

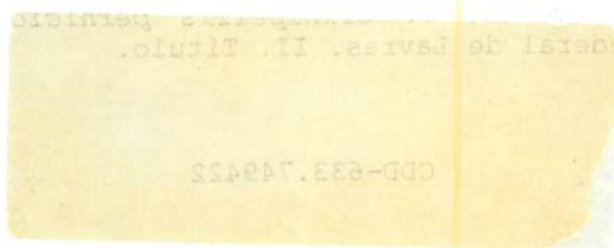
GIVALDO ROCHA NIELLA

ESPORULAÇÃO DE *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer  
EM FRUTOS DE CACAU (*Theobroma cacao* L.) NO SUDESTE DA  
BAHIA E SENSIBILIDADE "IN VITRO" A QUATRO COMPOSTOS  
SULFURADOS.

Dissertação apresentada  
à Universidade Federal de Lavras,  
como parte das exigências do Curso  
de Mestrado em Agronomia, área de  
concentração em Fitopatologia, para  
obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. HILÁRIO ANTÔNIO DE CASTRO



LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

1997

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e  
Catalogação da Biblioteca Central da UFLA

Niella, Givaldo Rocha

Esporulação de *Crinipellis perniciosa* (Stahel)  
Singer em frutos de cacau (*Theobroma cacao* L.) no  
Sudeste da Bahia e sensibilidade "in vitro" a quatro  
compostos sulfurados / Givaldo Rocha Niella.

-- Lavras : UFLA, 1997.

60 p. : il.

Orientador: Hilário Antônio de Castro.

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Vassoura-de-bruxa. 2. Fungo fitopatogeno. 3. Cacau.  
Doença fúngica. 5. Sensibilidade. 6. Controle. 7.  
Esporo - Desenvolvimento. 8. *Crinipellis perniciosa*.  
I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.


CDD-633.749422

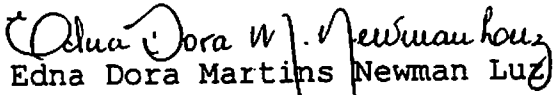
GIVALDO ROCHA NIELLA

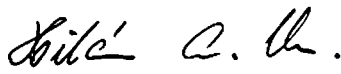
**ESPORULAÇÃO DE *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer  
EM FRUTOS DE CACAU (*Theobroma cacao* L.) NO SUDESTE DA  
BAHIA E SENSIBILIDADE "IN VITRO" A QUATRO COMPOSTOS  
SULFURADOS.**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Lavras, como  
parte das exigências do Curso de  
Mestrado em Agronomia, área de  
concentração em Fitossanidade, para  
obtenção do título de "Mestre".

**APROVADA** em 26 de fevereiro de 1997

  
Dr. Mário Sobral de Abreu  
(Professor)

  
Dr<sup>a</sup> Edna Dora Martins Newman Luz  
(Pesquisadora - PhD)

  
Dr. Hilário Antônio de Castro  
(Professor - Orientador)

À minha esposa, Eliana Raquel, que esteve ao meu lado em cada momento desta caminhada;

À nossos filhos, Yuri e Raquel;

Aos meus pais, Antônio Miguel e Ana Selma;

Aos meus sogros Evilásio e Railda;

OFEREÇO.

À DEUS, que na sua sabedoria e simplicidade  
dotou o ser humano a sua imagem e  
semelhança,  
DEDICO.

"Tu que habitas sob a proteção do Altíssimo, que moras à sombra do Onipotente, dize ao Senhor: Sois meu refúgio e minha cidadela, meu Deus, em quem eu confio." Sl 90, 1-2.

## AGRADECIMENTOS

O autor expressa seus agradecimentos:

À CEPLAC (Comissão Executiva do Planos da Lavoura Cacaueira);

À UFLA (Universidade Federal de Lavras);

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos ;

Ao orientador - Prof. Drº Hilário Antônio de Castro pela amizade, confiança e estímulo na realização deste trabalho;

Aos Co-orientadores - José Luiz Bezerra, Edna Dora M. N. Luz, Maria Ivete Brugnerotto, Maria das Graças Cardoso e Joel A. Muniz, pela amizade, paciência e orientações realizadas;

A irmã e colega Ana Rosa Rocha Niella Cerqueira, pela contribuição nas leituras de campo;

Aos colegas da CEPLAC/SEFIT: Mário Lúcio, Denise Argolo, Cenilda Rocha, Josival Rodrigues , Valmir Araújo, Elenízio Nunes, Justino dos Santos, Niviane Fraga, pela amizade, carinho e compreensão.

Aos colegas da UFLA: Eloísa Leite, Maria Aparecida, Ana Maria, Eliana Aparecida, Nazaré Vitorino, Cleber Maximiniano, Paula Karina, pela amizade e apoio nas diversas fases deste trabalho;

A Maria das Graças Ongarelli pelo especial apoio nos trabalhos de microscopia eletrônica;

Ao Sérgio Wagner, Vera Lúcia e Antônio de Pádua (NADP/UFLA) pelo apoio prestado neste trabalho.

Aos Professores e demais funcionários pela atenção dispensada;

Aos colegas do curso de Mestrado em Fitossanidade;

A todos que ajudaram anonimamente, a fim de que chegasse ao término do curso.

## SUMÁRIO

	página
LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	vii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	4
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	6
2.1 ETIOLOGIA.....	6
2.2 HOSPEDEIRO.....	7
2.3 SINTOMATOLOGIA.....	8
2.4 EPIDEMIOLOGIA.....	9
2.5 PREJUÍZOS.....	11
2.6 CONTROLE.....	11
2.6.1 CONTROLE CULTURAL.....	11
2.6.2 CONTROLE GENÉTICO.....	12
2.6.3 CONTROLE BIOLÓGICO.....	12
2.6.4 CONTROLE QUÍMICO.....	12
2.7 O ENXOFRE NO CONTROLE DE DOENÇAS.....	13
2.8 IMPORTÂNCIA DO ENXOFRE E METABOLISMO VEGETAL.....	14
2.9 PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS DO ENXOFRE.....	14
2.10 FUNGITOXICIDADE .....	15

2.11 FITOTOXICIDADE DO ENXOFRE.....	15
2.12 FUNGICIDAS JÁ TESTADOS P/A VASSOURA-DE-BRUXA.....	16
2.13 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	18
3 Esporulação de <i>Crinipellis perniciosa</i> (Stahel) Singer em frutos de cacau ( <i>Theobroma cacao</i> L.) no sudeste da Bahia.....	25
RESUMO.....	25
ABSTRACT.....	26
3.1 INTRODUÇÃO.....	27
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
3.4 CONCLUSÕES.....	37
3.5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	38
4 Sensibilidade "in vitro" de <i>Crinipellis perniciosa</i> (Stahel) Singer a quatro compostos sulfurados.....	41
RESUMO.....	41
ABSTRACT.....	42
4.1 INTRODUÇÃO.....	43
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
4.4 CONCLUSÕES.....	57
4.5 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA.....	58
5 DISCUSSÃO GERAL.....	60

## LISTA DE TABELAS

3 Desenvolvimento de *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer em frutos de cacau (*Theobroma cacao* L.) no sudeste da Bahia.

TABELA 3.1: Temperatura máxima, mínima, média e umidade relativa mensal durante 25 meses.....35

4 Sensibilidade "in vitro" de *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer a quatro compostos sulfurados.

TABELA 4.1: Crescimento micelial médio (cm) de *C. perniciosa*, após 15 dias submetidos a 4 compostos sulfurados, em 3 dosagens, para 3 isolados.....47



## LISTA DE FIGURAS

3 Esporulação de *Crinipellis pernicioso* (Stahel)  
Singer em frutos de cacau (*Theobroma cacao* L.) no  
sudeste da Bahia.

- FIGURA 3.1: Produção de basidiomas de *C. pernicioso* em 24  
meses no sudeste da Bahia.....30
- FIGURA 3.2: Totais pluviométricos mensais (mm) no sudeste  
da Bahia.....32
- FIGURA 3.3: Produção máxima de basidiomas ( Fruto aberto ) e  
mínima (sementes) em relação à precipitação (mm)...33
- FIGURA 3.4: Produção de basidiomas por tratamento em 24  
meses.....33
- FIGURA 3.5: Estado de decomposição dos tratamentos em agosto  
de 1996, vinte e quatro meses após início das  
observações.....36

4 Sensibilidade "in vitro" de *Crinipellis pernicioso*  
(Stahel) Singer a quatro compostos sulfurados.

- FIGURA 4.1: Crescimento micelial médio em cm de *C.pernicioso*,  
após 15 dias.....49
- FIGURA 4.2: Sensibilidade do micélio de três isolados de  
*C. pernicioso* quando submetidos ao Dithane M-22  
e ao butilamino.....50
- FIGURA 4.3: Inibição da germinação de basidiósporos de  
*C. pernicioso* na presença dos 4 compostos  
sulfurados, em relação a testemunha.....51
- FIGURA 4.4: Basidiósporos de *C. pernicioso*, germinados em  
água e em 160 ppm dos compostos sulfurados.....53
- FIGURA 4.5: Basidiósporos de *C. pernicioso* visto ao  
microscópio eletrônico de transmissão.....55
- FIGURA 4.6: Detalhe da parede do basidiósporo de  
*C. pernicioso*.....56

## RESUMO

NIELLA, Givaldo Rocha. *Esporulação de Crinipellis perniciosa (Stahel) Singer em frutos de cacau (Theobroma cacao L.) no sudeste da Bahia e sensibilidade "in vitro" a quatro compostos sulfurados*. Lavras: UFLA, 1997. 60p. (Dissertação - Mestrado em Fitopatologia)\*

Objetivando quantificar a produção de basidiomas de *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer em frutos de cacau (*Theobroma cacao L.*) infectados naturalmente, foi efetuado estudo no Centro de Pesquisas do Cacau-CEPEC/CEPLAC, Itabuna/BA. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, com seis tratamentos e quatro repetições, sendo cada parcela constituída de 30 frutos. Foram realizadas duas leituras semanais, removendo-se os basidiocarpos já formados e os primórdios, para não serem contados repetidamente. Os resultados obtidos 24 meses após início das leituras revelaram uma produção acumulada de basidiomas em frutos abertos de 9.075, em cascas de 5.612, em frutos morango de 4.393, em frutos cenoura de 3.506, em frutos fechados de 2.252 e em sementes de 1.119 basidiomas. Entretanto, somente foram observadas diferenças estatísticas (Tukey, 5%), entre os tratamentos frutos abertos e sementes. Estes resultados

---

\*Orientador: Hilário Antônio de Castro. Membros da banca: Mário Sobral de Abreu e Edna Dora Martins Newman Luz.

demonstram que frutos de cacau infectados por *Crinipellis perniciosa*, especialmente os abertos, constituem-se em importantes fonte de inóculo para a doença vassoura-de-bruxa e não devem ser deixados dentro do cacau.

Avaliou-se a sensibilidade "in vitro" de *Crinipellis perniciosa* a quatro compostos sulfurados, utilizando enxofre elementar (100% de S), Thiovit (80% de S), Dithane M-22 (38,68% de S), e N-butilamino etanotiol cloridrato (18,91% de S), nas dosagens de 0, 1, 10 e 100 ppm, através do crescimento micelial do fungo em BDA. Cada parcela constou de uma Placa de Petri de 9 cm de diâmetro com 20 ml de meio para o qual foi repicado um disco de 0,7 cm de diâmetro de cultura pura e incubada em câmara de crescimento a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com três repetições, com leituras diárias, até o crescimento total do fungo nas placas testemunha (0 ppm). Observou-se inibição do crescimento micelial do fungo em placas com Dithane M-22 e N-butilamino, e crescimento igual ao da testemunha para o enxofre elementar e Thiovit.

A sensibilidade de *Crinipellis perniciosa* aos mesmos compostos sulfurados nas dosagens de 1,25; 2,50; 5; 10; 20; 40; 80 e 160 ppm de cada composto também foi avaliada pela inibição da germinação de basidiósporos em lâminas escavadas. Na menor dosagem (1,25 ppm), a porcentagem média de germinação entre os quatro compostos foi de 85,25%, e na maior dosagem (160 ppm) Dithane M-22 e butilamino inibiram a germinação de basidiósporos.

Como o Dithane M-22 apresentou resultados satisfatórios, reduzindo tanto o crescimento micelial como a germinação dos basidiósporos, estudos de microscopia eletrônica foram realizados em basidiósporos germinados na presença do produto para observar possíveis modificações. Alterações morfológicas na parede celular de basidiósporos tratados com Dithane M-22, foi observado.

## ABSTRACT

### SPORULATION OF *Crinipellis pernicioso* (STAHEL) SINGER ON COCOA PODS (*Theobroma cacao* L.) IN SOUTHEAST BAHIA AND "IN VITRO" SENSIBILITY TO FOUR SULFUROUS COMPOUNDS.

The purpose of this paper was to quantify the production of basidioms of *Crinipellis pernicioso* on cocoa pods (*Theobroma cacao* L.), naturally infected, the study was conducted at the Cocoa Research Center - CEPEC/BA. A completely randomized block design was used, compounded of six treatments and four replications with thirty pods each. Two weekly evaluations were carried out removing the basidiocarps already formed, and the primordies, so they wouldn't be counted repeatedly. The results obtained 24 months after beginning the evaluations showed an accumulated production of basidioms on open pods of 9.075, on peels of 5.612, on "strawberry" fruits of 4.393, on "carrot" fruits of 3.506, on closed pods of 2.252 and on seeds of 1.119 basidioms. Nevertheless, significant statistical differences (Tukey 5%) were only observed, between the treatments open pods and seeds. These results demonstrate that cocoa pods infected by *C. pernicioso*, especially the open ones, are an important inoculum source of witches' broom disease and should not be left in the cacao plantation.

The "in vitro" sensibility of *C. pernicioso* to four sulfurous compounds was assessed measuring the micellial growth of the fungus in BDA plates with basic sulfur (100% of S), Thiovit (80% of S), Dithane M-22 (48,35% of S), and N-butylamino ethanotiol chlorohydrate (18,91% of S), on doses of 0, 1, 10 and 100 ppm. Each parcel consisted of a 9 cm diameter Petri Plate with a 0,7 cm disc of a pure culture of *C. pernicioso* incubated in a growth chamber at  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . The experimental design was a completely randomized design with three replications. The colonies diameter was mensured daily until the colonies cover the entire surface of the medium in the contol plates (0 ppm). Dithane M-22 and N-butylamino inhibited the micellial growth of *C. pernicioso* while the treatments basic sulfur and Thiovit showed similar growth to the contol plates.

The *C. pernicioso* sensibility to these compounds was also assessed through the inhibition of the basidiospores' germination on concave slides, using the same doses of: 1,25; 2,50; 5; 10; 20; 40; 80; and 160 ppm of each sulfurous compound. In the smallest dosage (1,25 ppm), the average percentage of germination among the four compounds was 85,25%, and in the high one (160 ppm) there was no basidiospores germination in the presence of Dithane M-22 and butylamino.

As Dithane M-22 was the product which showed the most satisfactory results reducing both the micellial growth and the basidiospores germination, studies on eletronic microscopy were accomplished to observe possible morphological changes caused to the basidiospores by the product. Morphological alterations on the celular walls of the basidiospores treated with Dithane M-22 were in fact noticed.

