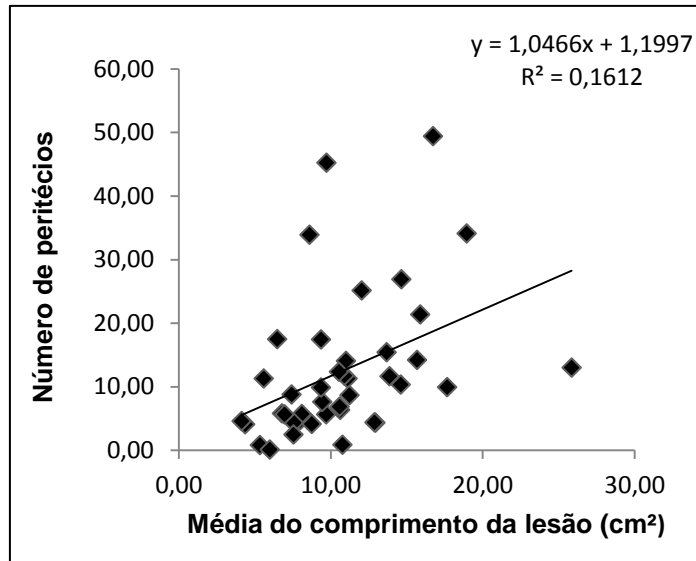
Nas duas metodologias de inoculação testadas, 22 clones (CEPEC-2002, CP-102, 109, 129, 160, 176, 181, 188, 204, 264, 301, 309, 336, 347, 40, 41, 55, 56, HB-07, HB-08, HB-15, PS-1319) reagiram de forma similar ao clone resistente Jaca, e têm condições de serem usados na região tanto diretamente para plantio, quanto em outras etapas do Programa de Melhoramento Genético do Cacaueiro (PMGC). Três clones (CP-223, 366 e 477) foram similares à testemunha de suscetibilidade CCN-51 tanto em campo quanto em discos de folhas (Figura 7). Dos 39 clones avaliados, 14 (CP-199, 480, 486, 242, 117, 237, 197, 201, 230, 234, 196, 207, 47, 215) comportaram-se de forma diferente nas duas inoculações, alterando sua classificação. Por exemplo, os clones CP-480 e CP-486, nas inoculações em campo, foram classificados como resistentes, e, ao serem submetidos à inoculação em discos de folhas, classificaram-se como suscetíveis.

Houve correlação positiva, porém baixa, estimada pelo método de Pearson, entre as duas metodologias testadas. Quando estimadas as correlações entre o número de peritécios formados nas inoculações em discos de folhas e cada uma das variáveis avaliadas em campo, observou-se uma correlação positiva e altamente significativa a 1% ( $r=0,402$ ), com as médias do comprimento das lesões (Figura 8); significativa a ( $p<0,05$ ), área das lesões ( $r=0,340$ ) (Figura 9), e negativo, e não significativo ( $r= - 0,015$ ) para largura das lesões (Figura 10).

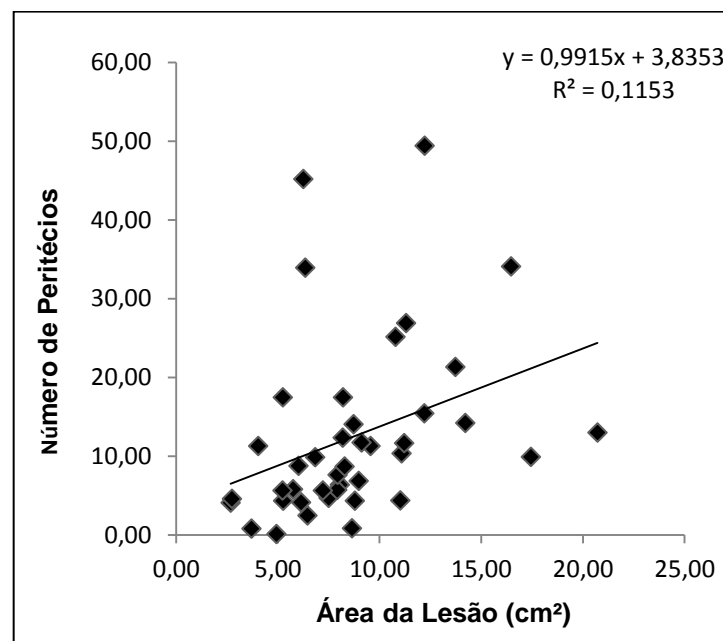
Os ganhos genéticos estimados pela seleção direta nas variáveis foram médios a elevados, isto é, 100,0% da média para área da lesão, 94,0% para o comprimento e 44,1% para largura das lesões e 34,7% para o número de peritécios (Tabela 5). Isto revela um grande potencial para as duas primeiras variáveis, maximizando os ganhos ao utilizar essas variáveis na seleção de materiais resistentes.



