

AVALIAÇÃO DE PROGÊNIES DE CLONES DE CACAUEIROS (SÉRIE CP) QUANTO À RESISTÊNCIA A *Moniliophthora perniciosa*

Carolina Santos Benjamin¹, Edna Dora M. N. Luz², Wilson Reis Monteiro², Lindolfo P. Santos Filho², Wedisson Oliveira Santos³

¹Universidade Estadual de Santa Cruz, km 16, Rod. Ilhéus-Itabuna, 45650-000, Ilhéus, Bahia, Brasil, carolinabenjamin_1@hotmail.com, ²CEPLAC/CEPEC/, Caixa Postal 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil, ³Universidade Federal de Viçosa, Avenida Peter Henry Rolfs. Campus Universitário, 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

O programa de melhoramento genético do cacaueiro (PMGC) conduzido pelo Centro de Pesquisas do Cacau (Cepec) tem como uma das estratégias desenvolver novas populações melhoradas, buscando associar caracteres desejáveis por meio da acumulação de genes relacionados à resistência do cacaueiro à vassoura-de-bruxa (VB), principal doença dessa cultura no Brasil. Visando identificar progênies resistentes e genitores com alta capacidade geral de combinação (CGC), 15 progênies foram avaliadas através de inoculação em casa-de-vegetação com 1×10^5 basidiósporos mL^{-1} de *Moniliophthora perniciosa*. As plântulas foram oriundas de sementes de polinização aberta, de 13 clones da série CP, constituindo-se assim, famílias de meios-irmãos. De cada progênie foram inoculadas 56 plântulas, aos trinta dias de idade, e os sintomas foram avaliados diariamente até o 30º dia e aos 60 dias após a inoculação, determinando-se a percentagem de plântulas infectadas dentro de cada progênie. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso com 15 tratamentos (13 clones + 2 testemunhas - SCA6 e ICS1) e 4 repetições de 14 plântulas cada, sendo o experimento repetido em duas épocas. Entre as 13 progênies, apenas a do clone CP 195 (TSH1188 x CCN51) mostrou-se suscetível, embora a porcentagem média de infecção tenha sido relativamente baixa (6,3 %). Progênies dos clones CP 84, 149, 421, 302, 306, 300, 309 e 431, apresentaram níveis de infecção inferiores à média, demonstrando a eficiência da seleção para resistência quando se realizou o intercruzamento de materiais com diferentes níveis de resistência à VB.

Palavras-chave: *Theobroma cacao* L., vassoura-de-bruxa, melhoramento genético, resistência.

Evaluation of open pollinated progenies of cacao clones (series CP) for resistance to *Moniliophthora perniciosa*. The cacao breeding program (PMGC) conducted by the Cacao Research Center (Cepec) has as one of its strategies to develop new improved populations, aiming to add desirable traits and to accumulate genes related to resistance to witches' broom (WB) the major cacao disease in Brazil. Aiming to identify resistant progenies and parents with high general combining ability (CGC), 15 progenies were evaluated by artificial inoculation using a suspension of 1×10^5 mL^{-1} basidiospores of *M. perniciosa*. Seedlings were obtained from open pollinated seeds of 13 selected clones of the CP series, considered as half-sib families. From each progeny 56 thirty day-old seedlings were inoculated. Symptoms were assessed daily until day 30 and at 60 days after inoculation. The percentage of infected plants within each progeny was determined. The experimental design was randomized blocks with 15 treatments (13 clones + 2 controls - ICS1 and SCA6) and 4 replicates of 14 plants each. The experiment was repeated twice. Among the 13 progeny tested only the one of clone CP 195 (TSH1188 x CCN51) was susceptible, although the average percentage of infection in plants inoculated within the entire experiment was relatively low (6.3%). The infection levels of progenies of clones CP 84, 149, 421, 302, 306, 300, 309 and 431 were below the average of the experiment, demonstrating the effectiveness of selection for resistance when accomplishing the intercrossing of clones with different levels of resistance to WB.

Key words: *Theobroma cacao* L., witches' broom disease, plant breeding, resistance.

Introdução

O cacauzeiro é uma espécie perene que se desenvolve de forma espontânea nas planícies úmidas da América do Sul e Central (Cuatrecasas, 1964). Dentro do gênero, é a espécie economicamente mais explorada e um dos mais importantes cultivos perenes dos trópicos, sendo cultivado em todos os continentes (Purdy e Schmidt, 1996).