## 1 INTRODUÇÃO

O cacau ( *Theobroma cacao* L.), espécie nativa da floresta tropical úmida americana, é originário das regiões tropicais da América Central e do Sul (Bondar, 1938), sendo seu centro de origem, provavelmente, as nascentes dos rios Amazonas e Orinoco (Gramacho et al., 1992). A árvore se acha em cultura desde milhares de anos. Os astecas do México e os incas do Peru, apreciavam a bebida do chocolate, muito antes de Colombo descobrir o Novo Mundo (Bondar, 1938). A partir do seu centro natural, o cacau ultrapassou os Andes, formando as populações da Venezuela, Colômbia, Equador, países da América Central e México, como também se dispersou ao longo do rio Amazonas, originando as populações encontradas no Brasil e nas Guianas (Gramacho et al., 1992).

Do Brasil, o cacau foi disseminado para a África, com as primeiras plantações nas ilhas de São Tomé, Príncipe e Fernando Pó. Posteriormente, foi introduzido em Gana, expandindo-se por diversos países como Nigéria, Camarões e Costa do Marfim (Gramacho et al., 1992). Da África o cacau se expandiu para o Sudeste Asiático e hoje é cultivado na Indonésia, Malásia, Papua-Nova Guiné e Samoa, dentre outros países.

O maior produtor mundial de cacau atualmente é a Costa do Marfim(1.100.000 t), seguido por Gana(375.000 t), Indonésia (295.000 t), Brasil(215.000 t) e a Nigéria(145.000 t) (Organização Internacional do Cacau, 1996). O Brasil já foi o 2º maior produtor mundial de cacau na década de 70. As exportações brasileiras de cacau e derivados, atingiram o valor de 306 milhões de dólares no ano de 1993 (Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira, 1994).

de 306 milhões de dólares no ano de 1993 (Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira, 1994).

No Brasil, o cultivo do cacaueiro estende-se por dez Estados da Federação. Em 1746 foi introduzido no Estado da Bahia, maior produtor, que participa com 80,21% da produção nacional, vindo em seguida o Pará com 8,95%, Rondônia com 6,23% e Espírito Santo com 3,75%. Os demais Estados juntos totalizam 0,86% (Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1994). As exportações do Estado da Bahia no ano de 1978 registraram uma participação do cacau com um montante de 40,55% do total exportado, o que gerou uma receita da ordem de 729 milhões de dólares para o Estado (Bahia, 1979).

A vassoura-de-bruxa é uma doença fúngica que ataca principalmente os tecidos meristemáticos em crescimento, tais como brotos vegetativos, almofadas florais e frutos do cacaueiro, provocando sintomas característicos, resultantes do desequilíbrio hormonal presente na interação patógeno-hospedeiro (Bastos, 1990). Os brotos infectados apresentam diâmetro maiores que os normais, os entrenós são curtos, as folhas geralmente grandes, curvadas ou retorcidas e com pulvinos hipertrofiados (Baker e Holliday, 1957).

Andebrhan, Almeida e Fonseca (1983) e Silva (1987) citam que a vassoura-de-bruxa do cacaueiro possui outras denominações como: "largatão", "Krulloten", "Witches' broom" e "escoba de bruxa", sendo observada pela primeira vez por Alexandre Rodrigues Ferreira no século XVIII, em 1785, em cultivos incipientes de cacau de colonos portugueses na Amazônia Brasileira. Contudo, a documentação científica aponta que a vassoura-de-bruxa foi detectada pela "primeira vez" por volta de 1895, em cacauais da ex-colônia Guiana Holandesa, atual Suriname (Stahel, 1915).

No dia 22 de maio de 1989, na fazenda conjunto Santana, Município de Uruçuca, Bahia, foi detectado o primeiro foco da vassoura-de-bruxa numa extensão de 12 hectares, em 84 plantas afetadas, sendo este o primeiro registro da doença no Estado (Pereira et al., 1989).



A vassoura-de-bruxa é atualmente, a mais importante doença do cacauzeiro na Bahia, na Amazônia brasileira e nos outros países onde ocorre (Luz et al., 1997). Em condições favoráveis ao patógeno, pode ocasionar perdas dos frutos superiores a 90% (Evans, 1981). Após sua entrada na Bahia, a doença ocasionou um desastre sócio econômico jamais visto na região, provocando um aumento do êxodo rural e conseqüentemente redução da população em mais de 30% em cidades como Camacan (Trevizan e Silva Jr., 1995).

O presente trabalho teve como objetivos:

- Avaliar o desenvolvimento de *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer em frutos de cacau (*Theobroma cacao* L.) no Sudeste da Bahia.
- Avaliar o grau de sensibilidade "in vitro" do fungo a quatro compostos sulfurados.

## 1.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- ANDEBRHAN, T.; ALMEIDA, L. C. de; FONSECA, S. A. Doenças do cacauero. Belém: CEPLAC/DEPEA/COPES, 1983. 20p.
- BAHIA - Secretaria do Planejamento, Ciência e Tecnologia. Anuário Estatístico da Bahia 1978-1979. Salvador: SEPLAB, 1979. v.6, 340p.
- BAKER, R. E. D.; HOLLIDAY, P. Witches' Broom disease of cacao (*Marasmius perniciosus* Stahel). Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1957. 42p. (Phytopathological Paper, 2).
- BASTOS, C. N. Epifitologia, hospedeiros e controle da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa*, (Stahel) Singer). Ilhéus: CEPLAC/CEPEC, 1990. 21p. (Boletim Técnico, 168).
- BONDAR, G. A cultura de cacau na Bahia. São Paulo: Revista dos Tribunais, 1938. 201p.
- COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. Sinopse Estatística do Cacau 1994. Brasília: CEPLAC, 1994. v.1, 64p.
- EVANS, H. C. Witches' broom disease a case study. Cocoa Growers' Bulletin, Birmingham, n.32, p.5-19, 1981.
- FUNDAÇÃO INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Anuário Estatístico do Brasil. Rio de Janeiro: FIBGE, 1994. p.22.

- GRAMACHO, I. da C. P.; MAGNO, A. E. de A.; MANDARINO, E. P.; MATOS, A. **Cultivo e beneficiamento do cacau na Bahia**. Ilhéus: Empresa Gráfica da Bahia, 1992. 124p.
- LUZ, E. D. M. N.; BEZERRA, J. L.; OLIVEIRA, M. L.; RESENDE, M. L. V. Doenças do cacauzeiro. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R. (ed.) **Controle de doenças das principais culturas do Brasil**. Viçosa: UFV. Imprensa Universitária, 1997. n.p.
- ORGANIZAÇÃO INTERNACIONAL DO CACAU. **Quarterly bulletin of cocoa statistics**. London: ICCO, 1996. v.22, n.3, p.2.
- PEREIRA, J. L.; RAM, A.; FIGUEIREDO, J.M.; ALMEIDA, L. C. C. de. Primeira ocorrência de vassoura-de-bruxa na principal região produtora de cacau do Brasil. **Agrotrópica**, Ilhéus, v.1, n.1, p.79-81, 1989.
- SILVA, P. **Cacau e largatão ou vassoura-de-bruxa**. Registros efetuados por Alexandre Rodrigues Ferreira nos anos de 1785 a 1787 na Amazônia. Ilhéus: CEPLAC/CEPEC, 1987. 21p.
- STAHEL, G. *Marasminus perniciosus* vov. Spec de veroorzaker der Krullotenziekte van de cacao in Suriname. Bul: Dept. Landbouw Suriname, 1915. 33-27 p.
- TREVIZAN, S. D. P.; SILVA JÚNIOR, M. F. da. Mudanças sócio econômicas e ambientais associadas à vassoura-de-bruxa nos cacauais da Bahia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília: SBF, 1995. v.20, p.273.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 ETIOLOGIA

A doença vassoura-de-bruxa do cacauero (*Theobroma cacao* L.) é causada por um fungo da Divisão Eumycota, sub-divisão Basidiomycotina, ordem Agaricales e família Agaricaceae, classificado inicialmente como *Marasmius perniciosus* (Stahel, 1915). Posteriormente Singer, em 1942, reclassificou-o como *Crinipellis perniciosa* (Singer, 1942). Luz et al., (1997) reclassificam a família em Tricholomataceae, observando que a impressão dos esporos ("Spore print") é de cor branca, contrastando com a da família Agaricaceae que é de cor castanho. A família Tricholomataceae é constituída de espécies com basidiomas pileados, estipitados, lignícolas e capazes de reativação após o secamento quando são umedecidos.

A temperatura ótima para germinação e desenvolvimento de *C. perniciosus* situa-se em torno de 25°C, variando os limite máximo e mínimo entre 30 e 15°C (Baker e Holliday, 1957; Bastos, 1982; Rocha e Wheeler, 1985). Segundo Bastos (1990) o micélio secundário do fungo não é infectivo, somente os basidiósporos de coloração hialina e dimensões de 10-14µ x 4-5µ que são produzidos no interior dos basidiomas, são capazes de induzir a enfermidade. Apesar do fácil cultivo em meios de cultura, a frutificação "in vitro" é baixa. O fungo apresenta duas fases distintas, uma parasítica constituída de micélio intercelular, monocariótico e sem grampos de conexão; e outra saprofítica, quando sobrevive no tecido vegetal em decomposição, apresentando micélio intracelular, dicariótico e com grampos de



conexão (Luz et al., 1997). Basidiomas são produzidos em todos os tecidos afetados depois de mortos ou mumificados, quer estejam presos à árvore, quer se achem no solo (Bastos, 1990).

## 2.2 HOSPEDEIROS

O fungo *C. perniciososa* (Stahel) Singer, além do cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.) infecta também outras espécies dos gêneros *Theobroma* e *Herrania*, tais como: cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schum), cacau do Pará (*T. bicolor* Hum & Bonpl.), cacau cabeça de urubu (*T. obovatum* Klotz ex Bern), cacau jacaré (*T. microcarpum* Mart.), cupuí (*T. subincanum* Mart.), cacauí (*T. speciosum* Wild), *Herrania albiflora* Goudot, *H. nitida* Poepp, e *H. purpurea* Pitter (Hardy, 1961, citado por Bastos, 1990; e Thorold, 1975).

Este fungo tem sido encontrado em hospedeiros alternativos não pertencentes à família Sterculiaceae, como liana, uma espécie de cipó não identificado (Evans, 1977), em solanáceas silvestres como a juçara (*Solanum rugosum*) e *S. laseantherum* v. Heurck (Bastos e Evans, 1985); no urucuzeiro (*Bixa orellana* L.) (Bastos e Andebrhan, 1986).

No Estado da Bahia, Luz et al., (1997) relatam que foi encontrado *C. perniciososa* infectando jurubeba (*Solanum paniculatum*), jiló (*S. gilo*), caiçara (*S. stipulaceum*), berinjela (*S. melogena*), *Solanum* sp - sem nome vulgar, pimentão (*Capsicum annum*), pimenta malagueta (*C. copa frutescens*) e *Athanaea* cf. *pogogena* - sem nome vulgar, além de um cipó silvestre da família *Malpighiaceae* (*Stigmatophylum* sp.).

Em Minas Gerais, o braço de preguiça (*Solanum cernuum* Vell.) e a fruta de lobo (*Solanum lycocarpum*) hospedam uma espécie de *Crinipellis* muito semelhante, talvez idêntica a *C. perniciososa* (Evans e Barreto, 1996).

### 2.3 SINTOMATOLOGIA

A vassoura-de-bruxa é uma doença fúngica que ataca principalmente os tecidos meristemáticos em crescimento, tais como brotos vegetativos, almofadas florais e frutos do cacauzeiro, provocando sintomas característicos, resultantes de desequilíbrio hormonal presente na interação patógeno-hospedeiro. Os ramos vegetativos infectados tornam-se hipertrofiados e com intensa proliferação lateral de outros brotos, apresentando aspecto característico de uma vassoura. Os brotos infectados apresentam diâmetros maiores que os normais, entrenós curtos, e folhas geralmente grandes, curvadas ou retorcidas e com os pulvinos hipertrofiados (Baker e Holliday, 1957).

Sementes aparentemente sadias, oriundas de frutos infectados, originam plântulas hipertrofiadas abaixo do nó cotiledonar e vassouras vegetativas são produzidas a partir de gemas situadas nos cotilêdones, podendo matar a plântula (Rudgard, 1989). A penetração direta do fungo nos pecíolos ou pulvinos das folhas produz uma inchação, e subsequente morte, seca e rachadura destes tecidos, sem causar abscisão da folha, gerando a formação de cancro. Gemas axilares associadas com cancros foliares podem ser estimuladas a produzir brotos hipertrofiados ou vassouras axilares, podendo, uma única infecção, induzir vassouras em mais de uma gema axilar. A infecção da gema apical origina vassoura terminal, que as vezes se constitui no sintoma visual mais proeminente desta doença (Rudgard, 1989).

O vigor da planta e o estágio fisiológico dos lançamentos quando infectados, exercem grande influência no tamanho final da vassoura. No início de um lançamento foliar, grandes vassouras podem ser formadas, porém, quando a infecção ocorre em gemas e tecidos envelhecidos, a hipertrofia é menor e pequenas vassouras são formadas. Nas almofadas florais infectadas formam-se cachos de flores anormais, com hastes grandes e entumecidas, as quais darão origem a frutos com

formato de morango que morrem prematuramente. Nessas almofadas podem desenvolver-se vassouras vegetativas. Os frutos podem ser infectados quando jovens, com 1 a 3 meses após a fecundação da flor, com de 1 cm de comprimento, onde a penetração e a colonização pelo fungo atuam paralisando o crescimento e produzindo deformações que lhes dão a forma característica de cenoura. Nos frutos mais desenvolvidos (aproximadamente 8 cm de comprimento), aparece uma mancha negra, dura e irregular, ficando as amêndoas unidas entre si, portanto inaproveitáveis comercial e agronomicamente (Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira, 1993).

Ocasionalmente, algumas infecções desenvolvem manchas ligeiramente inchadas e escuras nos ramos, denominados "cancros", as quais vêm a se constituir em uma perigosa fonte de inóculo (Bastos, 1990).

Em tecidos de crescimento muito rápido, como os chupões, geralmente não se formam vassouras terminais. O fungo penetra lateralmente durante a alongação do ramo, mas, devido à rápida extensão, o ponto de crescimento permanece não colonizado pelo patógeno e continua produzindo tecidos saudáveis, quando então a infecção toma a forma de vassoura lateral e cancro (Evans, 1981).

## 2.4 EPIDEMIOLOGIA

Comprovadamente a chuva é o fator mais importante na produção de basidiomas, sendo o nível ideal de precipitação de 1.500 a 2.000 mm/anual, bem distribuídos (Thorold, 1975; Bastos e Silva, 1980 e Andebrhan, Almeida e Fonseca, 1983). Máxima frutificação ocorre quando a precipitação é de 200-250 mm/mês (Andebrhan, 1982). Segundo Almeida e Andebrhan (1984) precipitações menores que 100 mm/mês e maiores que 300 mm/mês reduziram a produção de basidiomas nas vassouras secas em Belém (PA). As condições climáticas do sudeste baiano favorecem sobremaneira a doença vassoura-de-bruxa. Observações realizadas nesta região, tem demonstrado que a superfície externa de

frutos de cacau amontoados no solo produz considerável quantidade de basidiomas bem como internamente e nas sementes, entretanto inexistente, até o momento, qualquer avaliação científica sobre o assunto.

Costa (1993), estudando frutos infectados dispostos na serrapilheira do cacau em Altamira (PA), não detectou formação de basidiomas nos anos de 1986 e 1987, e também no mesmo período, os frutos infectados por *C. perniciosus* localizados no meio e no topo da copa do cacau produziram pouco basidiomas. O autor demonstra que em Tomé-Açu (PA), nos anos de 1986 e 1987, não houve formação significativa de basidiomas em 100 frutos infectados colocados na serrapilheira.