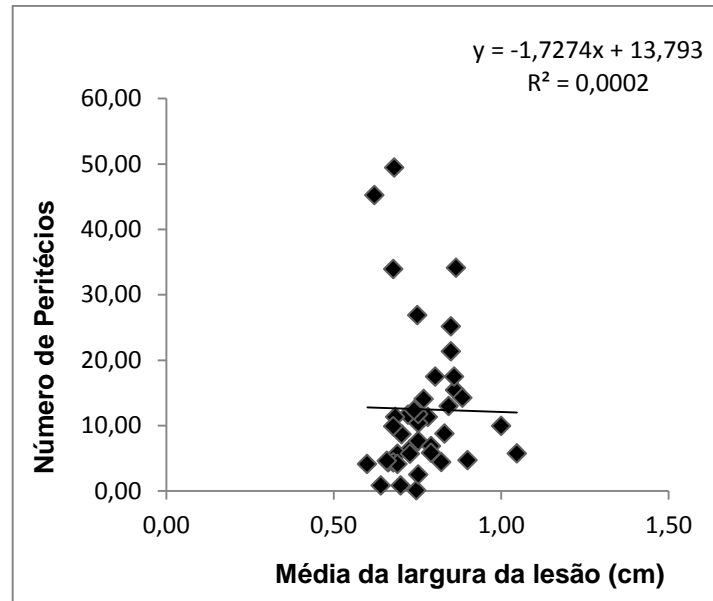
**Figura 7:** Diferenças entre as médias das áreas das lesões e o número de peritécios dos 41 clones nas duas metodologias testadas.



**Figura 8:** Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as médias do comprimento das lesões em ramos no campo e o número médio de peritécios formados em discos de folhas de 41 clones inoculados com *Ceratocystis cacaofunesta*.



**Figura 9:** Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as médias da área das lesões em ramos no campo e o número médio de peritécios formados em discos de folhas de 41 clones inoculados com *Ceratocystis cacaofunesta*.



**Figura 10.** Estimativa dos coeficientes de correlação de Pearson entre as médias da largura das lesões em ramos no campo e o número médio de peritécios formados em discos de folhas de 41 clones inoculados com *Ceratocystis cacaofunesta*.

**Tabela 5:** Herdabilidade clonal, correlação de Pearson e ganho genético pela seleção na área, comprimento, largura da lesão e número de peritécios.

Variável	$h^2_{clo}$	Cor. Pearson	Ganho Genético Direto/Indireto
Área	0,89	1,00	100,11
Comprimento	0,83	0,97	94,05
Largura	0,55	0,56	44,14
Número Peritécios	0,93	0,34	34,71

## 5. DISCUSSÃO

A metodologia de inoculação em campo utilizada neste trabalho, já havia sido testada na Bahia anteriormente por Silva et al. (2013) para avaliar reações de 65 clones de cacaveiros ao mesmo isolado Cc 20 de *C. cacaofunesta* tal como aqui se utilizou. Os autores avaliaram o comprimento, a largura e a área das lesões, e encontraram coeficientes de correlação significativos entre as variáveis. Os resultados agora encontrados corroboram, portanto, os daqueles autores, ressaltando ser a inoculação em ramos, no campo, desde que realizada com as precauções para não deixar ramos infectados, eficiente para distinguir as reações de resistência e suscetibilidade nos clones avaliados. Igualmente, as variáveis comprimento, largura e área das lesões causadas pelo patógeno nos ramos inoculados mostraram-se eficientes e, pelos resultados obtidos (Tabelas 2 e 3), podem ser utilizadas, isoladamente ou, em conjunto para avaliar a reação de cultivares ou clones em campo.

Até mesmo a largura das lesões, que é limitada em função do diâmetro dos ramos escolhidos para inoculação (1,5 cm), gerou uma herdabilidade clonal de 0,55 e coeficiente de correlação de Pearson de 0,387, significativo ( $p < 0,05$ ) com comprimento da lesão e 0,563, altamente significativo ( $p < 0,01$ ) com área da lesão (Tabela 3). Assim, ficou validado o uso desta variável como parâmetro para avaliação de resistência no cacaveiro à *C. cacaofunesta*, embora, entre as três variáveis utilizadas para comparar a reação dos clones em campo tenha sido a que apresentou a menor confiabilidade, embora tenha apresentado o menor coeficiente de variação 37,43% no experimento em campo (Tabela 1). A correlação largura/comprimento também indica algo meio lógico: que o fungo se expande do ponto de infecção nas várias direções (longitudinal e transversal). Entretanto, como a largura da lesão é limitada/restrita pelo diâmetro do caule, enquanto o comprimento não é limitado, a correlação não é tão alta.

Sanches (2007), avaliando metodologias para seleção de genótipos de cacaveiro resistentes à murcha de ceratocystis em mudas de 6 a 10 meses de idade, em casa de vegetação, utilizou o parâmetro que denominou como 'Altura Relativa de Lesão' (ARL), razão entre a altura da lesão e a altura da planta, o que resultou em uma alternativa eficaz para avaliar a resistência de genótipos de cacaveiros. Para a inoculação em ramos de plantas adultas, no entanto não faz

sentido ser usado este parâmetro. O comprimento médio da descoloração do xilema foi usado também na avaliação do crescimento de *C. fimbriata* em plantas de cacaueteiro e outras espécies vegetais para comparar a variabilidade genética e a especialização de isolados do patógeno tendo sido eficiente (BAKER et al., 2003).