O maior impedimento à produção de cacau no Brasil é causado pelas doenças fúngicas e, dentre elas, a vassoura-de-bruxa (VB) é a mais importante (Almeida e Andebrhan, 1987; Luz et al., 1997), sendo causada pelo fungo basidiomicota, *Moniliophthora perniciosa* (ex *Crinipellis*) (Aime e Phillips-Mora, 2005). No Brasil, esta enfermidade é conhecida desde 1898, na Região Amazônica, com o nome de lagartão (Silva, 1987). Foi registrada pela primeira vez no Estado da Bahia em 1989, tendo representado um verdadeiro desastre para a produção cacauzeira do Estado, que até então correspondia a aproximadamente 84,5 % da produção nacional e 15 % da mundial (Pereira et al., 1989; Kimati et al., 1997).

O controle da VB envolve o uso integrado de técnicas culturais, aplicação de fungicidas e de produtos biológicos, como o Tricovab e principalmente o uso de cultivares resistentes (Luz et al., 2006; Oliveira e Luz, 2005). A resistência à doença é um componente essencial do programa de manejo integrado da VB. Uma das principais e das mais importantes fases do melhoramento para resistência a doenças é a identificação das fontes de resistência. No cacauzeiro, como em outras culturas, é desejável que tais fontes sejam encontradas em genótipos que possam ser explorados comercialmente por conterem características genéticas desejáveis e adequadas ao sistema de cultivo tradicionalmente utilizado na região (Rios-Ruiz, 2001). Muito da variabilidade encontrada na cultura, incluindo genes de resistência, provém da América do Sul, especialmente da bacia do Amazonas, suposto centro de origem da espécie (Paulin e Eskes, 1995).

Nesse sentido, o Centro de Pesquisas do Cacau (Cepec) tem desenvolvido estratégias focadas no manejo integrado da doença, incluindo, principalmente, a melhoria do nível de resistência e durabilidade das novas variedades comerciais (Silva et al., 2010). A resistência durável, conceitualmente, é aquela que se

mantém efetiva em dada variedade que é amplamente cultivada por longo tempo em ambiente favorável a doença (Johnson, 1983).

Dessa maneira, populações estão sendo desenvolvidas e testadas gerando a possibilidade de distribuir ao longo do tempo, genótipos que apresentem além do caráter resistência, associação de caracteres de importância genético-agronômica, como resistência a outras doenças, compatibilidade genética, alta produção, tamanho de frutos e sementes e qualidade de sementes (Monteiro et al., 2006; Monteiro e Ahnert, 2012).

Buscando atender as demandas de renovação das lavouras da região cacauzeira, dois tipos de populações-base foram desenvolvidos pelo Programa de Melhoramento Genético do Cacauzeiro (PMGC) no Cepec: as geneticamente não estruturadas e as estruturadas. As não-estruturadas foram formadas a partir de auto-fecundação de clones, retrocruzados e cruzamentos complexos, utilizando-se da diversidade encontrada em ensaios de híbridos, gerados em fases anteriores do PMGC. A proposta da criação destas populações não estruturadas é gerar plantas resistentes, autocompatíveis, com ampla base genética (Monteiro e Ahnert, 2012). Dentre os genótipos já selecionados entre estas populações, quatro da série CP já foram recomendados para plantio na região: CEPEC 2003 (CP37); 2004 (CP46); 2005 (CP55) e 2006 (CP50) (CEPLAC, 2002).

Dos métodos utilizados para identificação de genótipos resistentes à VB, a inoculação com basidiósporos do patógeno, em condições de casa-de-vegetação, tem gerado resultados satisfatórios. Inúmeras plântulas selecionadas por este sistema têm se mantido livres de sintomas em condições de campo, quando expostas as altas taxas de infecção natural por vários anos (Dias e Resende, 2001; Paim et al., 2006).

O clone CP195 é proveniente de um cruzamento entre TSH1188 x CCN51. O clone TSH1188 ("Trinidad Selected Hybrids") originou-se de cruzamentos envolvendo os clones IMC67, ICS1, SCA6 e P18. Produz frutos vermelhos e com rugosidade áspera (Cepec, 1987), é autoincompatível e apresenta resistência à VB (Luz et al., 1997; CEPLAC, 2002). O CCN51 ("Coleccion Castro Naranjal") é oriundo de uma planta F1 do cruzamento entre ICS95 x IMC67 cruzada com um clone nativo do oriente equatoriano

denominado “Canelos” (Bartley, 1986). Este clone produz frutos vermelho-arroxeados quando imaturos, passando a amarelo alaranjado quando maduros, com casca levemente enrugada e sementes com coloração interna púrpura clara, é autocompatível, possui resistência mediana à vassoura-de-bruxa e apresenta alta produtividade (Del Campo e Andia, 1997).

Os testes de progênes são importantes instrumentos para o trabalho dos melhoristas, sendo utilizados na seleção de indivíduos visando quantificar e maximizar os ganhos genéticos (Costa et al., 2008). Estudos indicam que o cacauzeiro tem ampla variabilidade para a resistência poligênica a *Moniliophthora perniciosa*, dessa maneira a seleção e o cruzamento de genitores resistentes, resultam na acumulação de resistência do tipo durável. A seleção para a capacidade geral de combinação objetiva identificar os indivíduos com os maiores valores genéticos aditivos, sendo praticada por meio da seleção recorrente intrapopulacional (Dias e Resende, 2001).