Avaliando a produção de basidiomas de *C. perniciosus* em diferentes ecossistemas do cacau na região Norte do Brasil, Almeida, Bastos e Ferreira (1995) verificaram que 86% e 58% das vassouras sobre o solo, tornaram-se produtivas em ecossistemas com e sem sombreamento, respectivamente. Também concluíram que o período produtivo destas vassouras foi de 3 e 10 meses em ecossistemas sombreado e sem sombra, respectivamente, e os maiores índices de basidiomas/vassouras/mês ocorreram em vassouras suspensas, com valores de 16,8 em ecossistemas sombreado e 23,5% naqueles sem sombra.

As vassouras secas deixadas na copa são a principal fonte de inóculo de *C. perniciosus* na Amazônia, e produzem basidiomas durante 2 a 3 anos (Evans, 1982). Vassouras removidas e deixadas no solo, originam a formação de basidiomas do patógeno durante um curto período na estação chuvosa (Hedger, 1988). Segundo Andebrhan (1984), estas vassouras são responsáveis por 8% da produção de inóculo em comparação a 66% do inóculo produzido em vassouras localizadas nas extremidades da planta, de 1 a 2 metros de altura do solo.

A formação de vassouras está relacionada positivamente com a produção de basidiomas registradas nos meses anteriores (Aranzazu, 1981). Basidiomas produzidos em vassouras secas na copa do cacau podem murchar, por perda da umidade, e tornarem-se ativos após um período chuvoso (Baker e Crowdy,



1943). Andebrhan (1987), Rudgard e Burtley (1987) observaram que a longevidade destes basidiomas varia de 5 a 8 dias e, durante este período, são capazes de liberar basidiósporos aos milhares, sendo cada um potencialmente capaz de causar infecção. Medeiros e Rodrigues (1974) estimaram que um basidioma em apenas 10 horas é capaz de liberar 5.000.000 de basidiósporos viáveis, e Holliday (1952) afirma que em condições favoráveis, a sua germinação é rápida e em 95% dos casos se completa em quatro horas.

Segundo Bastos (1990), basidiomas são produzidos em todos os tecidos infectados depois de mortos ou mumificados, quer estejam presos à árvore, quer se encontrem no solo.

## 2.5 PREJUÍZOS

A vassoura-de-bruxa é uma das doenças mais destrutivas do cacauero e os danos provocados refletem diretamente e indiretamente na produção, podendo, em alguns casos, devastar totalmente as plantações. Na Amazônia brasileira, com especial referência ao Estado de Rondônia, já foram registrados em algumas fazendas perdas de até 90% da produção, constituindo-se esta doença no principal fator limitante para a expansão da cacauicultura na região (Ramos, 1960 e Bastos, 1990).

## 2.6 CONTROLE

### 2.6.1 Controle cultural

É o método que consiste na remoção das partes infectadas do cacauero, utilizando-se da poda fitossanitária, buscando-se assim reduzir a fonte de inóculo (Bastos, 1990). O número e as épocas de remoção de tecidos infectados dependem das condições climáticas de cada região. Na Amazônia é recomendado uma remoção/ano no início da estação seca, ao passo que no sudeste da Bahia são necessárias quatro remoções/ano. Na Amazônia o material removido é deixado no solo sem cobertura, pois emergem poucos basidiomas, mas no sudeste da Bahia o material necessita

ser amontoado e coberto, pois a produção de basidiomas é elevada (Luz et al., 1997).

#### 2.6.2 Controle genético

O controle de doenças de plantas com o emprego de cultivares resistentes constitui-se no mais eficiente método de controle, durável e economicamente viável. A suspeita de que o agente causal da vassoura-de-bruxa do cacaueteiro seja homotático, levou os pesquisadores a acreditarem que a variação genética deste patógeno seria baixa (Baker e Holliday, 1957). Entretanto é totalmente desconhecida a capacidade de variação genética de *C. pernicioso*, pois a produção de basidiocarpos "in vitro" deste patógeno é baixa.

Desde quando se constatou resistência a vassoura-de-bruxa nos clones Scavinia 6 e Scavinia 12 em Trinidad (Bartley, 1981), tem-se buscado obter plantas resistentes. O Theobahia, tolerante a vassoura-de-bruxa, fruto do cruzamento dos clones Scavinia 6 e ICS 1, procedentes, respectivamente, do Peru e de Trinidad, é o melhor material disponível atualmente na Bahia (Monteiro, Pires e Pinto, 1995).

#### 2.6.3 Controle biológico

A utilização de microrganismos antagônicos envolvendo diferentes modos de ação, entre as quais a competição, antibiose e hiperparasitismo, constitui-se em uma opção de controle da vassoura-de-bruxa. O hiperparasita *Cladobotryum amazonense* (Bastos e Evans, 1979), além de parasitar os basidiocarpos de *C. pernicioso*, produz em meio de cultura, um antibiótico altamente tóxico ao patógeno (Bastos, 1984).

#### 2.6.4 Controle químico

Em decorrência das freqüentes e elevadas precipitações nos trópicos, a eficácia dos fungicidas é limitada (Bastos, 1990). Entretanto, fungicidas a base de cobre tem sido utilizados com sucesso no sudeste da Bahia como protetores no pico da floração/início da bilração dando boa proteção para a frutificação (Luz et al., 1997). Oliveira (1995), no estudo

intitulado "Screening de fungicidas sistêmicos e antiesporulantes para o controle da vassoura-de-bruxa" concluiu que de forma geral, dos 18 fungicidas sistêmicos testados "in vitro" e a nível de campo, o tebuconazole comportou-se como o mais eficaz no controle da vassoura-de-bruxa, reduzindo em até 68,03% o número de vassouras formadas.

## 2.7 O ENXOFRE NO CONTROLE DE DOENÇAS

Segundo Zambolim e Chaves (1989) o enxofre elementar é o mais antigo dos pesticidas e ainda é vendido em grande quantidade para controle de doenças de plantas. Foi conhecido pelos gregos a cerca de 1.000 anos a. C. e é considerado, um fungicida de primeira geração, inorgânico, protetor, com ação erradicante, amplamente utilizado. Forsyth em 1802, citado por Zambolim e Chaves (1989), foi o primeiro a recomendar sua aplicação no controle do míldio pulverulento de árvores frutíferas, em mistura com cal, broto de sabugueiro e cocção de fumo. Segundo Zambolim e Chaves (1989), em 1824 Robertson apresentou à Sociedade de Horticultura de Londres, resultados mostrando que o enxofre foi o único produto eficiente no controle do oídio do pessegueiro. Relatou ainda que a eficiência da ação fungicida do enxofre era aumentada quando se adicionava sabão e se cobriam uniformemente as plantas. Em 1905, Paerot e colaboradores, citados por Zambolim e Chaves (1989), recomendaram a aplicação da mistura de enxofre e cal para o controle da sarna da macieira. Em 1908 o enxofre assegurou sua posição como fungicida de maior valor comercial.

## 2.8 IMPORTÂNCIA DO ENXOFRE E METABOLISMO VEGETAL

A quantidade de enxofre vendida no mundo superou a de todos os outros fungicidas, pelas seguintes razões: alta eficiência no controle dos oídios; atuação sobre outras doenças; efeito acaricida; ausência de resíduos tóxicos;



compatibilidade com inúmeros defensivos; e, baixo custo em relação aos orgânicos sintéticos (Zambolim e Chaves, 1989).

O enxofre é normalmente absorvido pelas plantas na forma inorgânica de íon sulfato ( $\text{SO}_4^{-2}$ ), sendo reduzido e incorporado aos aminoácidos, proteínas, coenzimas e outros compostos. Outra rota para assimilação do enxofre pela planta consiste na incorporação do íon sulfato à estrutura orgânica sem a redução, como sulfolipídios ou polissacarídeos (Nakayama, 1995).

Mengel e Kirkby (1982) relatam que o enxofre é um dos constituintes dos aminoácidos essenciais cisteína e metionina e a deficiência de enxofre provoca um acúmulo de amido na folha (Marschner, 1986). Em folhas verdes a maioria das proteínas localizam-se nos cloroplastos, e uma deficiência de enxofre ocasionaria redução da quantidade de clorofila e consequente clorose do tecido vegetal.

## 2.9 PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS DO ENXOFRE

Na sua forma comercial, o enxofre elementar é um pó amarelo, de textura fina, com ponto de fusão a  $115^\circ\text{C}$ . Nessa temperatura, torna-se um líquido escuro e a  $160^\circ\text{C}$ , assume a forma viscosa. Há várias formas alotrópicas de enxofre, algumas cristalinas e outras amorfas. Todas as formas cristalinas são solúveis em bissulfureto de carbono, mas há formas amorfas solúveis e insolúveis neste composto químico (Zambolim e Chaves, 1989). O enxofre é insolúvel em água e solúvel em sulfeto de hidrogênio, goma arábica, agar e chremophor (Cardoso, 1996, comunicação pessoal)\*. É classificado como não venenoso e apresenta pequeno risco para o homem e a vida selvagem, porém é irritante aos olhos e pode causar irritação na pele de indivíduos sensíveis (Zambolim e Chaves, 1989).

---

\* Cardoso, Maria das Graças, é doutorada em química orgânica e atualmente é professora do Departamento de Química da UFLA.

## 2.10 FUNGITOXICIDADE

Segundo Reis e Forcelini (1994), nem todas as substâncias químicas têm a propriedade de serem tóxicas aos fungos. Para ser considerada fungicida é necessário satisfazer aos critérios estipulados por Edgington, Khew e Barron (1971): as substâncias que apresentam  $DL_{50} < 1 \mu\text{g/ml}$  (=1 ppm) são considerados altamente fungitóxicos; com  $DL_{50}$  entre 1 e 50 ppm, moderadamente fungitóxicos; e os com  $DL_{50} > 50$  ppm não tóxicos. Segundo Reis e Forcelini (1994),  $DL_{50}$  é a concentração de uma dada substância capaz de inibir 50% o crescimento micelial ou a germinação de 50% dos esporos potencialmente viáveis "in vitro" de um determinado patógeno. Um valor baixo de  $DL_{50}$  indica um alto valor fungicida.

Segundo Cardoso (1995), muitas vezes um fungicida não atua diretamente sobre o fungo afetando seu desenvolvimento, mas pode inativar metabólitos ou enzimas extracelulares do fungo, essenciais para a assimilação de nutrientes presentes na superfície do hospedeiro, na forma não diretamente disponível.

Juliatti (1987), afirmou que os fungicidas, atualmente em uso, atuam diretamente sobre o fungo. A ação direta implica na capacidade de penetração e, possivelmente, de acumulação do fungicida em locais de atividade vital, situados na superfície da célula ou dentro do protoplasma, onde produz interferências bioquímicas letais. Qualquer que seja o mecanismo de acumulação, os fungicidas devem interromper pelo menos um processo vital do metabolismo fúngico para serem bem sucedidos. Como os fungicidas protetores são, geralmente, inespecíficos em sua ação e, portanto, capazes de inibir um grande número de processos vitais, pode-se concluir que atuam onde houver atividade celular.

## 2.11 FITOTOXICIDADE DO ENXOFRE

O grau de fitotoxicidade varia com a cultura. Geralmente causa desfolha prematura, nas plantas mais sensíveis (Zambolim

e Chaves, 1989). A forma química responsável pela fitotoxicidade do enxofre é objeto de especulação. O sulfeto de hidrogênio e os sulfetos solúveis formados pela aplicação de enxofre elementar e da calda sulfocálcica tem sido sugeridos como as formas responsáveis. Aparentemente, tanto a forma do enxofre como a temperatura possuem efeito marcante na fitotoxicidade; em geral, o efeito fitotóxico é reduzido pela utilização do enxofre elementar ao invés da calda sulfocálcica, aplicando-se quando a temperatura não for superior a 28°C (Zambolim e Chaves, 1989).

## 2.12 FUNGICIDAS JÁ TESTADOS PARA A VASSOURA-DE-BRUXA

Silva et al. (1985) avaliaram trinta e dois fungicidas no controle da vassoura-de-bruxa do cacaueiro em condições de campo e concluíram que nenhum dos produtos testados protegeram as almofadas florais e lançamentos foliares contra infecção de *C. pernicioso*, não estando entre tais fungicidas o enxofre como princípio ativo.

Coelho (1986d), avaliou o efeito de dezesseis fungicidas no controle da vassoura-de-bruxa em mudas de cacau na região de Ouro Preto D'oeste (RO), concluindo que o Auram 70 PM, Curzate M + Zn e Venturol, proporcionaram menores percentagens de infecção em mudas de cacau (média de 3,84%), demonstrando uma eficiência satisfatória no controle da doença. Neste mesmo ano, Coelho (1986c), testou trinta e cinco fungicidas para controle da vassoura-de-bruxa em frutos de cacau, na região de Ouro Preto D'oeste (RO), e concluiu que calda bordalesa a 1% e 3%, Ortho difolatan, Delsene M, Cerconil, Auran, Curzate M + Zn, Cobre Sandoz, Delan, Daconil, Folpet e Busan, destacaram-se no controle da doença, variando de 1,66% a 11,66% a infecção em frutos de cacau. O Dithane foi avaliado em frutos de cacau por Coelho (1986a), protegendo 79,58% dos frutos tratados com este fungicida.

Coelho (1986b), avaliando o efeito de fungicidas sobre a esporulação de *C. pernicioso* em lançamentos infectados secos

(vassouras secas) e concluiu que o melhor fungicida foi o Bayleton, cujas vassouras secas tratadas produziram 25,83% do número de basidiocarpos produzidos pela testemunha.

Em relatório anual de pesquisa, Oliveira (1995) informa que estudos da eficácia de dezoito fungicidas sistêmicos e dez protetores na inibição do crescimento micelial "in vitro" de *C. pernicioso*, os sistêmicos propiconazole (Tilt), cyproconazole (Alto 100), difenoconazole (Score) e tebuconazole (Folicur), e os protetores óxido cuproso (Cobre Sandoz), hidróxido de cobre (Garant) e oxicloreto de cobre (Funguran) foram selecionados para serem avaliados em condições de campo. De uma maneira geral, os resultados de campo encontrados por Oliveira (1995) demonstram que o tebuconazole comportou-se como mais eficaz no controle da vassoura-de-bruxa, reduzindo em até 68,03% o número de vassouras formadas, bem como o número de frutos morango produzidos (93,64%). Observou que os fungicidas protetores a base de cobre só tiveram efeito sobre a frutificação e não puderam ser quantificados em função do curto período de avaliação (apenas 6 meses).

Bastos (1986), trabalhando com os fungicidas Auram, Curzate, Bremazim, San 506 F, San 518 F e calda bordalesa, no crescimento micelial e germinação de basidiósporos de *C. pernicioso*, utilizou as dosagens de 1, 10, 50 e 100 ppm e concluiu que todos os fungicidas inibiram totalmente o desenvolvimento do patógeno a 50 ppm, sendo os basidiósporos mais sensíveis a San 506 F e Calda bordalesa na dosagem 1 ppm.