O método de inoculação em discos de folhas foi uma adaptação da metodologia desenvolvida por Nyasse et al. (1995) para a avaliação de resistência a *Phytophthora* spp. no cacaueteiro e que tem sido utilizada na Bahia com frequência para esta finalidade (LUZ et al. 2004; SANTOS et al, 2009; BAHIA et al. 2015; BARRETO et al., 2015). Magalhães et al. (2013), testaram-na pela primeira vez, fazendo uma pequena incisão transversal na nervura das folhas e observaram a formação de peritécios, em menor quantidade nos materiais resistentes (TSH-1188, VB-1151 e Cacau Jaca) que nos suscetíveis (CCN-51 e SJ-02). Daí procurou-se aperfeiçoar a metodologia (MAGALHÃES, D.M.A. dados não publicados) para validá-la neste trabalho, utilizando um número maior de clones de reação desconhecida a *C. cacaofunesta*. Diante dos dados obtidos (Tabela 4), foi possível discriminar a ampla variabilidade existente entre os 39 clones testados e contrastados com os padrões de resistência e suscetibilidade; e da alta herdabilidade clonal obtida (0,93), o que atribui confiabilidade ao método e ao parâmetro de avaliação (número médio de peritécios formados pelo patógeno); conclui-se que o método pode ser usado para selecionar material genético para resistência à *C. cacaofunesta* no cacaueteiro.

Quando foi estimada a correlação pelo coeficiente de Pearson entre os dois métodos (Tabela 5 e Figuras 8 -10) através das variáveis utilizadas para avaliar o comportamento dos clones, observou-se que, embora baixa, houve correlação positiva com comprimento e área de lesão, nas variáveis que resultaram em maior ganho genético predito em relação ao método de avaliação de resistência em campo. Isto é um indicativo de que o método de discos de folhas pode ser usado para avaliação precoce do material, oferecendo um ganho genético para o programa de melhoramento do cacaueteiro (PMGC). Este método apresenta as vantagens de ser prático, operacional, realizado em condições de laboratório, portanto, não sujeito às intempéries como as inoculações em campo; de requerer menor quantidade de mão de obra e diminuir o tempo para avaliação. Além disso, não oferece qualquer risco de contaminação pelo manuseio do inóculo em campo e não é destrutivo, como no caso do método de inoculação em mudas. Como o método é menos

trabalhoso que inoculações de campo ou em plântulas, um maior número de clones pode ser testado, resultando em princípio um maior ganho genético (mantendo-se os outros fatores constantes, o ganho é proporcional ao número de clones testados). Recomenda-se fazer o screening do material com o método de disco de folhas e, confirmar os resultados deste em condições de campo, com os materiais que se comportaram como resistentes, para garantir a sua indicação. Outro potencial uso deste método é na seleção de plantas individuais em populações de melhoramento. Nestas circunstâncias, geralmente, o melhorista avalia um grande número de plantas e só tem uma planta com aquele genótipo (nenhuma repetição). Assim, aquelas plantas são expostas a diferentes microambientes na área experimental, o que dificultaria a comparação por inoculações no campo. Além disto, algumas daquelas plantas podem ser de grande interesse para o melhorista (devido a outras características) e não deveriam ser expostas ao risco de serem mortas por inoculações no campo, por exemplo,

Assim, se terá garantia de que o material foi testado também em campo, seguindo a sugestão de Monteiro e Ahnert (2012) de que esta é a melhor forma para a avaliação de genótipos de cacauzeiros quanto à resistência a doenças, porém, diminuindo a demora da avaliação à infecção natural.

O método de inoculação em discos de folhas é, entre todos os já testados (LUZ et al. 2000; SANCHES, 2007; SILVA et al. 2004; 2007a; 2007b; 2010; 2012; 2013; OLIVEIRA et al. 2009) para avaliação de resistência em cacauzeiro à *C. cacaofunesta*, aquele que seria menos plausível de dar certo pelo fato de se estar testando o patógeno em um órgão onde só aparecem os sintomas reflexo. Acontece que em estudos feitos por Magalhães et al. (2012), o patógeno foi isolado de folhas amareladas, antes que as árvores secassem e morressem. Isto foi o que motivou a hipótese de que uma vez este órgão sendo colonizado pelo patógeno, poderia ser utilizado também para avaliação de resistência. No presente trabalho, se comprovou e validou esta hipótese. Para tornar mais fácil a avaliação, pode-se agilizar a contagem de peritécios criando uma escala visual de avaliação.

Comprovou-se pelos dois métodos de inoculação testados a suscetibilidade do clone CCN-51, conforme assinalada por Oliveira et al. (2009), bem como a resistência ao patógeno existente na variedade 'Jaca' (SILVA et al., 2004; 2007a).