Neste trabalho objetivaram-se: i) identificar progênes resistentes à VB e ii) identificar genitores para serem inseridos no PMGC. Ambos atributos a partir de plântulas obtidas de sementes de polinização aberta de 13 clones oriundos de cruzamentos controlados e em fase de seleção no PMGC do Cepec.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos em laboratório e casa-de-vegetação 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.

Material genético

Foram utilizadas sementes de polinização aberta de 13 clones da série CP, selecionados em duas áreas pertencentes à seção de genética da Ceplac/Cepec, para serem testados quanto à resistência à vassoura-de-bruxa em duas épocas: outubro de 2011 e janeiro de 2012. Os clones ICS1 e SCA6 foram incluídos como padrão de suscetibilidade e padrão de resistência, respectivamente. Cada clone, cuja progênie de polinização aberta foi utilizada neste experimento, foi oriundo de cruzamentos em 1ª e 2ª geração entre clones de interesse para o PMGC (Tabela 1).

Tabela 1. Genealogia dos clones da série CP

Clones	Cruzamentos de origem
CP79	TSA644 x CCN51
CP195	TSH1188 x CCN51
CP80	TSA644 x CCN51
CP84	TSA644 x EET390
CP149	TSA644 x CCN51
CP264	SCA6 x ICS1
CP278	TSA644 x ICS95
CP300	[SIC952 x SCA12] x TSH 516
CP302	[SIC952 x SCA12] x TSH 516
CP306	[SIC952 x SCA12] x [EET399 x RB30]
CP309	[SIC952 x SCA12] x [EET399 x RB30]
CP421	CSUL6 x [ICS95 x TSH565]
CP431	CSUL7 x [CCN51 x TSH1188]

Os frutos de cada clone foram selecionados dentre uma parcela com vinte plantas, sendo colhidos cinco frutos de forma aleatória, que foram devidamente identificados. As sementes destes frutos foram extraídas e misturadas para cada clone e pré-germinadas por 48h em serragem esterilizada umedecida. De cada clone foram plantadas 70 sementes em tubetes plásticos contendo aproximadamente 300g de terriço esterilizado. As plântulas foram mantidas em condições de casa-de-vegetação, com irrigação por 20 min, 2 vezes ao dia (8 e 16h), exceto em dias quentes, quando era realizada uma irrigação adicional às 12h, durante as quatro semanas que antecederam a inoculação.

Obtenção do inóculo

Os basidiósporos de *Moniliophthora perniciosa* utilizados nas inoculações foram obtidos de vassouras secas colhidas na área experimental da Estação Experimental Arnaldo Medeiros, no Cepec. As vassouras foram levadas ao laboratório, desinfetadas com lavagens rápidas em hipoclorito de sódio a 1 %, etiquetadas e penduradas em condições de telado (vassoureiro), onde foram mantidas com um regime diário de 8h de molhamento e 16h de seca.

Os basidiomas maduros produzidos após o período de dormência foram retirados das vassouras, lavados sequencialmente em água destilada, em solução de estreptomicina a 1 % e mais duas vezes em água destilada. Posteriormente foram secos em papel absorvente. Dos basidiomas enxutos, retiraram-se os

píleos, com escalpelo e pinça, em seguida, os píleos foram fixados com vaselina pastosa (Silinol SG) em tampas de vidro, com o himênio voltado para baixo, sobre um béquer contendo uma solução de glicerina a 16 %, e sob agitação constante, de modo que, ao serem liberados, os basidiósporos caíam sobre a solução. A coleta de basidiósporos foi feita por um período de 20h. Os cálculos das concentrações de basidiósporos nas suspensões foram realizados por meio de um contador de esporos. As suspensões de basidiósporos foram então estocadas em nitrogênio líquido, acondicionadas em tubos criogênicos de 2 mL, até o momento de serem utilizadas, conforme metodologia descrita por Dickstein et al. (1987).

Antes de estocar, uma alíquota de 25 μ L de cada uma das suspensões de basidiósporos obtidas foi retirada e espalhada com bastão de vidro sobre a superfície do meio ágar-água a 2 %, em placas de Petri de 5 cm de diâmetro, para avaliar a germinação dos esporos. Decorridas 6h da incubação a 25 °C as placas foram retiradas e realizou-se a avaliação do número de basidiósporos germinados em 100 observados, para cada campo do microscópio ótico, determinando-se a partir daí a percentagem de basidiósporos germinados. Este procedimento foi realizado tanto no momento da estocagem como também 24h antes da inoculação, quando uma nova alíquota de 25 μ L foi coletada das suspensões estocadas, procedendo-se o teste de germinação para determinação da viabilidade do inóculo.