## 2.13 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ALMEIDA, L. C. de; ANDEBRHAN, T. Investigações sobre vassoura-de-bruxa do cacauero (*Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer) na Amazônia brasileira. In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Informe de Pesquisas-1984**. Belém, CEPLAC/DEPEA/COPES, 1984. p.40.
- ALMEIDA, L. C de; BASTOS, C.N. e FERREIRA, N.P. Produção de basidiocarpos de *Crinipellis pernicioso* em dois sistemas de cultivo do cacauero. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.20, n.1, p.60-64, 1995.
- ANDEBRHAN, T. Epidemiologia da vassoura-de-bruxa. In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Informe Técnico-1982**. Belém, CEPLAC/DEPEA/COPES, 1982. p.48-61.
- ANDEBRHAN, T. Produção de basidiocarpos em relação ao controle fitossanitário. In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Informe Técnico-1984**. Belém, CEPLAC/DEPEA/COPES, 1984. p.59-64.
- ANDEBRHAN, T. Relação entre idade das vassouras vegetativas e produção de basidiocarpos de *Crinipellis pernicioso* e as implicações no controle fitossanitário da doença. In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Informe de Pesquisas-1987**. Belém, CEPLAC/DEPEA/COPES, 1987. p.85-87.



ANDEBRHAN, T.; ALMEIDA, L. C. de; FONSECA, S. A. **Doenças do cacauero**. Belém: CEPLAC/DEPEA/COPEs, 1983. 20p.

ARANZAZU, F. Alguns Aspectos de La Biología de *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer en La Region de Uraba. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DE INVESTIGACION EN CACAO, 8, Cartagena, 1981. **Anais...**Cartagena: OICC, 1981. p.323-328.

BAKER, R. E. D.; CROWDY, S. H. **Studies in the witches' broom disease of cocoa caused by *Marasmius perniciosus* Stahel. I.** Introduction, symptoms and etiology. Port-of-Spain: ICTA. 1943. 28p. (Memoir, 7)

BAKER, R. E. D.; HOLLIDAY, P. **Witches' broom disease of cacao (*Marasmius perniciosus* Stahel)**. Kew: Commonwealth Mycological Intitute, 1957. 42p. (Phytopathological Paper, 2).

BARTLEY, B.G.D. **The status of genetic resistance in cacao to *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer.** In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DE INVESTIGACION EN CACAO, 6, Caracas, 1981. **Actas...**Lagos, Nigéria: Cocoa Producers' Alliance, 1981. p.57-69.

BASTOS, C. N. Efeito do filtrado de cultura de *Cladobotryum amazonense* sobre *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer e outros patógenos. **Revista Theobroma**, Itabuna, v.14, n.4, p.263-269, 1984.

BASTOS, C. N. **Epifitiologia, hospedeiros e controle de vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer)**. Ilhéus: CEPLAC/CEPEC, 1990. 21p. (Boletim Técnico, 168).

- BASTOS, C. N. Ensaio "in vitro" de fungicidas no crescimento e germinação de esporos de *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer. In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Informe de Pesquisas-1986**. Belém, CEPLAC/DEPEA/COPEPES, 1986. p.56-58.
- BASTOS, C. N. Influência da temperatura na liberação e germinação de basidiósporos de *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer. In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Informe Técnico-1980**. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC, 1982. p.307-308.
- BASTOS, C. N.; ANDEBRHAN, T. Urucu (*Bixa orellana*): nova espécie hospedeira de vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa*) do cacauero. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.11, n.4, p.963-965, 1986.
- BASTOS, C. N.; EVANS, H. C. A new pathotype of *Crinipellis perniciosa* (witches' broom disease) on solanaceous hosts. **Plant Pathology**, Oxford, v.34, n.2, p.306-312, June 1985.
- BASTOS, C. N.; EVANS, H. C. **Resultados preliminares sobre o estabelecimento de um sistema de controle da vassoura-de-bruxa na Amazônia**. Belém: CEPLAC/DEPEA, 1979. 12p. (Comunicado técnico, 12).
- BASTOS, C. N.; SILVA, H. M. **Doenças do cacauero na Amazônia Brasileira**. Belém: CEPLAC/DEPEA/COPEPES, 1980. 42p. (Boletim Técnico, 2).
- CARDOSO, M. das G. **Correlações entre a estrutura química e a atividade biológica de ácidos aminoalcanotiossulfúricos e derivados sobre o fungo *Phytophthora capsici***. Belo Horizonte: UFMG, 1995. 139p. (Tese - Doutorado em Química Orgânica).

COELHO, J. A. Avaliação da ação protetora e terapêutica dos fungicidas no controle da vassoura-de-bruxa em frutos de cacau. In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Informe de pesquisas-1986**. Belém, CEPLAC/DEPEA/COPES, 1986a. p.71-73.

COELHO, J.A. Seleção de fungicidas aplicados em lançamentos secos de cacauzeiros infectados pelo *Crinipellis pernicioso* (vassoura-de-bruxa). In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Informe de pesquisas-1986**. Belém, CEPLAC/DEPEA/COPES, 1986b. p.74-77.

COELHO, J.A. Seleção de fungicidas no controle da vassoura-de-bruxa em frutos de cacau. In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Informe de pesquisas-1986**. Belém, CEPEC/DEPEA/COPES, 1986c. p.65-67.

COELHO, J.A. Seleção de fungicidas no controle da vassoura-de-bruxa em mudas de cacau. In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Informe de pesquisa-1986**. Belém, CEPEC/DEPEA/COPES, 1986d. p.63-64.

COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Vassoura-de-bruxa**. Campinas: Cargill, 1993. 7p.

COSTA, J. C. do B. **Progresso da vassoura-de-bruxa em órgãos vegetativos do cacauzeiro em Altamira e Tomé-Açu, Pa.,** Viçosa: UFV, 1993. 52p. (Dissertação - Mestrado em Fitopatologia).

EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, St. Paul, v.61, n.1, p.42-44, Jan. 1971.

EVANS, H. C. Research on Cocoa Disease in Ecuador: past and present. **Ecuador**, Quito, v.23, n.1, p.68-80, 1977.

- EVANS, H. C. Witches' broom disease, a case study. IN: *Cocoa Growers' Bulletin*, Birmingham, n.32, p.5-19, 1981.
- EVANS, H. C. Witches' broom disease, a case study. In: INTERNATIONAL WORKSHOP ON THE WITCHES' BROOM DISEASE OF CACAO, 2., Belém, 1982. *Anais...* Belém: CEPLAC, 1982. p.5-19.
- EVANS, H.C.; BARRETO, R. W. *Crinipellis perniciosus*: a much investigated but little understood fungus. *Mycologist*, Ascot, v.10, n.2, p.58-61, 1996.
- HEDGER, J. N. Decomposition and basidiocarp production by witches' broom of cocoa under field conditions in Ecuador. In: INTERNACIONAL COCOA RESERCH CONFERENCE, 10, Santo Domingo, 1988. *Anais...* Cartagena: OICC, 1988, p.319-323.
- HOLLIDAY, P. Witches' broom disease of Cocoa (*Marasmius perniciosus*, Stahel). London: H.M. Stationery office, 1952. 8p. (Colonial, 286).
- JULIATTI, F. C. Tópicos do curso de fitopatologia geral. Uberlândia: UFU, 1987. 426P.
- LUZ, E. D. M. N.; BEZERRA, J. L.; OLIVEIRA, M. L.; RESENDE, M. L. V. Doenças do cacauzeiro. In: ZAMBOLIM, L. e VALE, F. X. R. (Ed.) *Controle de doenças das principais culturas do Brasil*. Viçosa: UFV. Imprensa Universitária 1997. n.p.
- MARSCHNER, H. *Mineral nutrition of higher plants*. London: Academic Press, 1986. 674p.
- MEDEIROS, A. G. de; RODRIGUES, C. H. Liberação e longevidade de basidiósporos de *Marasmius perniciosus*. In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. *Informe técnico-1974*. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC, 1974. p.62.

- MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. **Principles of Plant Nutrition**. 3. ed. Bern: International Potash Institute, 1982. 655p.
- MONTEIRO, W. R.; PIRES, J.L.; PINTO, L.R.M. **Variedade Theobahia**. Ilhéus: CEPLAC/CEPEC, 1995. 1p. (Boletim-Informação e Difusão, 01).
- NAKAYAMA, L. H. I. **Influência da nutrição mineral na manifestação dos sintomas da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer) em cacaueiro**. Piracicaba: ESALQ, 1995. 76p. (Tese - Doutorado em Agronomia).
- OLIVEIRA, M. L. de. **Screening de fungicidas sistêmicos e antiesporulantes para o controle da vassoura-de-bruxa**. Ilhéus: CEPLAC/CEPEC, 1995. 2p. (Relatório Anual de Pesquisas).
- RAMOS, G. H. **Enfermidades del Cocoa. La Escoba de bruja. El Agricultor Venezolano**, Caracas, v.24, n.2, p.21-27, 1960.
- REIS, E. M.; FORCELINI, C. A. **Manual de Fungicidas**. Passo Fundo: Pe. Berthier, 1994. 100 p.
- ROCHA, H. M.; WHEELER, B. J. **Factors influencing the production of basidiocarps and the deposition and germination of basidiospores of (*Crinipellis perniciosa*), the causal fungus of witches' broom on cocoa (*Theobroma cacao*)**. **Plant Pathology**, Oxford, v.34, p.319-328, Sept. 1985.
- RUDGARD, S. A. **International Witches' Broom Project**. Detailed description of symptoms of witches' broom disease of cocoa caused by *Crinipellis perniciosa*. Ascot: IOCC, 1989. 32p. (Special issue of Cocoa Growers' Bulletin, 41).

RUDGARD, S. A.; BURTLEY, D. R. Witches' broom Diseases in Rondônia-Brasil: pod infecion in relation to pod susceptibility, wetness, inoculum and phytosanitation. *Plant pathology*, Oxford, v.36, p.515-522, Dec. 1987.

SILVA, J. A.; RODRIGUES, C. H.; ALMEIDA, L. C.; ANDEBRHAN, T. Efeito de fungicidas no controle da vassoura-de-bruxa do cacauero em condições de campo. In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. *Informe de Pesquisas-1985*. Belém, CEPLAC/DEPEA, 1985. p.48-51.

SINGER, R. A monographic study of the genera *Crinipellis* and *Chaetocalathus*. *Lilloa*, v.8, p.441-534, 1942.

STAHEL, G. *Marasmius perniciosus* nov. spec. the cause of the Krulloten-disease of cacao in Suriname. Paramaribo: Departement van den Landbourn in Suriname, 1915. 25p. (Bulletin, 33).

THOROLD, C. A. *Diseases of Cocoa*. Oxford: Clarendon Press, 1975. 425p.

ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G. M. *Fungicidas da primeira geração*. Brasília: Abeas, 1989. 114p.

### 3 Esporulação de *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer em frutos de cacau (*Theobroma cacao* L.) no sudeste da Bahia.

#### RESUMO

Objetivando quantificar a produção de basidiomas de *Crinipellis pernicioso* em frutos de cacau (*Theobroma cacao*), infectados naturalmente, foi desenvolvido a partir de agosto de 1994 um estudo no Centro de Pesquisas do Cacau-CEPEC/CEPLAC/BA, que constou de seis tratamentos: frutos fechados, abertos, cascas, frutos morango, frutos cenoura e sementes. Os tratamentos, com quatro repetições e trinta frutos por parcela, foram distribuídos em blocos ao acaso. Foram realizadas duas leituras semanais, removendo-se os basidiocarpos já formados e os primórdios, para não serem contados repetidamente. Os resultados obtidos após 24 meses de estudos revelaram uma produção total de basidiomas em frutos abertos de 9.075, em cascas de 5.612, em frutos morango de 4.393, em frutos cenoura de 3.506, em frutos fechados de 2.252 e em sementes de 1.119 basidiomas. Somente foram observadas diferenças significativas (Tukey, 5%) entre os tratamentos fruto aberto e sementes. Estes resultados demonstram que frutos de cacau infectados por *C. pernicioso* não devem ser deixados dentro do cacaual.

Palavras chave: Vassoura-de-bruxa, cacau, *Crinipellis pernicioso*, basidiomas.

3 Sporulation of *Crinipellis perniciosa* (Sthael) Singer on cocoa pods (*Theobroma cacao* L.) in the southeast of Bahia.

Abstract

The purpose of this paper was to quantify the production of basidioms of *Crinipellis perniciosa* on cocoa pods (*Theobroma cacao* L.), naturally infected. The study was conducted at the Cocoa Research Center - CEPEC/Ba. A randomly block design was used, compounded of six treatments and four replications with thirty pods each. Two weekly evaluations were carried out removing the basidiocarps already formed and the primordies, so they wouldn't be counted repeatedly. The results obtained 24 months after beginning the evaluations showed an accumulated production of basidioms on open pods of 9.075, on peels of 5.612, on "strawberry" pods of 4.393, on "carrot" pods of 3.506, on closed pods of 2.252 and on seeds of 1.119 basidioms. Significant differences (Tukey 5%) were only observed between the treatments open pods and seeds. These results demonstrate that cocoa pods infected by *C. perniciosa*, especially the open ones, are an important inoculum source of witches' broom disease and should not be left in the cacao plantation.

Key words: witches' broom, Cocoa, *Crinipellis perniciosa*, basidioms.



### 3.1 INTRODUÇÃO

A vassoura-de-bruxa causada pelo fungo *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer é uma das doenças mais destrutivas do cacau (Theobroma cacao L.) nos países onde ela existe, pois os danos provocados refletem diretamente na produção, e em alguns casos, chegam a devastar totalmente as plantações (Ramos, 1960; Bastos, 1990). Na Amazônia brasileira, com especial referência ao Estado de Rondônia, já foram registrados em algumas fazendas perdas de até 90% da produção, constituindo-se a doença no principal fator limitante para a expansão da cacauicultura na região (Bastos, 1986). No momento, a enfermidade está presente na Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Guiana, Suriname, Venezuela, Panamá e nas seguintes ilhas do Caribe: Granada, São Vicente, Trinidad e Tobago. A vassoura-de-bruxa do cacau não ocorre no continente africano onde se encontram o 1º e 2º maiores produtores mundiais de cacau, nem no continente Asiático.

Segundo Luz et al. (1997), *C. perniciosa* é um basidiomiceto pertencente a ordem Agaricales da família Tricholomataceae a qual abrange espécies com basidiomas pileados, estipitados, lignícolas e capazes de revivescer após o secamento quando são umedecidos

A formação de vassouras está relacionada positivamente com a produção de basidiomas registrada nos meses anteriores (Aranzazu, 1981). Basidiomas produzidos em vassouras secas do cacau podem murchar, por perda da umidade, e tornarem-se ativos após um período chuvoso (Baker e Crowdy, 1943). Andebrhan (1987), Rudgard e Burtley (1987) observaram que a

longevidade dos basidiomas varia de 5 a 8 dias e, durante este período, são capazes de liberar basidiósporos aos milhares, sendo cada um potencialmente capaz de causar infecção. Sob condições favoráveis, a sua germinação é rápida e 95% se completa em quatro horas (Holliday, 1952).

Comprovadamente a chuva é o fator mais importante na produção de basidiomas. O nível ideal de precipitação está entre 1.500 e 2.000 mm/anual, bem distribuídos (Torold, 1975; Bastos e Silva, 1980; e Andebrhan, Almeida e Fonseca, 1983). Máxima frutificação ocorre quando a precipitação é de 200-250 mm/mês (Andebrhan, 1982). Precipitações menores que 100 mm/mês e maiores que 300 mm/mês reduziram a produção de basidiomas nas vassouras secas em Belém (PA), segundo Almeida e Andebrhan (1984).