Foi possível distinguir entre os 39 clones testados pelas duas metodologias de inoculação clones tão suscetíveis quanto o CCN-51 (padrão de suscetibilidade):

CP-223, CP-477 e CP-366. Foram também suscetíveis por uma das metodologias testadas os clones: CP-486, CP-480, CP-215 (inoculação a campo), e CP-207, CP-242, CP-47, CP-196 e CP-199 (inoculação em discos de folhas). Vinte e dois clones não diferiram estatisticamente do 'Jaca' pelos dois métodos testados: CP-41, CP-55, CP-40, HB-07, HB-08, CP-188, CP-56, CP-336, CP-181, CP-347, HB-15, CP-264, PS1319, CP-176, CP-109, CP-129, CP-204, CEPEC-2002, CP-309, CP-301, CP-160, CP-102. Destacam-se dentre estes os clones CP-41, CP-40, CP-55 e HB-07 por, pelos dois métodos de inoculação, estarem entre os clones com valores de médias mais baixos, embora não diferindo estatisticamente do 'Jaca'. Todos os 22 clones, possuem condições de serem indicados, de imediato, tanto para uso como porta enxerto ou como clones, ou ainda, em outras etapas do PMGC.

Entre os 39 clones testados neste trabalho, apenas dois, CEPEC-2002 e PS-1319 já haviam sido avaliados em ensaios anteriores (OLIVEIRA et al., 2009, SILVA et al., 2007a; 2012). Ambos, posicionaram-se entre os que, pelo critério de análise adotado, foram considerados como resistentes, confirmando os resultados anteriormente obtidos por Sanches (2007) para CEPEC-2002, por Oliveira et al. (2009) para os dois clones e, por Silva et al. (2007a; 2012) para o PS-1319. Ressalta-se, no entanto, que as inoculações pelos autores anteriormente mencionados, foram realizadas em plantas obtidas de polinização aberta (progênies), com quatro a seis meses de idade. Isto é um indicativo de que o teste precoce em plantas jovens, em casa de vegetação, também é eficiente. No entanto, o método de inoculação em discos de folhas é ainda mais rápido que ele, pois o mesmo requer seis meses para crescimento das plântulas até atingirem a espessura de caule desejada (SILVA et al. 2007a; OLIVEIRA et al. 2009), tendo a desvantagem de ser destrutivo.

Com relação ao CEPEC-2002, Sanches (2007), ao utilizar uma concentração de inóculo maior ( $10^5$  esporos/ml) do que a recomendada a partir de 2009 (OLIVEIRA et al., 2009), classificou as plantas de polinização aberta deste clone como moderadamente resistentes. No entanto, Delgado e Soares (2003) já haviam ressaltado que há variação na reação de clones de cacauero a *C. cacaofunesta* se concentrações de inóculo mais altas são usadas.

É importante ressaltar que resultados semelhantes obtidos para inoculações em plantas adultas (clones) no campo e progênies obtidas de polinização aberta dos clones PS-1319 e CEPEC-2002 em casa de vegetação, indicam que estes clones



transmitem a resistência aos descendentes, sendo, portanto, promissores para continuidade de uso no PMGC.

Os valores estimados para a correlação entre as médias das variáveis usadas nos dois métodos de inoculação foram positivos. Segundo Resende (2002), a correlação é uma medida que está associada à precisão na seleção, sendo o principal componente do progresso genético que o melhorista pode alcançar visando a maximizar o ganho genético. Os valores de correlação podem ser incrementados por meio de uma experimentação mais adequada, mantendo-se o mesmo tamanho do experimento, porém alterando-se o número de indivíduos por parcela e de repetições. Entretanto, segundo Valois e Nascimento (1986), para a obtenção de ganhos genéticos consideráveis no processo de seleção de um caráter, os métodos de melhoramento devem fundamentar-se em esquemas mais efetivos no controle ambiental, de acordo com os valores do coeficiente de herdabilidade encontrados.

No presente trabalho, os valores estimados de correlação entre os métodos foram baixos. Atribui-se isso à variação encontrada no comportamento de 14 dos clones testados. Normalmente, estas variações existem mesmo em repetições de inoculações de um mesmo clone com o mesmo método de inoculação (MAGALHÃES, D.M.A comunicação pessoal). É possível evidenciar bem os clones que tiveram reações contrastante na Figura 7, com destaque para os clones CP-477, CP-480, CP-486, CP-366 e CP-215, além de CCN-51. As causas destas variações necessitam ser melhor investigadas.

Os clones das séries CP e HB foram desenvolvidos no CEPEC, por ações do PMGC, visando à piramidação de genes de resistência à vassoura de bruxa, bem como a associação de genes ligados a outras características genéticas desejáveis no cacauero associadas à produção. De uma série de cruzamentos simples, duplos e retrocruzamentos surgiram as populações base não estruturadas (MONTEIRO; ANHERT, 2012) das quais indivíduos com melhores performances, após vários anos de avaliação em campo, foram selecionados. Alguns foram testados por inoculação artificial para resistência à vassoura de bruxa e comprovaram os resultados de campo, mostrando-se resistentes (BENJAMIN et al. 2014). Os clones testados para resistência a *C. cacaofunesta* neste trabalho são resultantes destas seleções, e incluem em seu pedigree genes de clones internacionalmente conhecidos e de diversas procedências além de seleções locais. A indicação para plantio dos que se destacaram neste experimento, traz valores agregados de resistência a *M.*

*perniciosa* (VB) e *C. cacaofunesta*, além de outras características agronômicas desejáveis, representando um ganho genético considerável ao PMGC e aos produtores de cacau que estarão recebendo para indicação de plantio clones com resistência a duas importantes doenças do cacauzeiro.