Inoculação

Das 70 plântulas de cada clone, foram selecionadas em cada época de inoculação 56 plântulas que apresentavam uniformidade no crescimento e desenvolvimento da gema apical, para serem inoculadas. As plantas excedentes foram posteriormente descartadas.

Um dia antes da inoculação, as plântulas de cada material genético, já selecionadas pelo desenvolvimento da gema apical, tiveram o tamanho de suas folhas reduzido para 1/3, com o auxílio de uma tesoura, a fim de acelerar o crescimento apical e expor a gema apical à infecção, e foram levadas posteriormente para a câmara climatizada, onde foi realizada a inoculação, após 24 h nestas condições de ambiente.

No dia da inoculação, os tubos criogênicos contendo o inóculo foram retirados do nitrogênio líquido e seguiu o protocolo descrito por Dickstein et al. (1987). A concentração de inóculo foi ajustada para 1×10^5 basidiósporos mL^{-1} . As suspensões de inóculo utilizadas nesse experimento apresentaram acima de 90 % de germinação.

As plântulas foram inoculadas manualmente, com uma micropipeta (Figura 1a), utilizando-se 30 μ L da suspensão do inóculo, na concentração de 1×10^5 basidiósporos mL^{-1} , depositada na gema apical das plântulas. Após as inoculações as plântulas foram mantidas em câmara climatizada (Figura 1b), por 48 h, com temperatura de 25°C e 100 % de umidade relativa.



Figura 1. Inoculação das plântulas das progênes de cacaueiro avaliadas quanto a resistência a *Moniliophthora perniciosa*, 30 dias após a sementeira. a) Inoculação manual com micropipeta; b) Plântulas no interior da câmara úmida após a inoculação.

Em seguida foram transferidas para casa-de-vegetação sob condições ambientais e de irrigação controladas, até o final das avaliações.

Delineamento, avaliações e análise dos dados

Foram testadas 15 progênies (13 dos clones + 2 controles), com 4 repetições de 14 plântulas cada, totalizando 56 plântulas de cada clone, perfazendo um total de 840 plântulas por experimento. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, em duas épocas: outubro de 2011 e janeiro de 2012.

As progênies foram avaliadas individualmente, a cada semana após a inoculação e, diariamente após o 15º dia de inoculação para registrar o aparecimento dos primeiros sintomas. Sessenta dias após a inoculação foram anotadas as plântulas que apresentaram vassouras. Para a análise dos dados, foram utilizados os escores 1 (presença) e 0 (ausência) de formação de vassoura.

Os procedimentos estatísticos foram realizados pelo programa SISVAR (Ferreira, 2008). As análises estatísticas avaliaram os efeitos de época, clone e bloco. As diferenças foram interpretadas por meio do teste F e o número médio de plantas infectadas por tratamento foi comparada pelo teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Os sintomas de infecção por *M. perniciosa* surgiram a partir dos 10º dia após a inoculação (DAI),

quando observou-se o intumescimento da gema apical. A formação de vassouras ocorreu aos 21 DAI. Este comportamento já havia sido observado por Surujdeo-Maharaj e Umaharan (2004) ao avaliarem a resistência à doença vassoura-de-bruxa (VB) em populações clonais e segregantes de *Theobroma cacao*, ressaltando que os sintomas mais precoces ocorrem normalmente nos materiais mais suscetíveis. Tal evidência foi sugerida como uma das variáveis para avaliação da resistência do cacaueiro à doença VB. Silva et al. (1998), também observaram a formação de vassouras em plântulas de cacaueiro a partir do 20º DAI, notando grande variedade de sintomas nas plântulas, após a 3ª e a 5ª semana da inoculação. É importante ressaltar que os clones CP 195, 80 e 278, que neste experimento apresentaram as maiores quantidades de plântulas infectadas, também foram os mais precoces no surgimento de sintomas de VB, em concordância com o estabelecido por Surujdeo-Maharaj e Umaharan (2004).

Evidenciou-se a existência de variação de resistência entre os materiais testados, embora tenha sido registrado um baixo nível de infecção no experimento, refletido no número médio de plântulas infectadas por *M. perniciosa* - 6,3 % (Figura 2). No entanto, deve-se levar em consideração que os materiais genéticos testado eram progênies de clones oriundos de cruzamentos cujos parentais foram selecionados por apresentarem bons níveis de resistência à vassoura-de-bruxa e outras características agrônomicas desejáveis.