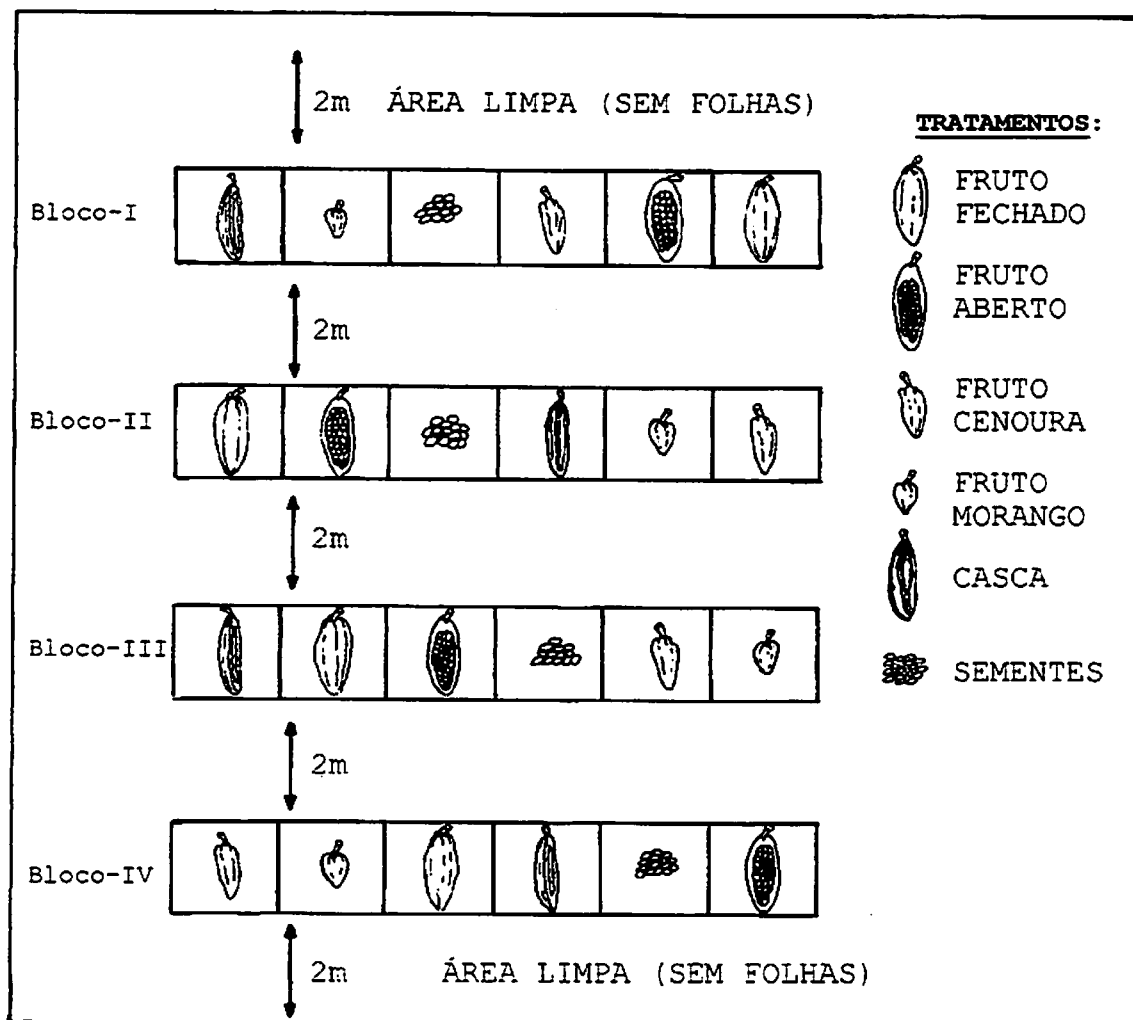
Os basidiomas são produzidos em todos os tecidos infectados depois de mortos ou mumificados, quer estejam presos à árvore, quer se achem no solo (Bastos, 1990). Segundo Costa (1993), em frutos infectados dispostos na serrapilheira do cacau em Altamira (PA) não se detectou formação de basidiomas, nos anos de 1986 e 1987, mas naqueles localizados no meio e no topo da copa de cacauzeiros apenas poucos basidiomas foram produzidos. O autor demonstra que em Tomé-Açu (PA), nos anos de 1986 e 1987, não houve formação significativa de basidiomas em 100 frutos infectados colocados na serrapilheira.

O presente trabalho teve como objetivo quantificar, durante dois anos consecutivos, a produção de basidiomas em frutificações de cacau infectados naturalmente por *C. perniciosus*.

### 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

A avaliação da esporulação de *Crinipellis perniciosus* em frutos de cacau no sudeste da Bahia foi realizada em área de produção de cacau no Km 22 da rodovia Ilhéus/Itabuna, na quadra i' do Centro de Pesquisas do Cacau - CEPEC, em delineamento

blocos ao acaso, constando de seis tratamentos, com quatro repetições. Os tratamentos consistiram de trinta frutos fechados, trinta frutos abertos no sentido longitudinal, cascas de trinta frutos, sementes de trinta frutos, trinta frutos cenoura e trinta frutos morango, distribuídos na área conforme o croqui:



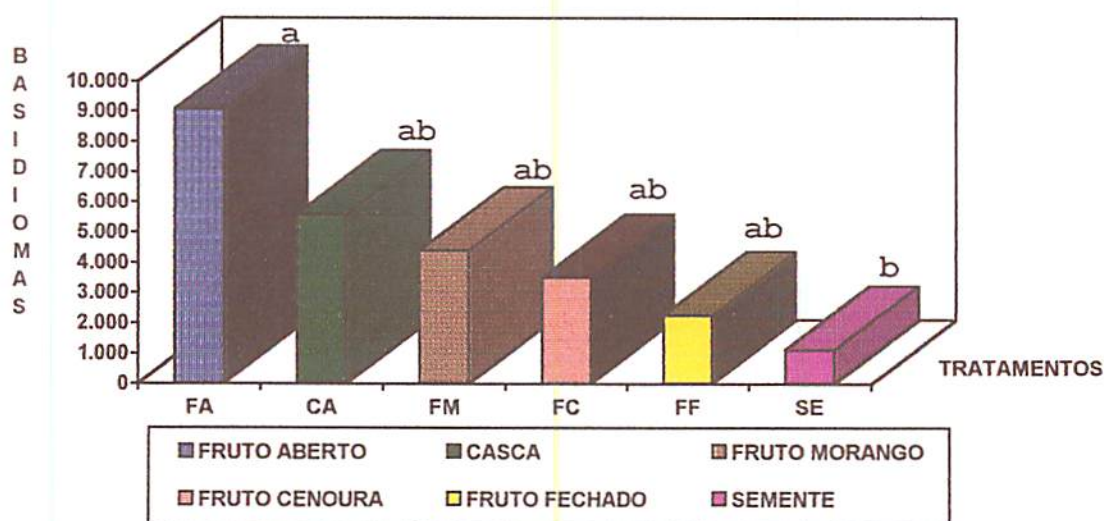
Frutos com sintomas típicos da doença foram coletados na fazenda Caprichosa com elevado nível de infecção, no município de Camacan-Ba. Os tratamentos foram distribuídos sobre a serrapilheira do cacaual com aproximadamente quarenta anos de idade, implantado sob o sistema de cabruca, tendo como sombreamento de topo árvores diversas da Mata Atlântica. Duas vezes por semana, às terças e sextas-feiras, as oito horas,

foram contados e removidos todos os basidiocarpos formados, bem como os seus primórdios, evitando-se recontagens.

A precipitação total mensal, a temperatura máxima, mínima e a umidade relativa foram coletados na estação climatológica do CEPEC, ao lado da quadra i', a qual está situada na latitude 14° 45" S e longitude 39° 13" W.

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados da figura 3.1 expressam a produção total de basidiomas, ao longo dos vinte e quatro meses, em frutos abertos de 9.075, em cascas de 5.612, em frutos morango de 4.393, em frutos cenoura de 3.506, em frutos fechados de 2.252 e em sementes de 1.119 basidiomas. Estes resultados mostram que frutos de cacau infectados por *C. pernicioso*, especialmente os abertos, constituem eficiente fonte de inóculo, contrastando com os resultados encontrados por Costa (1993) em Tomé-Açu(PA) e em Altamira(PA) nos anos de 1986 e 1987. Provavelmente, a pequena quantidade de basidiomas produzidos pelas sementes deve ter sido em função da rápida decomposição e do menor volume deste material.



Médias com a mesma letra são estatisticamente iguais (Tukey, 5%)

FIGURA 3.1 : Produção de basidiomas de *C. pernicioso* em 24 meses no sudeste da Bahia.

Os resultados da comparação das médias mostram que apenas o tratamento sementes diferiu significativamente do tratamento frutos abertos, e os demais tratamentos não diferiram entre si nem de frutos abertos nem de sementes (Tukey, 5%).

A diferença no desenvolvimento de basidiomas entre os tratamentos frutos aberto e fechado, possivelmente deve-se à maior aeração do primeiro em relação ao segundo (Fig. 3.1). Se considerarmos que um único basidiocarpo é capaz de produzir durante 10 horas, cerca de  $5 \times 10^6$  basidiósporos viáveis (Medeiros e Rodrigues, 1974) e que cada basidiósporo tem potencial para causar infecção, não se pode desprezar nem mesmo sementes infectadas, uma vez que durante 24 meses produziram 1.119 basidiomas.

Condições ambientais favoráveis, em especial as chuvas associadas a temperaturas não muito elevadas, foram fundamentais para o desenvolvimento dos basidiomas no período em estudo, sendo a chuva o principal fator na produção de basidiomas (Thorold, 1975; Bastos e Silva, 1980; Andebrhan, Almeida e Fonseca, 1983). Pela análise dos dados climatológicos (Fig. 3.2), nota-se que a distribuição das chuvas, fornecendo umidade constante aos frutos, foi um dos fatores de capital importância para a produção de basidiomas nos frutos infectados. Observa-se também que no sudeste da Bahia não existe um período de seca definido, como ocorre na região Amazônica, centro de origem da vassoura-de-bruxa, razão pela qual Costa (1993) talvez não tenha encontrado formação significativa de basidiomas em frutos infectados dispostos na serrapilheira nos anos de 1986 e 1987 no Pará, onde os frutos de cacau infectados não devem se constituir em importante fonte de inóculo da doença.

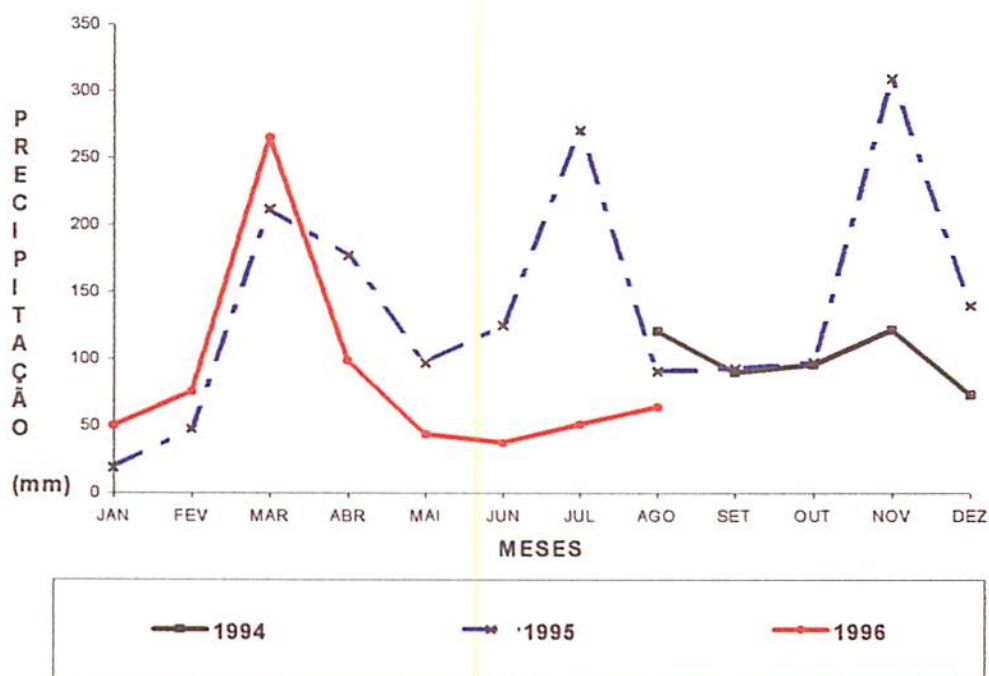


FIGURA 3.2: Totais pluviométricos mensais (mm) no sudeste da Bahia.

Quando se avalia a produção máxima e mínima de basidiomas frente a precipitação mensal (Fig. 3.3), observa-se que a maior produção de basidiomas foi obtida para o tratamento frutos abertos nos meses de junho/95 e outubro/95, quando ocorreram precipitações mais uniformes, atingindo totais mensais acima de 100mm, valor este considerado ideal para a produção de basidiomas (Thorold, 1975; Bastos e Silva, 1980; Andebrhan, 1982; Andebrhan, Almeida e Fonseca, 1983; Almeida e Andebrhan, 1984). Já a menor produção de basidiomas ocorreu nos meses de dezembro/94 a abril/95, e dezembro/95 a maio/96, quando as precipitações totais mensais ficaram abaixo de 100 mm ou acima de 200 mm, condições essas desfavoráveis a produção de basidiomas. Já para o tratamento sementes infectadas (produção mínima de basidiomas), precipitações ótimas para produção de basidiomas (entre 100mm e 200mm/mensais) não refletiram em aumento da produção de frutificações do fungo nas sementes, possivelmente por existir outros mecanismos envolvidos, ainda desconhecidos. Esta é a primeira comprovação científica da frutificação de *C. perniciosus* em sementes de cacau.



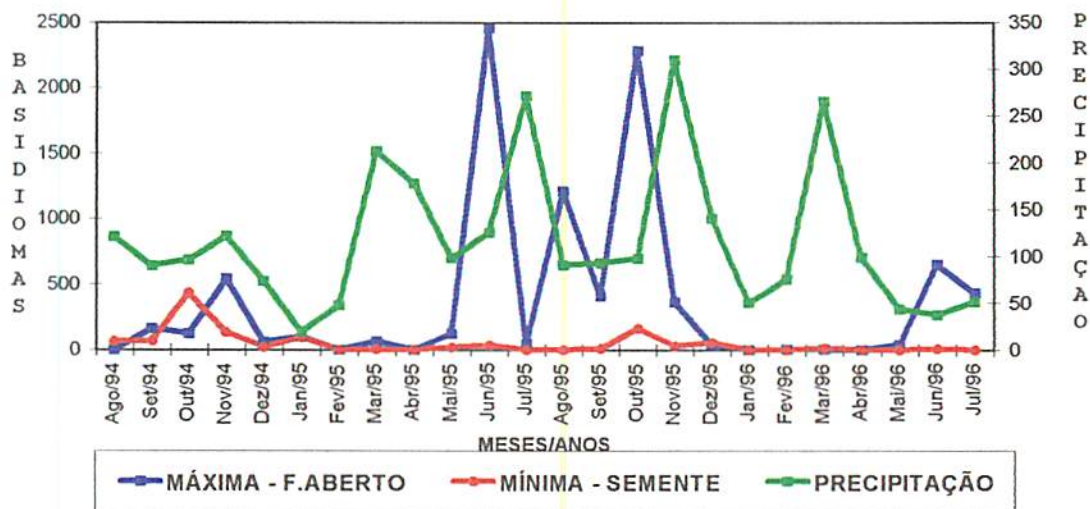


FIGURA 3.3: Produção máxima de basidiomas (f. aberto) e mínima (sementes) em relação à precipitação (mm).