Recomenda-se que os clones selecionados sejam também testados para resistência às principais espécies que causam podridão parda no cacauzeiro e que sejam realizadas pesquisas para determinar os mecanismos de defesa acionados nas plantas em resposta ao patógeno.

## 6. Conclusões

- 1) Foram selecionadas 22 novas fontes de resistência a *Ceratocystis cacaofunesta*, pelos dois métodos distintos de inoculação;
- 2) Destaque para os clones CP-40 e CP-55 que apresentaram as menores médias das variáveis avaliadas quanto à reação a *C. cacaofunesta* nos dois métodos testados.
- 3) O método de inoculação em discos de folhas do cacaueiro mostrou-se eficiente e pode ser utilizado em larga escala na seleção de clones resistentes a *C. cacaofunesta*.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, P. S. B. et al. Doenças do cacau, In: KIMATA, H. et al. **Manual de fitopatologia**. 4. Ed. São Paulo: Agronômica Ceres. p. 156, 2005.
- ALGER, K.; CALDAS, M. Cacau na Bahia: decadência e ameaça à mata Atlântica. **Ciência Hoje**, v. 20, n. 117, p. 28-35, 1996.
- ALMEIDA, C. M. V. C.; DIAS, L. A. S.; SILVA, A. P. Caracterização agrônômica de acessos de cacau. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.4, p.368-373, 2009.
- ALMEIDA, L. C. C. et al.. Distribuição geográfica da murcha-de-Ceratocystis do cacau na Bahia, Brasil. **Agrotropica**, v. 17, p. 83-86, 2005.
- AUER, G. C., SANTOS F. A. Doenças em eucaliptos destinados à produção de energia na região Sul do Brasil. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 31, n. 68, p. 373-379, 2011.
- BAHIA, R. C. et al. Resistance to Black Pod Disease in a Segregating Cacao Tree Population. **Tropical Plant Pathology**, v. 40, p. 13-18, 2015.
- BAKER, C. J. et al. Genetic variability and host specialization in the Latin American clade of *Ceratocystis fimbriata*. **Phytopathology**, v. 93, p. 1274–1284, 2003.
- BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. **Doenças fúngicas do cacau na Amazônia brasileira**. Belém PA. CEPLAC Superintendência da Amazônia Oriental, 2005.
- BASTOS, C. N.; EVANS, H. C. Ocorrência de *Ceratocystis fimbriata* Ell. & Halst. na região Amazônica Brasileira. **Acta Amazônica**, v. 8, n.4, p. 543-544, 1978.
- BARRETO, M. A., et. al. Detection of genetic resistance to cocoa black pod disease caused by three Phytophthora species. **Euphytica (Wageningen)**, v. 204, p. 1490, 2015.
- BARTLEY, B. G. D. **The genetic diversity of cocoa and its utilization**. CABI Publishing. Wallingford, UK. 341p., 2005.
- BARROS, C. N. **Cacao. Manual de Assistência Técnica**, Instituto Colombiano Agropecuario: Bogota, n. 23, 1981, 286p.
- BEDENDO, I. P. Doenças Vasculares. In: Amorim, L.; Bergamin Filho, A.; Kimati, H. (Eds.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed., São Paulo: Ceres, 1995. v. 1, p. 838-847.
- BENJAMIN, C. S. et al. Avaliação de progênies de clones de cacauzeiros (Série CP) quanto à resistência a *Moniliophthora perniciosa*. **Agrotropica**, v. 26, p. 17-26, 2014.

BENJAMIN, C. S. et al. **Seleção de genótipos de cacauero para resistência a *Moniliophthora perniciosa* e produtividade**. 2012. 84 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, 2012.

BEZERRA, J. L. et al. Ocorrência de *Ceratocystis fimbriata* em clones de cacau no estado da Bahia. **Fitopatologia Brasileira** (Suplementos), v. 23, p. 228 (Resumo 117), 1998.

BEZERRA, J. L. *Ceratocystis fimbriata* causing death of budded cocoa seedlings in Bahia, Brazil. **Incoped Newsletter**. v. 1, p. 6, 1997.

CAPRILES DE REYS L.; SCHULZ, E. S.; MUNOZ A. El contenido de ácido clorogênico con diferentes variedades de cacau y su relación con la resistencia contra el hongo *Ceratocystis fimbriata*. **Agronomia Tropical**, v. 16, p. 273-284, 1964.

CAPRILES DE REYS L.; REYS H. E. Contenido de polifenoles en dos variedades de *Theobroma cacao* L. y su relación con la resistencia a *Ceratocystis fimbriata*. **Agronomia Tropical**, v. 18, p. 339-355, 1968.