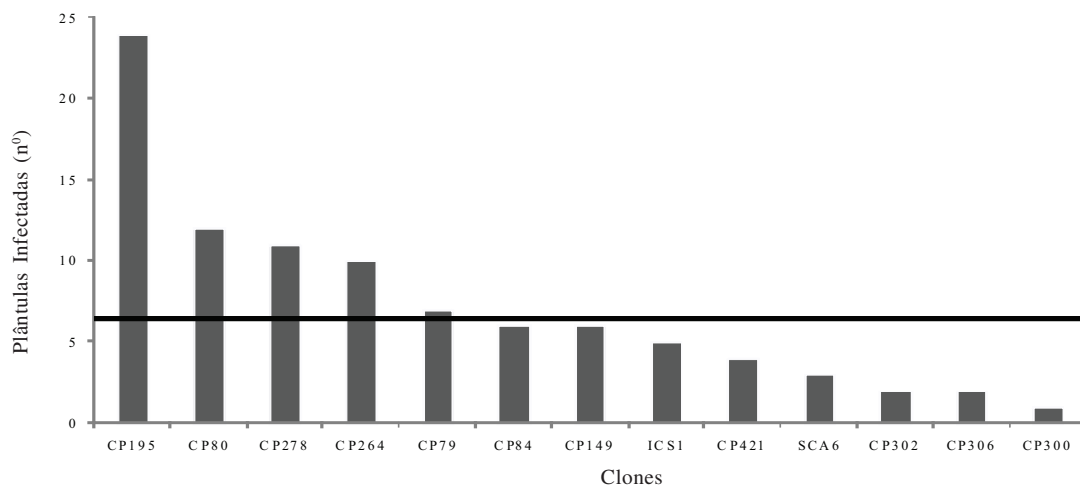


Figura 2. Infecção por *M. perniciosa* em diferentes clones, 60 dias após a inoculação (1×10^5 basidiósporos μL)

O clone CP 278 apresentou duas plântulas com vassoura do tipo axilar, enquanto o clone CP 195 apresentou quatro plântulas com vassoura desse mesmo tipo. Também, aos 20 DAI, o clone CP 84, apresentou duas plântulas infectadas por vassoura do tipo cotiledonar. Os clones CP 79 e CP 80 apresentaram os primeiros sintomas 23 DAI, com o surgimento de vassouras do tipo cotiledonar. O início dos sintomas no padrão de resistência utilizado nesse ensaio, SCA6, ocorreu aos 27 DAI, enquanto no ICS1, padrão de suscetibilidade, somente aos 30 DAI. A partir desse período, os demais clones também apresentaram sintomas de VB.

No experimento realizado em outubro/2011, houve predominância de vassouras do tipo cotiledonar (Figura 3a) e axilar, enquanto, no ensaio de janeiro/2012, prevaleceram as vassouras do tipo terminal (Figura 3b), provavelmente em função das condições climáticas.

De acordo com Silva et al. (2002), as inoculações artificiais na gema apical nos estádios de primeiro e segundo lançamentos foliares podem gerar muitos tipos de sintomas, entre eles, a presença de vassouras terminais e axilares, além de vassouras cotiledonares. Tais vassouras resultam de uma deformação na gema apical na forma de alongamento e engrossamento. Nos dois ensaios avaliados vassouras cotiledonares foram formadas predominantemente nos materiais genéticos CP 79, 84, 80, 431 e 309.

Como não houve diferença estatística entre as duas épocas em que o ensaio foi realizado, os dois ensaios foram analisados conjuntamente com 112 plântulas por progênie (56 de cada experimento), utilizando-se como variável a percentagem de plantas entre as 112 que apresentaram sintomas de VB após a inoculação (Tabela 2).

Sabe-se que o cruzamento interclonal entre TSH1188 x CCN51, segrega para diversas características, dentre eles a resistência à VB (Santos, 2007), entretanto, apesar do clone CP 195 possuir genitores resistentes à VB, nas inoculações artificiais em casa-de-vegetação a sua progênie, oriunda de polinização aberta, apresentou suscetibilidade em

Tabela 2. Análise de variância dos clones em relação à resistência à vassoura-de-bruxa, considerando conjuntamente as duas épocas (outubro/2011 e janeiro/2012)

FV	GL	QM
Época	1	3,812 ^{ns}
Clone	14	237,48 ^{**}
Bloco	3	158,08 ^{ns}
Erro	101	
Total	119	
CV (%)	154,58	
Média geral	0,7916	

** Significativo a 5% pelo teste F. ns Não-significativo.



Figura 3. Sintomas de vassoura-de-bruxa, quatro semanas após a inoculação: A- vassoura cotiledonar, com encurvamento do caule da plântula em função do intumescimento e alongamento acima do nó cotiledonar; B- vassoura terminal, com intumescimento da gema terminal e formação posterior da vassoura axilar.

relação aos demais clones testados, isso pode ser um indicativo de que, apesar dos seus genitores possuírem genes de resistência no seu genótipo, não conseguiram transmitir esses genes para sua descendência. Em um estudo que identificou genótipos com alta capacidade geral de combinação quanto à resistência à VB, ficou comprovado que, embora seja resistente, o clone CCN51, não possui alta capacidade geral de combinação (Silva et al., 2010). Ressalta-se também que o presente experimento foi realizado com sementes provenientes de progênies de polinização aberta, o que certamente aumenta a diversidade genética nas plântulas geradas. É importante também lembrar, que o fato do clone ter sido gerado de um cruzamento, já implica em ampla diversidade para diferentes características, inclusive resistência à VB.