Os dados da figura 3.4 demonstram coincidência dos períodos de maior e menor produção de basidiomas em todos os tratamentos.

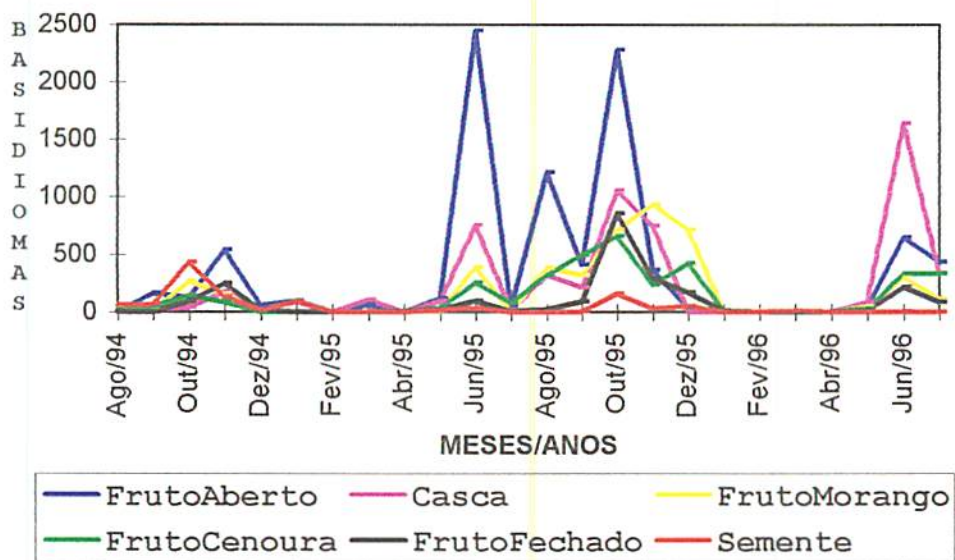


FIGURA 3.4: Produção de basidiomas por tratamento em 24 meses.

Os dados de temperatura coletados no período (Tab. 3.1), revelam que a temperatura mínima não foi inferior a 16°C e a temperatura máxima não foi superior a 33°C, com uma temperatura média em todo o período em torno dos 22 a 23°C, excelente para o desenvolvimento micelial e germinação de basidiósporos de *C. perniciosus* que se situa ao redor dos 25°C (Baker e Holliday, 1957; Bastos, 1982; Rocha e Wheeler, 1985). A umidade relativa média acima de 82% (Tab.3.1) foi sempre favorável ao desenvolvimento do patógeno, suprindo-o constantemente de umidade, impossibilitando a perda de turgidez e o conseqüente murchamento.



TABELA 3.1: Temperaturas máxima, mínima, média e umidade relativa mensal durante 25 meses:

Ano:1994

Meses	T. Máxima	T. Mínima	T. Média	U. Relativa
Agosto	25,8	16,5	20,3	86
Setembro	26,2	17,2	20,9	85
Outubro	28,4	18,5	22,8	83
Novembro	28,3	19,0	22,9	82
Dezembro	29,9	20,8	24,7	86
Médias	27,7	18,4	22,3	84,4

Ano: 1995

Janeiro	32,7	19,7	25,5	78
Fevereiro	33,0	20,9	25,9	78
Março	31,1	21,7	25,6	84
Abril	29,3	21,9	24,6	87
Maio	28,7	21,2	24,0	88
Junho	27,0	18,4	21,6	87
Julho	26,3	18,4	21,2	90
Agosto	26,7	17,5	21,1	87
Setembro	27,3	18,0	21,7	84
Outubro	28,8	19,4	23,3	87
Novembro	28,4	20,7	23,9	85
Dezembro	29,9	21,6	25,8	84
Médias	29,1	19,9	23,7	84,9

Ano: 1996

Janeiro	31,3	20,6	24,9	81
Fevereiro	32,2	20,7	25,5	79
Março	31,1	21,1	25,6	85
Abril	28,8	21,0	24,6	83
Maio	28,8	18,8	22,8	83
Junho	27,3	18,1	21,9	84
Julho	26,9	16,9	20,8	84
Agosto	26,6	17,3	20,8	83
Médias	29,1	19,3	23,4	82,7

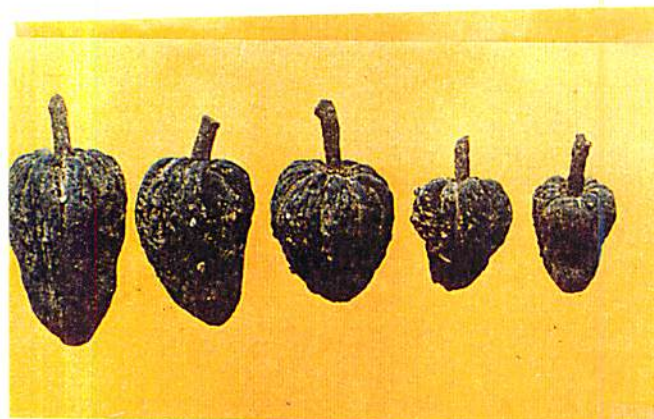
Observa-se (Fig. 3.3) que a partir de novembro de 95 a produção de basidiomas em frutos abertos teve um declínio acentuado, com pequena produção de basidiomas de maio a julho/96, possivelmente devido ao elevado grau de decomposição em que se encontravam todos os tratamentos, conforme se verifica na figura 3.5.



FRUTOS ABERTOS



CASCAS



FRUTOS MORANGO



FRUTOS CENOURA



FRUTOS FECHADOS



SEMENTES

FIGURA 3.5: Estado de decomposição dos tratamentos em agosto de 1996, vinte e quatro meses após início das observações.

### 3.4 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi desenvolvido este trabalho e baseado nos resultados obtidos, conclui-se que:

- Frutos e sementes de cacau infectados por *C. perniciosa* no sudeste da Bahia são importantes fontes de inóculo da vassoura-de-bruxa;
- As condições climáticas do sudeste da Bahia possibilitaram ao patógeno desenvolver-se abundantemente em frutos de cacau infectados;
- A velocidade de decomposição dos frutos durante 24 meses não foi suficientemente rápida para impedir a produção elevada de basidiomas.

### 3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, L. C. de; ANDEBRHAN, T. **Investigações sobre vassoura-de-bruxa do cacauero (*Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer) na Amazônia brasileira.** Belém: CEPLAC/DEPEA/COPES, 1984. 40p.
- ANDEBRHAN, T. Epidemiologia da vassoura-de-bruxa. In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Informe Técnico-1982.** Belém, CEPLAC/DEPEA/COPES, 1982. p.48-61.
- ANDERBRHAN, T. Relação entre idade das vassouras vegetativas e produção de basidiocarpos de *Crinipellis pernicioso* e as implicações no controle fitossanitário da doença. In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Informe de Pesquisas-1987.** Belém, CEPLAC/DEPEA/COPES, 1987. p.85-87.
- ANDEBRHAN, T.; ALMEIDA, L. C. de; FONSECA, S. E. A. **Doenças do cacauero.** Belém: CEPLAC/DEPEA/COPES, 1983. 91p.
- ARANZAZU, F. Alguns aspectos de la biologia de *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer en la region de Uraba. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DE INVESTIGACION EN CACAO, 8, Cartagena, 1981. **Anais...**Cartagena: OICC, 1981. p.323-328.

- BAKER, R. E. D.; CROWDY, S. H. **Studies in the witches' broom disease of cocoa caused by *Marasmius perniciosus* Stahel. I.** Introduction, symptoms and etiology. Port-of-Spain: ICTA. 1943. 28p. (Memoir, 7).
- BAKER, R. E. D.; HOLLIDAY, P. **Witches' broom disease of cacao (*Marasmius perniciosus* Stahel).** Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1957. 42p. (Phytopathological Paper, 2).
- BASTOS, C. N. Ensaio "in vitro" de fungicidas no crescimento e germinação de esporos de *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer. In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Informe de Pesquisa-1986.** Belém, CEPLAC/DEPEA/COPEPES, 1986. p.56-58.
- BASTOS, C. N. **Epifitiologia, hospedeiros e controle de vassoura-de-bruxa *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer.** Ilhéus: CEPLAC/CEPEC, 1990. 21p. (Boletim Técnico, 168).
- BASTOS, C. N. Influência da temperatura na liberação e germinação de basidiósporos de *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer. In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Informe Técnico-1980.** Ilhéus, CEPLAC/CEPEC, 1982. p.307-308.
- BASTOS, C. N.; SILVA, H. M. **Doenças do cacaueiro na Amazônia Brasileira.** Belém: CEPLAC/DEPEA/COPEPES, 1980. 42p. (Boletim Técnico, 2)
- COSTA, J. C. do B. **Progresso da vassoura-de-bruxa em órgãos vegetativos do cacaueiro em Altamira e Tomé-Açu, Pa., Viçosa:** UFV, 1993. 52p. (Dissertação - Mestrado em Fitopatologia).

- HOLLIDAY, P. **Witches' broom disease of Cocoa (*Marasmius perniciosus*, Stahel)**. London: H. M. Stationery office. 1952. 8p. (Colonial, 286).
- LUZ, E.D.M.N.; BEZERRA, J.L.; OLIVEIRA, M. L.; RESENDE, M.L.V. **Doenças do cacauero**. In: ZAMBOLIM, L. e VALE, F.X.R. (Ed.) **Controle de doenças das principais culturas do Brasil**. Viçosa: UFV. Imprensa Universitária, 1997. n.p.
- MEDEIROS, A. G. de; RODRIGUES, C. H. **Liberção e longevidade de basidiósporos de *Marasmius perniciosus***. In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Informe Técnico-1974**. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC, 1974. p.62.
- RAMOS, G. H. **Enfermidades del Cocoa. La escoba de bruja**. **El Agricultor Venezolano**, Caracas, v.24, n.2, p.21-27, 1960.
- ROCHA, H. M.; WHEELER, B. J. **Factors influencing the production of basidiocarps and the deposition and germination of basidiospores of *Crinipellis perniciosus*, the causal fungus of witches' broom on cocoa (*Theobroma cacao* L.)**. **Plant Pathology**, Oxford, v.34, p.319-328, Sept.1985.
- RUDGARD, S. A.; BURTLEY, D. R. **Witches' broom Diseases in Rondônia-Brasil: pod infection in relation to pod suscetibility, wetness, inoculum and phytosanitation**. **Plant Pathology**, Oxford, v.36, n.4, p.515-522, Dec.1987.
- THOROLD, C. A. **Diseases of Cocoa**. Oxford: Clarendon Press, 1975. 425p.



#### 4 Sensibilidade "in vitro" de *Crinipellis perniciososa* (Stahel) Singer a quatro compostos sulfurados.

##### RESUMO

Em condições de laboratório no Departamento de Fitossanidade da UFLA avaliou-se "in vitro" a sensibilidade de *Crinipellis perniciososa* aos compostos sulfurados: enxofre elementar (100% de S), Thiovit (80% de S), Dithane M-22 (36,68% de S) e N-butilamino etanotiol cloridrato (18,91% de S), nas dosagens de 0, 1, 10 e 100 ppm, através do crescimento micelial do fungo. Placas de Petri de 9 cm de diâmetro dispostas inteiramente ao acaso, em três repetições, receberam um disco de 0,7 cm de diâmetro obtido das bordas de cultura pura com seis dias de crescimento a temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Leituras diárias foram realizadas até a tomada de toda a superfície do meio pelo fungo nas placas testemunha. Observou-se inibição do crescimento micelial no Dithane M-22 e N-butilamino, e crescimento igual ao da testemunha para o enxofre elementar e Thiovit.

Avaliou-se também a sensibilidade de *C. perniciososa* aos mesmos compostos sulfurados em 8 dosagens, através da inibição da germinação de basidiósporos em lâminas escavadas mantidas em câmara de crescimento a  $25^{\circ}\text{C}$  durante 5 horas. Na menor dosagem, a porcentagem média de germinação foi de 85,25% e na maior não houve germinação para o Dithane M-22 e butilamino.

Palavras chave: Vassoura de bruxa, *Crinipellis perniciososa*, compostos sulfurados.

#### 4 Sensibility "in vitro" of *Crinipellis pernicioso* (Sthael)

Singer to four sulfurous compounds.

#### ABSTRACT

The in vitro sensibility of *Crinipellis pernicioso* to four sulfurous compounds was assessed in the plant pathology laboratories of UFLA - MG measuring the mycellial growth of the fungus in BDA plates with basic sulfur (100% of S), Thiovit (80% of S), Dithane M-22 (48,35% of S), and N-butylamino ethanotiol chlorohydrate (18,91% of S), on doses of 0, 1, 10 and 100 ppm. Each parcel consisted of a 9 cm diameter Petri Plate with a 0,7 cm disc of a pure culture of *C. pernicioso* incubated in a growth chamber at 25°C ± 2°C. The experimental design was a completely randomized design with three replications. The colonies diameter was mensured daily until the colonies cover the entire surface of the medium in the contol plates (0 ppm). Dithane M-22 and N-butylamino inhibited the micellial growth of *C. pernicioso*, while basic sulfur and Thiovit showed similar growth to the contol plates.

The *C. pernicioso* sensibility to these compounds sulfurous, in the eight doses, was also assessed through the inhibition of the basidiospores' germination on concave slides maintained in growth chamber at 25°C for 5 hours. In the smallest dosage, the average percentage of germination was 85,25%, and in the high one there was no basidiospores germination in the presence of Dithane M-22 and butylamino.

Key words: Witches' broom, *Crinipellis pernicioso*, sulfurous compounds.



#### 4.1 INTRODUÇÃO

Segundo Zambolim e Chaves (1989) o enxofre elementar é o mais antigo dos pesticidas e ainda é vendido em grande quantidade para o controle de doenças de plantas. Forsyth, em 1802, citado por Zambolim e Chaves (1989), foi o primeiro a recomendar a aplicação do enxofre elementar no controle do míldio pulverulento de árvores frutíferas, em mistura com cal.

Nakayama (1995) descreveu que o enxofre pode ser absorvido pelas plantas de duas formas: íon sulfato ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) na forma inorgânica, sendo reduzido e incorporado aos aminoácidos, proteínas, coenzimas e outros compostos; e a incorporação deste à estrutura orgânica sem a redução, como sulfolipídios ou polissacarídeos.

Oliveira (1995) realizou estudos da eficácia de 10 fungicidas protetores na inibição do crescimento micelial "in vitro" de *C. perniciosus*, tendo os protetores óxido cuproso (Cobre Sandoz), hidróxido de cobre (Garant) e oxicloreto de cobre (Funguran), sido selecionados para serem avaliados em condições de campo.

Edgington, Khew e Barron (1971) estabeleceram patamares de toxidez para compostos considerados fungicidas: substâncias com  $\text{DL}_{50} \leq 1$  ppm, são considerados altamente fungitóxicos; com  $\text{DL}_{50}$  entre 1 e 50 ppm, moderadamente fungitóxicos; e com  $\text{DL}_{50} > 50$  ppm, não fungitóxicos.