CEPLAC (COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA).

**Relação da qualidade do cacau no mercado atual e no mundo.**

Disponível em: <<http://www.ceplac.gov.br/radar/semfaz/mercadoatual.htm>> Acesso em: 06 jun. 2015.

CHONG, G. L. **Desarrollo de la infección y naturaleza de la resistencia clonal a *Ceratocystis fimbriata***. Tesis para obtener el grado de Ingeniero Agronomo. Guayaquil, Ecuador, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad de Guayaquil. 120p. 1961.

COSTA E CARVALHO, R. R. et al. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de esporos de *Thielaviopsis paradoxa* isolado de coqueiros em Sergipe. **Scientia plena**, v. 7, n. 9, p. 1-5, 2011.

CUATRECASAS, J. Cacao and its allies: a taxonomic revision of the genus *Theobroma*. **Contributions From The United States National Herbarium** v.35, p. 379-614, 1964.

DELGADO, R.; SUÁREZ, C. Diferencias en agresividad entre aislamientos de *Ceratocystis fimbriata* de Ecuador y Brasil en cacao. **XII Seminário Nacional de Sanidad Vegetal**. Latacunga, Ecuador, noviembre. p. 19-21, 2003.

DELGADO, U.; ECHANDI, E. Evaluación de la resistencia de especies y clones de cacau al mal del machete provocado por *Ceratocystis fimbriata*. **Trurrialba**, v. 15, p. 286-289, 1965.

DIAS, L. A. S. **Melhoramento genético do cacauero**. Viçosa-MG. FUNAPE, UFG, 2001, 578 p.c

ENGELBRECHT, C. J. B.; HARRINGTON, T. C. Intersterility, morphology and taxonomy of *Ceratocystis fimbriata* on sweet potato, cacao and sycamore. **Mycologia**, v. 97, p. 57-69, 2005.

FERREIRA, F. A. et al. Detecção rápida de *Ceratocystis fimbriata* em lenho infetado de eucalipto, mangueira e outros hospedeiros lenhosos. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, p. 543-545. 2005.

FIRMINO, A. C. et al. Resistência de genótipos de Eucalipto a *Ceratocystis* spp. **Revista Scientia Forestalis Piracicaba**, v. 41, n. 98, p. 165-173, 2013.

FIRMINO, A. C. et al. *Ceratocystis* sp. causando murcha em atemóia na região de Botucatu-SP. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.38, n. 2, p. 171-171, 2012b.

FIRMINO, A. C. **Caracterização de isolados de ceratocystis sp, avaliação de resistência clonal de eucalipto e sensibilidade deste fungo a diferentes fungicidas**. Tese (Doutorado), Faculdade de Ciência Agrônômicas da UNESP – Botucatu-SP, 59 p., 2011.

GARDELLA, D. S.; ENRÍQUEZ, G. A.; SAUNDERS, J. L. Innheritance of clonal resistance to *Ceratocystis fimbriata* in cacao hybrids. **Proc. 8 th Int. Cocoa Res. Conf. Cartagena**, Colombia 1981, p.695-702, 1982.

GRAMACHO, I. C. P. et al. **Cultivo e beneficiamento do cacau na Bahia**. Ilhéus, Bahia: CEPLAC, 1992, p. 124.

HERME, P. **Larousse do Chocolate**. 1. ed. São Paulo: Larousse, 2006.

ICCO (INTERNATIONAL COCOA ORGANIZATION) - **Cocoa Market Situation - 24 July 2014**. Disponível em: [http://www.icco.org/about-us/international-cocoa-greements/cat\\_view/30-related-documents/46-statistics-production.html](http://www.icco.org/about-us/international-cocoa-greements/cat_view/30-related-documents/46-statistics-production.html). Acesso em: 06 jun. 2015.

KRUGNER, T. L.; BACCHI, L. M. A. Fungos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H. AMORIN, L. (Eds). **Manual de Fitopatologia**. Volume I. Princípios e Conceitos. São Paulo- SP, p. 46-95, 1995.,

LASS, R. A. Cocoa in Ecuador. **Cocoa Growers' Bull**, n. 14, p. 8-15, 1970.

LEÃO, A. C. **O cultivo do cacau (Theobroma cacao L.) no Brasil**. Fundação Biblioteca Nacional. Itabuna-Bahia, 62 p., 2010.

LEITE, J. B. V. **Cacaueiro: propagação por estacas caulinares e plantio no semi-árido do Estado da Bahia**. 2006. 84 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2006.

LOPES, U. V. et al. Cacao breeding in Bahia, Brazil - strategies and results, **Crop Breed. Appl. Biotechnol.**, v.1, p. 73-81, 2011.

LORENZI, H. et al. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo in natura)**. São Paulo: Instituto Plantarum, 2006. p. 627.

LUZ, E. D. M. N. et al. Atualidades no manejo de doenças do cacaueteiro. In: **Patologia Florestal: desafios e perspectivas**. NEFIT – Núcleo de Estudos em Fitopatologia, 1ed., Editora: Suplema - SP, p. 313-329, 2013.