O clone CP 195 diferiu estatisticamente dos demais, apresentando a maior percentagem de plântulas infectadas (21,43 %). Já as progênies dos clones CP 80, 278 e 264, foram estatisticamente iguais, apresentando um número mínimo e máximo de plântulas infectadas entre 8,9 e 10,71 %, respectivamente, enquanto as progênies dos clones CP 79, 84, 149, 421, 300, 302, 306, 309 e 431, apresentaram menor incidência de vassoura, com mínimo de 0,89 % e máximo de 6,2 % de plântulas infectadas. Os padrões de resistência (SCA6) e de suscetibilidade (ICS1), não diferiram estatisticamente, sendo este um comportamento inesperado. Sugere-se que os frutos podem ter sido oriundos de polinização aberta e assim ter mistura com material genético resistente, o que teria mascarado a expressão de suscetibilidade do ICS1. Reforça esta hipótese o fato de o ICS1 ser considerado de reação intermediária em relação a doença VB, entretanto Silva (2009), encontrou uma progênie de ICS1 que mostrou-se altamente suscetível, quando comparada com o SCA6 e SIC23.

A utilização do SCA 6 como padrão de resistência se justifica, pois os clones Scavina são referências históricas de resistência (Pound, 1938, 1943; Bartley, 1994) e até recentemente constituíam a principal base das variedades indicadas para plantio comercial na Bahia (Pires, 2003). Entretanto, é sabido que devido à existência de variações do patógeno detectadas na Bahia, os clones Scavina e seus descendentes podem apresentar comportamento variável nas diversas

regiões, evidenciando a necessidade de aumentar as fontes de resistência em programas de melhoramento (Pires, 2003), tendo já sido comprovada a quebra da resistência nestes clones, desde 2005 (Paim et al., 2006). No entanto, nas inoculações realizadas ao longo do tempo em casa-de-vegetação, o seu comportamento de resistência tem sido mantido (Monteiro et al., 2006; Silva, 2009). No presente experimento o mesmo foi ainda observado, tendo a sua progênie demonstrado resistência quando apresentou apenas três plântulas com sintomas de vassoura-de-bruxa entre as 112 inoculadas.

Dentre as 15 progênies testadas, incluindo os dois controles, o número médio de plântulas infectadas no experimento corresponde a 6,3, representando um percentual de 0,79 % (ver linha na Figura 2). Sendo assim, as progênies dos clones CP 195, 80, 278, 264 e 79 apresentaram número de plântulas infectadas superiores à média do experimento, enquanto, outras 10 progênies, dos clones CP 84, 149, 421, 300, 302, 306, 309, 431, ICS1 e SCA6 tiveram percentagem de plântulas infectadas inferiores à média do experimento (Tabela 3).

Tabela 3. Porcentagem de plântulas com sintomas de vassoura-de-bruxa por progênie dos 15 clones avaliados, 60 dias após a inoculação com *Moniliophthora perniciosa*

Clone	% de Plântulas Infectadas
195	21,427
80	10,713
278	9,821
264	8,928
79	6,250
149	5,357
84	5,356
ICS1	4,463
421	3,570
SCA6	2,677
302	1,785
306	1,785
309	0,892
300	0,892
431	0,892
CV(%)	153,870

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott (1974).

Cinco clones (CP 300, 302, 306, 309 e 431) apresentaram uma baixíssima incidência de vassouras, com percentagem média de plântulas infectadas variando de 1,78 a 0,89 %. Este era um comportamento esperado, uma vez que descendem de materiais resistentes. Quatro desses materiais (CP 300, 302, 306 e 309) possuem genitores em comum, o SCA 12 e o SCA 6, que são amplamente conhecidos como resistentes à VB. Os clones 300 e 302 ([SIC952 x SCA12] x TSH516) possuem o genitor TSH 516, que é um clone oriundo de Trinidad, descendente também de SCA6, e que, apresentava alto nível de resistência a VB e excelente produtividade (Pinto e Pires, 1998).