Ramsden (1995) e Resende et al. (1996) estudaram o envolvimento de taninos condensados e fitoalexinas na resistência do cacauzeiro à murcha de *Verticillium* (*Verticillium*

*dahliae* Kleb), e constatarem quatro novas fitoalexinas em cacauzeiro, sendo duas (ácido arjunólico e um composto a base de enxofre elementar) mais abundantes e tóxicos a conídios de *V. dahliae* "in vitro", o composto a base de enxofre elementar foi dentre todas a substância mais tóxica à germinação de conídios de *Verticillium*. Com base nesses resultados, e diante da ausência de dados sobre o efeito do enxofre ao *C. pernicioso*, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a sensibilidade de *C. pernicioso* a quatro compostos sulfurados.

#### 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Três isolados de *C. pernicioso* foram obtidos da micoteca do CEPEC, repicados para BDA em placas de Petri de 9 centímetros de diâmetro e transportados para o Departamento de Fitossanidade da UFLA em Lavras - MG. Os isolados estudados são originados dos principais municípios produtores de cacau do sudeste da Bahia, onde a doença é mais severa: Camacan, Itabuna e Uruçuca.

No laboratório da Clínica Fitossanitária da UFLA em Lavras-MG, os isolados foram repicados para placas de Petri contendo meio BDA e incubadas a 25°C durante 6 dias. Ao meio BDA fundente à 45-50°C, adicionou-se os compostos sulfurados, previamente pesados, distribuindo-o em seguida em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Após a solidificação do meio, foi implantado no centro de cada placa um disco de micélio de 0,7 cm de diâmetro, retirado da borda de cultura de *C. pernicioso*, previamente preparadas, sendo as placas, posteriormente, incubadas à 25°C em câmara de crescimento, no escuro total.

Foram avaliados inicialmente cinco compostos sulfurados: enxofre elementar, Thiovit, Dithane M-22, N-butilamino etanotiol cloridratado (daqui para frente referido como N-butilamino) e ácido N-propilamino octanotilssulfúrico, em quatro dosagens de enxofre (S) (0, 1, 10 e 100 ppm). O estudo foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com três repetições. O composto ácido N-propilamino octanotilssulfúrico

foi descartado em função de ser solubilizado somente em metanol, o qual mostrou-se letal ao micélio de *C. pernicioso*. As leituras tiveram início quarenta e oito horas após a montagem do experimento, com intervalos de vinte e quatro horas, avaliando-se o diâmetro das colônias em centímetros nos dois sentidos perpendiculares.

A avaliação da germinação dos basidiósporos foi realizada com material coletado no Setor de Fitopatologia do Centro de Pesquisas do Cacau da CEPLAC na Bahia, que se encontrava acondicionado em tubos plásticos com capacidade de 2 ml cada e armazenado em nitrogênio líquido a uma temperatura de aproximadamente  $-196^{\circ}\text{C}$ . Os basidiósporos apresentaram-se com germinação média em torno de 80%, e trabalhou-se com concentrações de  $10^5$  e  $10^6$  basidiósporos/ml. Para ajustar a concentração final em 160 ppm (maior dosagem) da solução química de cada produto na lâmina escavada, uma alíquota de 40  $\mu\text{l}$  de uma suspensão estoque do produto a 200 ppm foi adicionada a 10  $\mu\text{l}$  da suspensão de basidiósporos do fungo, sendo as demais concentrações obtidas por diluições sucessivas da suspensão estoque (200 ppm). As lâminas escavadas com cada um dos quatro compostos sulfurados nas dosagens de 160, 80, 40, 20, 10, 5, 2.5 e 1.25 ppm, foram colocadas sobre papel de filtro umedecido dentro de placas de Petri, com três repetições para cada dosagem, sendo em seguida colocadas para incubação em câmara de crescimento a  $25^{\circ}\text{C}$  durante 5 horas. Foi realizado a leitura de 4 campos por lâmina escavada, obtendo-se a porcentagem média de inibição da germinação dos basidiósporos de *C. pernicioso*, para cada fungicida em cada uma das 8 dosagens.

Para obtenção das eletrofotomicrografias de basidiósporos submetidos ao tratamento com Dithane M-22 (160 ppm) e água (testemunha), procedeu-se a fixação do material com adição de 20 ml da suspensão de basidiósporos (estoque final disponível) em glutaraldeído 2.5% em tampão de cacodilato de sódio 0,05 M, pH 7,2 e sacarose 0,025 M, durante 2,5 horas a  $4^{\circ}\text{C}$ . Em seguida, o material foi lavado 3 vezes durante 15 minutos cada, com a solução tampão (cacodilato de sódio 0,05 M, pH 7,2) e para

completar a fixação foi usado o tetróxido de ósmico 1% no mesmo tampão, durante 1,5 horas, sendo em seguida lavado com água destilada 2 vezes durante 10 minutos.

Para a contrastação em bloco, o material foi colocado em acetato de uranila 0,5% em água durante toda a noite. Em seguida, foi desidratado em gradientes de acetona: 10 minutos em acetona a 30%, 50% e 75%; 10 minutos por 2 vezes em acetona 90% e finalmente 20 minutos por 3 vezes em acetona 100%.

Em seguida foi realizada a infiltração do material em resina Epon. Inicialmente foi colocado em mistura 1:1 (Epon+acetona) durante 2,5 horas, em seguida transferido para uma mistura 2:1 (Epon+acetona) durante mais 2,5 horas, e em resina Epon pura durante 48 horas a 4°C. Em cada troca de substâncias, os materiais foram centrifugados durante 5 minutos a 2.000 rpm para a agregação dos basidiósporos. O emblocamento final foi realizado colocando-se o material em Epon puro dentro de cápsulas durante 24 h a 60°C.

Os cortes ultra-finos das cápsulas contendo os basidiósporos foram realizados através de um ultramicrotomo REICHERT-JUNG e colocados sobre grades de cobre. Essas grades foram contrastadas com acetato de uranila 3% em água e citrato de chumbo; em seguida levadas ao microscópio eletrônico de transmissão EM 109-Zeiss (UFLA) para o exame dos cortes ultra-finos e obtenção das eletrofotomicrografias.

#### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação da sensibilidade do micélio de *C. pernicioso* aos quatro compostos sulfurados, a tabela 4.1 mostra que na dosagem de 1 ppm não houve inibição do crescimento para nenhum dos compostos avaliados. Na dosagem de 10 ppm os mesmos compostos demonstraram pequena ação inibidora sobre o crescimento micelial dos isolados de Itabuna e Camacan, mas não sobre o isolado de Uruçuca. Na dosagem de 100 ppm os dois compostos reduziram drasticamente o crescimento micelial dos três isolados, similarmente ao que foi relatado por Bastos

(1986), que conseguiu com a calda bordalesa total inibição do crescimento micelial do patógeno a 50 ppm. Thiovit mostrou na mais alta dosagem pequena redução de crescimento, apenas para o isolado de Uruçuca a 10 ppm.

TABELA 4.1: Crescimento micelial (Cm) médio<sup>(1)</sup> de *C. pernicioso*, após 15 dias submetidos a 4 compostos sulfurados, em 3 dosagens, para 3 isolados.

Compostos	Combinação: Dose/Isolado		
	Uruçuca	Camacan	Itabuna
		1 ppm	
Enxofre	8,30Aa	8,30Aa	8,30Aa
Thiovit	8,30Aa	8,30Aa	8,30Aa
Dithane	8,30Aa	8,30Aa	8,30Aa
Butilamino	8,30Aa	8,10Aa	8,30Aa
		10 ppm	
Enxofre	8,30Aa	8,30Aa	8,30Aa
Thiovit	8,30Aa	8,20Aa	8,30Aa
Dithane	8,10Aa	6,50Bb	7,70Bb
Butilamino	7,70Aa	5,70Bb	7,00Bb
		100 ppm	
Enxofre	8,30Aa	8,30Aa	7,90Aa
Thiovit	6,60Bb	8,10Aa	7,90Aa
Dithane	0,00Ca	0,80Ba	0,30Ba
Butilamino	0,00Ca	0,00Ca	0,30Ba

<sup>(1)</sup>Médias seguidas de mesma letra maiúscula, na coluna, e da mesma letra minúscula na linha, não diferem pelo teste de Tukey ( $\alpha=5\%$ ).

Pelas figuras 4.1 e 4.2 é fácil visualizar que houve variação na sensibilidade dos 3 isolados de acordo com a dosagem, podendo os compostos enxofre elementar e thiovit serem considerados, segundo os critérios estipulados por Edgington, Khew e Barron (1971), como não fungitóxicos, uma vez que na

dosagem de 100 ppm (> 50 ppm) estes compostos não inibiram 50% do crescimento micelial.

O enxofre elementar não foi capaz de inibir o crescimento micelial de *C. perniciosus* "in vitro". Observou-se que em BDA, este composto não se solubilizou por completo, ocorrendo formação de pequenos grânulos, indicativos de uma possível precipitação deste no fundo das placas de Petri, prejudicando assim o contato do composto com o micélio do fungo na superfície do meio.



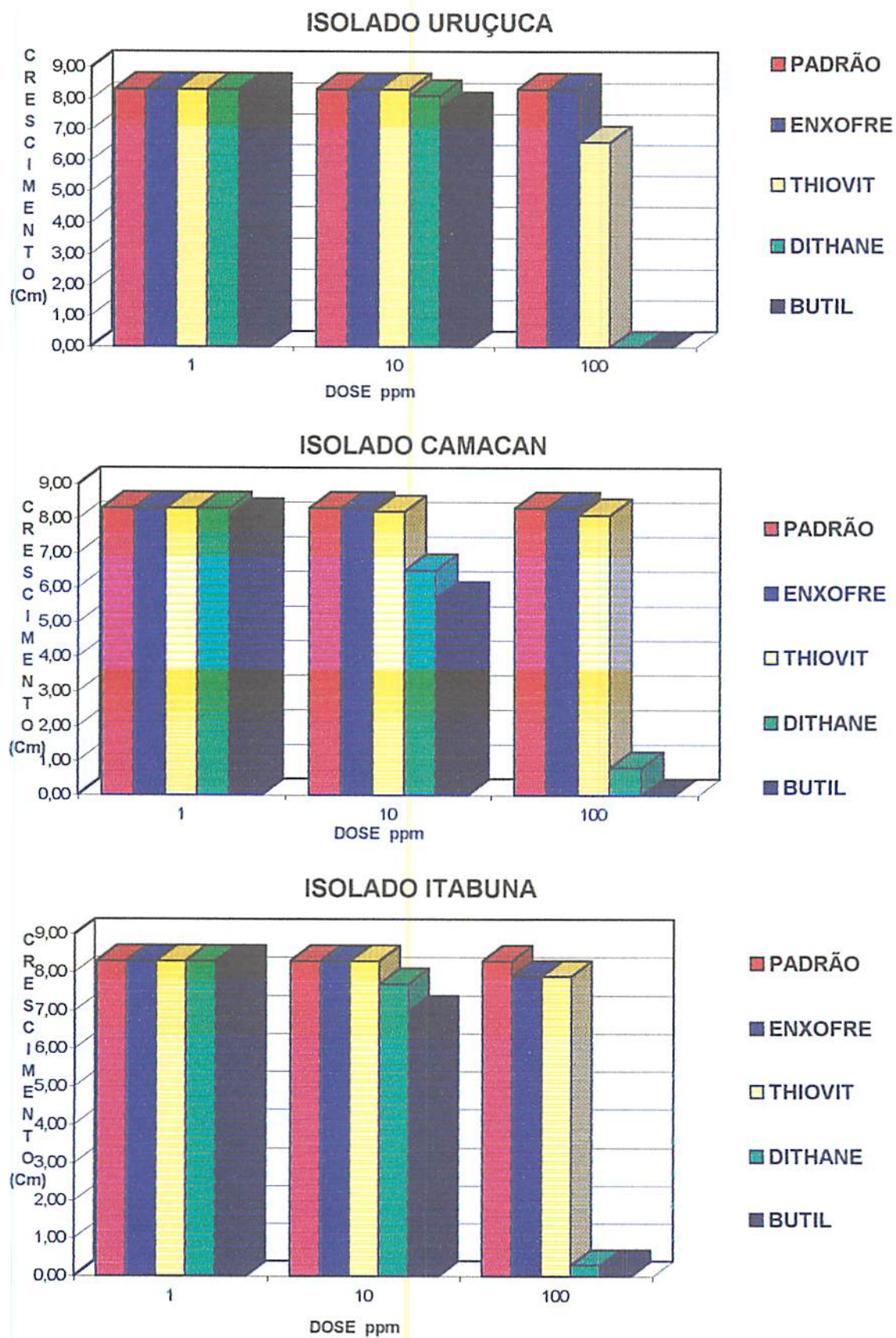


FIGURA 4.1: Crescimento micelial médio em Cm de *C. perniciosus*, após 15 dias.



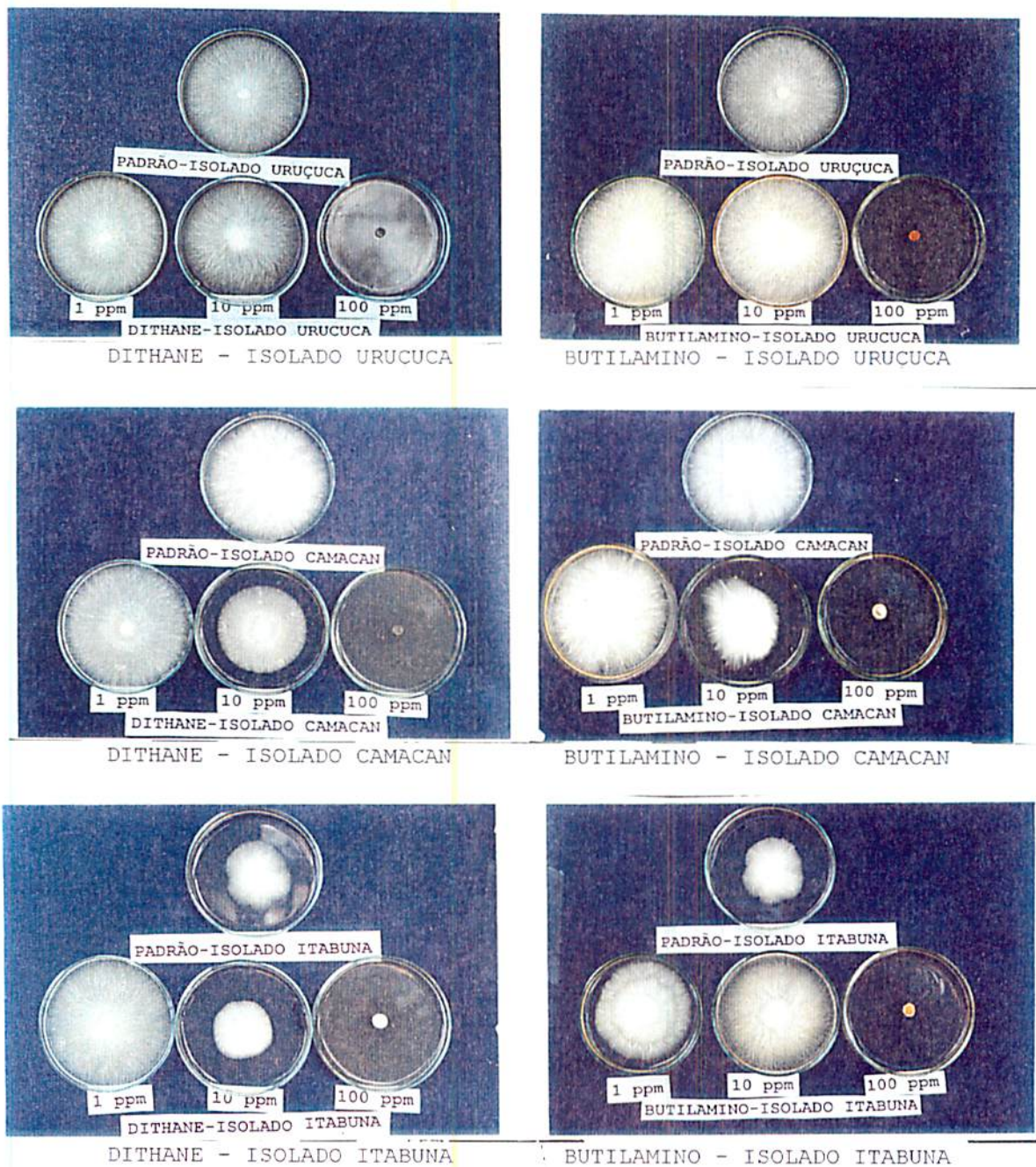


FIGURA 4.2: Sensibilidade do micélio de três isolados de *C. perniciosus* quando submetidos ao Dithane M-22 e ao butilamino.