LUZ, E. D. M. N.; SGRILLO, R. B.; SANTOS FILHO, L. P. Estimativas de danos e perdas causadas por doenças no cacaueteiro. In: **Workshop de Epidemiologia de Doenças de Plantas**, 1, Anais. Viçosa: UFV, p. 67-79, 2005.

LUZ, E. D. M. N.; SILVA, S. D. V. M.; GRAMACHO, K. P. Seleção de clones de cacaueteiro para resistência a *Ceratocystis fimbriata*. **Fitopatologia Brasileira**, 25 (Suplemento), 389 p., 2000.

MANDARINO, E. P.; SENA GOMES, A. R. **Produtividade do cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.) cultivado em blocos monoclonais, no sul da Bahia, Brasil**. Ilhéus: CEPLAC/CEPEC, 2009. 32 p. (Boletim Técnico, n. 197).

MAGALHÃES, D. M. A. et al. Inoculação em disco de folhas, novo método para testar a resistência de clones de cacaueteiros à murcha-de-ceratocystis spp. a diversos hospedeiros., In: **46º Congresso brasileiro de Fitopatologia**, 2013, Ouro Preto – MG. Tropical Plant Pathology, Lavras – MG: Sociedade brasileira de Fitopatologia, 2013.

MAGALHÃES, D. M. A. et al. Diagnóstico precoce de murcha-de-ceratocystis em cacaueteiro e outros hospedeiros, In: **Minibanners do III Congresso Brasileiro do Cacau**, Ceplac/Cepec. Boletim Técnico (Edição Especial), Ilhéus, BA. p. 85. 2012.

MONTEIRO, W. R.; AHNERT, D. Melhoria Genética do Cacaueteiro. In: **Ciência, tecnologia e manejo do cacaueteiro**. 2ed. Brasília, p.11-30, 2012.

MONTOYA, M.; WINGFIELD A. M. J. Review of *Ceratocystis sensu stricto* with special reference to the species complexes *c. coerulescens* and *C. fimbriata*, **Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín**, v. 59, n. 1, p. 3045-3075, 2006.

NYASSE, S. et al. Leaf inoculation as an early screening test for cocoa (*Theobroma cacao* L.) resistance to Phytophthora black pod disease. **Crop Protection**, v.14, p.657-663, 1995.

OLIVEIRA, M. L. et al. Murcha de ceratocystis, nova doença do cupuaçueteiro, **Agrotrópica**, v. 25, n.1, p. 33 – 38, 2013.

OLIVEIRA, M. L.; LUZ, E. D. M. N. Principais doenças do cacaueteiro e seu manejo. In: Valle, R. R. (Org.). **Ciência, tecnologia e manejo do cacaueteiro**. 2ed. Brasília - DF: MAPA/CEPLAC, v. 1, p. 187-275, 2012.

OLIVEIRA, B. F. et al. Identificação de fontes de resistência a *Ceratocystis cacaofunesta* em mudas de cacaueteiro. **Agrotrópica**, v. 21, p. 83-88, 2009.

OLIVEIRA, M. L.; LUZ, E. D. M. N. Murcha-de-*ceratocystis*, In: OLIVEIRA, M. L.; LUZ, E. D. M. N. **Identificação e manejo das principais doenças do cacau no Brasil**. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC/SEFIT, p. 55-63, 2005.

PAIM, V. R. L. M. **Estudo da diversidade genética de novas fontes de resistência à vassoura-de-bruxa do cacau**. 2005. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular), Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, 2005.

PEREIRA, A. B. Melhoramento clonal. In: DIAS, L. A. S. **Melhoramento genético do cacau**. Vicososa: Folha de Vicososa, p. 362-384, 2001.

PEREIRA, J. L. *et al.* Primeira ocorrência de vassoura-de-bruxa na principal região produtora de cacau do Brasil. **Agrotropica**, v. 1, n. 1, p. 79–81, 1989.

PINTO, L. R. M.; PIRES, J. L. Seleção de plantas de cacau resistentes à vassoura-de-bruxa. **Boletim técnico**, v.18, 35 p.1998.

PIRES, J. L. **Avaliação quantitativa e molecular de germoplasma para o melhoramento do cacau com ênfase na produtividade, qualidade de frutos e resistência a doenças**. 2003. 226 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

RAM, A.; VALLE, R. R. M.; FREITAS, D. B., Controle de cancro ou murcha-de-*ceratocystis* do cacau na Bahia, Brasil. **Agrotropica**, v.16, n. 3, p. 111-114, 2004.

REYES, L. C. Resistencia de cultivares de cacau a *Ceratocystis fimbriata*. **Proc. 6 th Int. Cocoa Res. Conf.**, Caracas, Venezuela 1997, p. 70-86, 1981.

RESENDE, M. D. V. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 975p. 2002.

RIBEIRO, I. J. A. *et al.* Gomose da acácia-negra causada por *ceratocystis fimbriata* Ell. & Halst. **Bragantia**, v.47, n.1, p. 71-74, 1988.