Os clones CP 306 e 309, são descendentes de cruzamentos entre materiais resistentes, como exemplo o EET 399 que descende do SILECIA 1, uma clássica fonte de resistência, de acordo com Pires (2003), e o RB 30, um material proveniente de Rio Branco, no Acre, que apresenta resistência à VB (Wadsworth et al., 1997). Já o clone CP 431, tem em sua base genética genes de CCN51 x TSH1188, diferentemente do clone CP 195 que é descendente direto deste cruzamento e que, neste trabalho, não apresentou resistência a VB, teve ótimo desempenho com baixo nível de infecção por *M. perniciosa*. CP 431 possui o CSUL7 como um dos genitores. Diversos clones da série Cruzeiro do Sul foram considerados como resistentes por apresentarem baixa incidência da doença, quando se avaliou sob condições de infecção natural, à campo, no banco de germoplasma do CEPEC (Marita et al., 2001). No entanto, o CP 431, nas condições de inoculação em casa-de-vegetação, foi um bom genitor, pois transmitiu os seus genes de resistência para a sua descendência.

Diante dos resultados obtidos, confirma-se que pelo menos as progênies de oito dos 13 clones testados (CP 431, 309, 300, 306, 302, 421, 149, 84) apresentaram bons níveis de resistência à VB, e que, à exceção do CP 195, os seus genitores podem continuar a ser usados como fonte de resistência na composição das populações-base desenvolvidas pelo PMGC. Como o melhoramento para resistência a doenças tem se tornado prioritário em muitos países produtores de cacau, dentre eles o Brasil, estes resultados são importantes, pois direcionam a pesquisa para a seleção de genitores que poderão ser inseridos no PMGC e também oferecem subsídios aos melhoristas sobre o

comportamento dos mesmos em avaliação precoce, quanto à agregação de genes para resistência a esta importante doença do cacau.

Conclusões

Os níveis de resistência variam entre as progênies de 13 clones de uma população base não estruturada da série CP.

Comprovou-se o sucesso da tentativa de acumular genes para resistência a *M. perniciosa* nas progênies desta população.

Literatura Citada

- AIME, M. C.; PHILLIPS-MORA, W. 2005. The causal agents of witches' broom and frosty pod rot of cacao (chocolate, *Theobroma cacao*) form a new lineage of *Marasmiaceae*. *Mycologia* 97 (5):1012-1022.
- ALMEIDA, L. C.; ANDERBRAN, T. 1987. Recuperação das plantações de cacau com alta incidência de vassoura na Amazônia Brasileira. In: Conferência Internacional de Pesquisas em Cacau. Santo Domingo. Proceedings, Lagos, Cocoa Producers Alliance 10:337-339.
- BARTLEY, B. G. D. 1986. Cacau, *Theobroma cacao*. FAO Plant Production and Protection Paper 70: 25-42.
- BARTLEY, B. G. D. 1994. A review of cacao improvement. Fundamental methods and results. In: International Workshop on Cocoa Breeding Strategies. Proceedings. Kuala Lumpur, Malásia. 16p.
- COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. CENTRO DE PESQUISAS DO CACAU. 1987. List of clones in the CEPEC. Ilhéus, BA. Computer printout from CEPEC.
- COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA - CEPLAC. 2002. Novas variedades clonais resistentes à vassoura-de-bruxa: recomendação varietal. Itabuna, BA.