A avaliação da sensibilidade pela germinação de basidiósporos de *C. perniciosus* demonstra que na dosagem de 160 ppm, não houve germinação quando na presença de Dithane M-22 (Fig. 4.3). Para o Thiovit e butilamino na dosagem de 160 ppm os basidiósporos germinaram muito pouco, cerca de 20%. O Enxofre elementar foi dos 4 compostos sulfurados o que causou menor redução na germinação dos basidiósporos, reduzindo aproximadamente 40% da germinação na dosagem de 40 ppm.

A quantidade de produto necessário para reduzir em 50% a germinação dos basidiósporos (DL 50), para o Dithane M-22 e Thiovit foram bem menores (entre 10 e 20 ppm) quando comparado com a dosagem necessária para o butilamino (entre 40 e 80 ppm), enquanto que o enxofre não atingiu os 50% de inibição em nenhuma das dosagens avaliadas. O Dithane M-22 na dosagem de 2,5 ppm causou uma redução da germinação dos basidiósporos bem próximo de 50%. Estes resultados demonstram que os compostos sulfurados avaliados provavelmente apresentam menor eficiência sobre basidiósporos que a calda bordalesa avaliada por Bastos (1986), a qual inibiu a germinação de basidiósporos a 1 ppm.

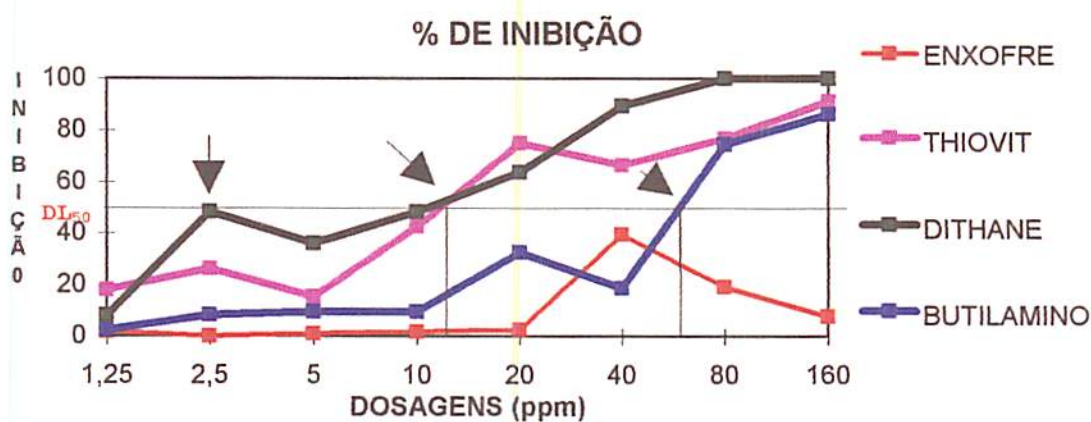


FIGURA 4.3: Inibição da germinação de basidiósporos de *C. perniciosus* na presença dos 4 compostos sulfurados, em relação a testemunha.

Os resultados encontrados para o enxofre elementar sobre a germinação de basidiósporos de *C. perniciososa* são contrários aos encontrados por Resende et al. (1996), quando compostos a base de enxofre elementar demonstraram maior efeito tóxico, reduzindo sensivelmente a germinação dos conídios de *Verticillium*. Isso comprova a ocorrência especificidade de fungicidas à diferentes classes de fungos.

Observações ao microscópio ótico (aumento de 1.000 X) da germinação dos basidiósporos de *C. perniciososa*, submetidos a 160 ppm dos 4 compostos sulfurados, evidenciam que os basidiósporos são sensíveis a todos os compostos (Fig. 4.4). Porém nesta dosagem, os resultados da porcentagem média de inibição da germinação dos basidiósporos mostraram diferenças entre os compostos, conforme demonstrado na figura 4.3.



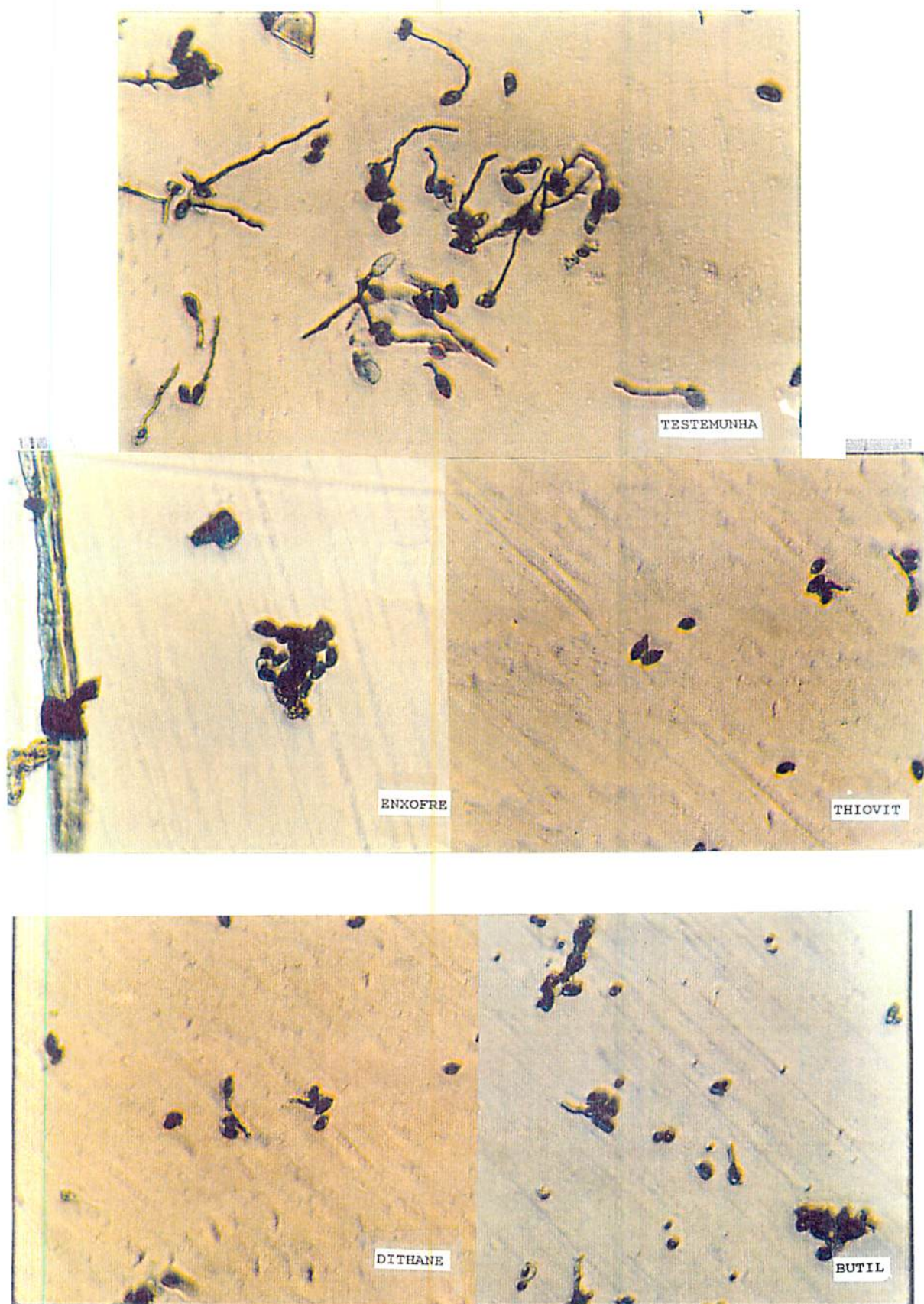


FIGURA 4.4: Basidiósporos de *C. perniciosus* germinados em água e em 160 ppm dos compostos sulfurados.

A figura 4.5 demonstra uma visão morfológica de um basidiósporo de *C. pernicioso*, vista ao microscópio eletrônico de transmissão. Nesta figura, podemos observar a parede(P) do basidiósporo e grânulos de gordura(G) no seu interior.

Segundo Juliatti (1987), os fungicidas atualmente em uso agem diretamente sobre o fungo, com capacidade de penetração e, possivelmente, acumulando-se em locais de atividade vital, situados na superfície da célula ou dentro do protoplasma, onde produzem interferências bioquímicas letais. O objetivo desta dissertação não foi avaliar os mecanismos de interferência dos compostos sulfurados no metabolismo dos basidiósporos, entretanto estudos específicos neste sentido viriam elucidar alterações bioquímicas em organelas do basidiósporo.

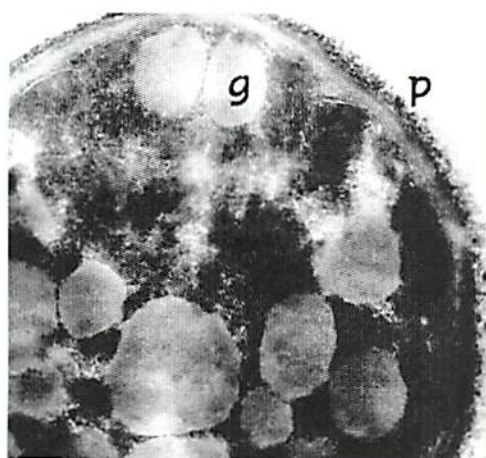
Na figura 4.6 (A) podemos observar alterações morfológicas na parede(P) do basidiósporo de *C. pernicioso* tratado com o fungicida Dithane M-22 (160 ppm), enquanto que na figura 4.6 (B) não foram encontradas alterações deste tipo. Esses resultados parecem estar de acordo com Juliatti (1987) quando afirma que os fungicidas atualmente em uso podem agir sobre a superfície do basidiósporo (parede).



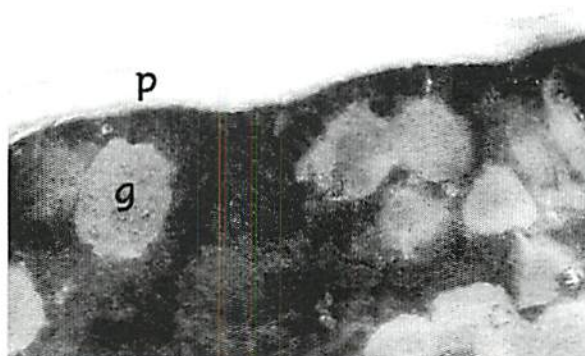
Aumento = 11.000 X

FIGURA 4.5: Basidiósporo de *C. perniciosus* visto ao microscópio eletrônico de transmissão.

- G - Grânulo de gordura;
- P - Parede do basidiósporo.



A: aumento = 40.000 X



B: aumento = 40.000 X

FIGURA 4.6: Detalhe da parede do basidiósporo de *C. perniciososa*.

A: Parede alterada (Dithane M-22).

B: Parede intacta (Testemunha).



#### 4.4 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi desenvolvido este trabalho e com base nos resultados obtidos, conclui-se que:

- A melhor inibição do crescimento micelial de *C. pernicioso* foi obtido com Dithane M-22 e butilamino;
- Nas presentes condições de estudo o enxofre elementar não inibiu o crescimento micelial nem a germinação de basidiósporos de *C. pernicioso*;
- Existe variação na sensibilidade dos isolados aos compostos testados.

## 4.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASTOS, C. N. Ensaio "in vitro" de fungicidas no crescimento e germinação de esporos de *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer. In: COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Informe de pesquisas-1986**. Belém, CEPLAC/DEPEA/COPEP, 1986. p.56-58.
- EDGINGTON, L.V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. *Phytopathology*, St Paul, v.61, n.1, p.42- 44. Jan.1971.
- JULIATTI, F. C. **Tópicos do curso de fitopatologia geral**. Uberlândia: UFU, 1987. 426p.
- NAKAYAMA, L. H. I. **Influência da nutrição mineral na manifestação dos sintomas da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer) em cacauero**. Piracicaba: ESALQ, 1995. 76p. (Tese - Doutorado em Agronomia).
- OLIVEIRA, M. L. de. **Screening de fungicidas sistêmicos e antiesporulantes para o controle da vassoura-de-bruxa**. Ilhéus: CEPEC, 1995. 2p.(Relatório Anual de Pesquisas).
- RAMSDEN, J. D. **Resistance of cocoa (*Theobroma cacao* L.) to wilt caused by *Verticillium dahliae* Kleb: Studies on phytoalexin and pathogen distribution**. Bath: University of Bath, 1995. 55p. (Project report for the honours degree in Applied Biology).



RESENDE, M. L. V.; COOPER, R. M.; FLOOD, J.; ROWAN, M. G.;  
BEALE, M. H.; RAMSDEN, J. D. Novel phytoalexins including  
elemental sulphur in the resistance of cocoa (*Theobroma cacao*  
L.) to *Verticillium* wilt (*Verticillium dahliae* Kleb).  
*Physiological and Molecular Plant Pathology*, Bath, v.48, n.5,  
p.347-359, 1996.

ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G. M. *Fungicidas da primeira geração*.  
Brasília: Abeas, 1989. 114p.

## 5 DISCUSSÃO GERAL

Observações de campo de extensionistas da CEPLAC e produtores rurais do sudeste da Bahia, indicavam que frutos de cacau infectados por *C. perniciosa* nesta região teriam importância como fonte de inóculo do patógeno, diferentemente do que ocorre na região Amazônica, centro de origem da doença, sendo estas observações confirmadas e quantificadas no presente trabalho. As chuvas bem distribuídas no sudeste da Bahia, quando comparado com a região norte do Brasil, que possui um período de seca bem definido, contribuem de forma decisiva para o desenvolvimento de basidiomas de *C. perniciosa* em frutos de cacau.

Através das avaliações sobre o crescimento micelial, o isolado de Uruçuca demonstrou ser o menos sensível aos compostos com ação inibitória (Dithane M-22 e butilamino), enquanto que o isolado de Itabuna comportou-se como o mais sensível, revelando ligeira redução do crescimento micelial a 10 ppm dos compostos Dithane M-22 e butilamino. Na dosagem de 100 ppm os compostos Dithane M-22 e butilamino reduziram drasticamente o crescimento micelial dos 3 isolados.

Considerando que basidiósporos são as únicas estruturas infectivas de *C. perniciosa*, e que são altamente sensíveis a fungicidas e outros produtos químicos, seria recomendável avaliar a relação custo/benefício dos fungicidas recomendados atualmente para o controle da vassoura-de-bruxa e produtos alternativos de menor custo de aquisição.