RIOS-RUIZ, R. A. Melhoramento clonal. In: DIAS, L. A. S. (Ed.). **Melhoramento genético do cacau**. Viçosa: Funape, 2001. p.289-324.

ROSSETTO, C. J.; RIBEIRO, I. J. A.; IGUE, T. III – Comportamento de variedades de mangueira, espécies de coleobrocas e comportamento de *Hypocryphalus mangiferae*. **Circular do Instituto Agrônomo**, 106, 44p, 1980.

SÁNCHEZ, S. E. M. **Cacau e graviola: descrição e danos das pragas-de-insetos**, Ilhéus, Ed. Editus, p. 38-39, 2011.

SANCHES, C. L. G. **Murcha-de-Ceratocystis (*Ceratocystis Cacaofunesta*) no Sul da Bahia: Metodologia para seleção de genótipos de cacau resistentes e estudos preliminares descritivos do patógeno**. 2007. 61 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, 2007.



SANTOS, P. L. et al. Comportamento de *Ceratocystis* sp. “in vitro” sob diferentes temperaturas, meios de cultura e pH. **Revista Eletrônica de Educação e Ciência – REEC**, v. 01, n. 01, p. 07-17, 2011.

SANTOS, E. S. L., et al. Identificação de resistência genética do cacauzeiro à podridão-parda. **Pesq. agropec. bras.**, vol.44, no.4, p.413-416, 2009.

SAUDERS, J. L. The *Xyleborus-Ceratocystis* complex of cacao. **Cacao**, v.10, n.2, p. 7-13, Turrialba, Costa Rica, 1965.

**SEAGRI - Secretaria da Agricultura, Pecuária, Irrigação, Pesca e Aquicultura**  
Disponível em:<http://www.seagri.ba.gov.br/sites/default/files/cacauth13012015.pdf>,  
Acesso em: 06 jun. 2015.

SILVA, S. D. V. M. et al. Seleção de clones de cacauzeiros resistentes à murcha-de-ceratocystis em condições de campo. **Agrotropica**, v. 25, p. 163 – 170, 2013.

SILVA, S. D. V. M. et al. Resistência de progênies de cacauzeiro à murcha-de-*Ceratocystis*, **Tropical Plant Pathology**, v. 37, n. 3, p. 191-195, 2012.

SILVA, S. D. V. M. et al. Avaliação de clones de cacauzeiros selecionados no sul da Bahia para resistência a *Ceratocystis cacaofunesta*. **Agrotropica**, v. 22, p.165-170, 2010.

SILVA, S. D. V. M. et al. Reação de genótipos de cacauzeiros a isolados de *Ceratocystis cacaofunesta*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 504-506, 2007a.

SILVA, S. D. V. M. et al. Indicações de resistência a murcha-de-*Ceratocystis* em genótipos de cacauzeiro no sul da Bahia, In Proc. **XV Int. Cocoa Reseach Conf.**, p. 976-972, 2007b.

SILVA, S. D. V. M.; PAIM, M. C.; CASTRO W. M. Cacau “Jaca” Resistente a *Ceratocystis fimbriata* na Região Cacauzeira da Bahia, Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 538-540, 2004.

SILVA, S. A.; HANSEN, D. de S. Cultura do cacau. **Quarterly Bulletin of cocoa statistics**, v. 28, p. 1-32, 2002.

SILVEIRA, A. P. et al. Caracterização do prejuízo provocado pelo mofo cinzento (*Ceratocystis fimbriata*) em painéis de seringueira (*Hevea brasiliensis*). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, SP, v. 20, n. 3-4, p. 196- 199, 1994.

SPENSE, J. A.; MOLL, E. R. Preliminary observations on a wilt condition of cocoa. **J. Agric. Soc. Trinidad and Tobago**, v. 58, n. 3, p. 349-359, 1958.

TRINDADE, D. R.; FURTADO, E. L. Doenças da seringueira. In: KIMATI, H. et al. (Eds). **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. v.2. São Paulo: Ceres, 1997. p. 628-641.

TUMURA, K. G. et al. Murcha por *Ceratocystis* em eucalipto: avaliação de resistência e análise epidemiológica. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 1, p. 54-60, 2012.

TUMURA, K. G. **Avaliação de resistência, análise epidemiológica e caracterização anatômica da madeira em clones de *Eucalyptus* sp. infectados por *Ceratocystis fimbriata***, 2011, 51p. Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, 2011.

**WCF (WORLD COCOA FOUNDATION). *Cocoa Market Update***. Disponível em: <<http://worldcocoafoundation.org/wp-content/uploads/Cocoa-Market-Update-as-of-4-1-2014.pdf>>. Acesso em: 06 Jun. 2015.

VALOIS, A. C. C.; NASCIMENTO, J. C. estimativa de parâmetros genéticos em cacauzeiros sem utilização de testes de progênies. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, 21(9):965-970, set. 1986.

VIEGAS, A. P. Seca da mangueira. **Bragantia**, Campinas, v. 19, p. 163-182, 1960.