- COSTA, R. B. et al. 2008. Variabilidade genética e seleção para caracteres de crescimento da seringueira. *Bragantia* (Brasil) 67(2):299-305.
- CUATRECASAS, J. 1964. Cacao and its allies: a taxonomic revision of the genus *Theobroma*. National Herbarium Contribution (EUA) 35:377-605.
- DEL CAMPO, E. C.; ANDIA, F. C. 1997. Cultivo y beneficio del cacao CCN 51. Quito, Ed. El Conejo. 136p.
- DIAS, L. A. S.; RESENDE, M. D. V. 2001. Experimentação no melhoramento. In: Dias, L. A. S. Melhoramento genético do cacaueiro. Viçosa, MG. pp. 439-492.
- DICKSTEIN, E. R.; PURDY, L. H.; FRIAS, G. A. 1987. *Crinipellis perniciosa*, the cacao witches' broom fungus: Inoculum production and storage. *Phytopathology* 77:1747.
- FERREIRA, D. F. 2008. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. *Revista Symposium* (Brasil) 6:36-41.
- JOHNSON, R. 1983. Genetic background of durable resistance. In: Lamberti, F.; Waller, J. M.; Van Der Graaff, N. A. Durable resistance in crops. New York, Plenum Press. pp. 5-26.
- KIMATI, H. et al. 1997. Manual de Fitopatologia. 3 ed. São Paulo, SP. Agronômica Ceres.
- LUZ, E. D. M. N. et al. 1997. Cacao (*Theobroma cacao* L.) Controle de doenças. In: Ribeiro do Vale, F. X.; Zambolim, L. Controle de doenças de plantas - grandes culturas. Viçosa, MG, v.2. pp.617-622.
- LUZ, E. D. M. N. et al. 2006. Vassoura-de-bruxa do cacaueiro: novos enfoques sobre uma velha doença. *Revisão Anual de Patologia de Plantas* (Brasil) 14: 59-111.
- MARITA, J. M. et al. 2001. Analysis of genetic diversity in *Theobroma cacao* with emphasis on witches' broom disease resistance. *Crop Science* (USA) 41(4):1305-1316.
- MONTEIRO, W. R.; AHNERT, D. 2012. Melhoramento Genético do Cacaueiro. In: Ciência, tecnologia e manejo do cacaueiro. Brasília, DF. pp.11-30.
- MONTEIRO, W. R. et al. 2006. Population breeding activities in Brazil. In: Eskes, A. B.; Efron, Y. Global approaches to cocoa germoplasm utilization and conservation. 1ª ed. Itália, Roma. CFC/OCCO/IPGRI. v.1. pp.28-34.
- OLIVEIRA, M. L.; LUZ, E. D. M. N. 2005. Identificação e manejo das principais doenças do cacaueiro no Brasil. Ilhéus, BA, CEPLAC/CEPEC/SEFIT. 132p.
- PAIM, V. R. L. et al. 2006. Sources of resistance to *Crinipellis perniciosa* in progenies of cacao accessions collected in the Brazilian Amazon. *Scientia Agrícola* (Brasil) 63(6):572-578.
- PAULIN, D.; ESKES, A. D. 1995. Le cacaoyer: stratégies de sélection. *Plantations* (2):5-18.
- PEREIRA, J. L. et al. 1989. Primeira ocorrência de vassoura-de-bruxa na principal região produtora de cacau do Brasil. *Agrotrópica* (Brasil) 1(1):79-81.
- PINTO, L. R. M.; PIRES, J. L. 1998. Seleção de plantas de cacau resistentes à vassoura-de bruxa. Ilhéus, BA, CEPLAC/CEPEC. *Boletim Técnico* nº 181. 35p.
- PIRES, J. L. 2003. Avaliação quantitativa e molecular de germoplasma para o melhoramento do cacaueiro com ênfase na produtividade, qualidade de frutos e resistência a doenças. Tese Doutorado. Viçosa, MG, UFV. 220p.
- POUND, F. J. 1938. Cacao and witches' broom disease (*Marasmius pernicius*) of South America, with notes on other species of *Theobroma*. Report on a visit to Ecuador, the Amazon Valley and Colombia. Yulle's Printerie (Espanha) 58p.
- POUND, F. J. 1943. Cacao and witches' broom disease (*Marasmius pernicius*). Report on a recent visit to the Amazon territory of Peru. Yulle's Printerie. 14p.
- PURDY, L. H.; SCHMIDT, R. A. 1996. Status of cacao witches' broom: biology, epidemiology and management. *Phytopathology* 34:573-594.
- RIOS-RUIZ, R. A. 2001. Melhoramento para resistência a doenças. In: Dias, L. A. S. Melhoramento genético do cacaueiro. Viçosa, MG. pp.439-492.

- SANTOS, R. M. F. 2007. Caracterização da resistência à vassoura-de-bruxa, do vigor vegetativo e de polimorfismos em microssatélites na população de cacaueiros derivada do cruzamento entre os clones TSH 1188 e CCN 51. Dissertação Mestrado. Ilhéus, BA, UESC. 63p.
- SILVA, F. S. 2009. Variabilidade patogênica de *Moniliophthora perniciosa* em três agrossistemas da região cacaueira baiana. Dissertação Mestrado. Ilhéus, BA, UESC. 67p.
- SILVA, P. 1987. Cacau e lagartão ou vassoura-de-bruxa: registros efetuados por Alexandre Rodrigues Ferreira nos anos de 1785 a 1787 na Amazônia. Ilhéus, BA, CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico nº 146. 21p.
- SILVA, S. D. V. M. et al. 2002. Redescrição da sintomatologia causada por *Crinipellis perniciosa* em cacaueiro. *Agrotrópica (Brasil)* 14(1):1-28.
- SILVA, S. D. V. M. et al. 2010. Parents selection for cocoa resistance to witches' broom. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 45:680-685.
- SILVA, S. D. V. M.; LUZ, E. D. M. N.; MATSUOKA, K. 1998. Seleção das variáveis na avaliação de progênies de cacaueiro (*Theobroma cacao*) quanto à resistência à *Crinipellis perniciosa*. *Agrotrópica (Brasil)* 10(2):87-94.
- SURUJDEO-MAHARAJ, S.; UMAHARAN, P. 2004. Assessment of resistance to witches' broom disease in clonal and segregating populations of *Theobroma Cacao*. *Plant Disease* 88 (8):797-803.
- WADSWORTH, R. M. et al. 1997. International Cocoa Germplasm Database. London International Financial Futures and Options Exchange/ The University of Reading, Reading.
-