

AGROTRÓPICA

Volume 7 Nº 1 - Janeiro-Abril 1995

Centro de Pesquisas do Cacau
BRASIL

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA

Ministro: José Eduardo de Andrade Vieira

Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira - CEPLAC

Diretor: João Carlos Monteiro de Carvalho

Superintendência Regional da Bahia e Espírito Santo

Superintendente: Aldemir Cunha de Oliveira

Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC)

Chefe: Edna Dora Martins Newman Luz

Serviço de Pesquisas

Chefe: José Luis Pires

Centro de Extensão (CENEX)

Chefe: Cloildo Guanaes Mineiro

Superintendência Regional da Amazônia Ocidental (SUPOC)

Superintendente: Raimundo da Silva Melo Júnior

Superintendência Regional da Amazônia Oriental (SUPOR)

Superintendente: Ademir C. Carvalho Teixeira

Agrotropica, v. 1, nº 1 (1989)
Ilhéus, BA, Brasil, CEPLAC/CEPEC, 1989

v.

Quadrimestral

Substitui "Revista Theobroma"

1. Agropecuária - Periódico



CDD 630.5



**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO
ABASTECIMENTO E DA REFORMA
AGRÁRIA**
**CEPLAC - Comissão Executiva do Plano da
Lavoura Cacaueira**

AGROTRÓPICA. Publicação quadrimestral do
Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC) da
CEPLAC.

Comissão de Editoração: Lícia Margarida
Gumes Lopes (Coordenadora), José Luiz
Bezerra, Miguel Moreno Ruiz, José Correia de
Sales e Paulo dos Santos Terra.

Editores: José Correia de Sales e Paulo dos
Santos Terra.

Assistentes de editoração: Lícia Margarida
Gumes Lopes e Jacqueline C. Celestino do
Amaral.

Normalização de referências bibliográficas:
Jurema Correia Santos.

Digitação: Luiza de O. G. Almeida

Editoração eletrônica: Marlúcia R. Martins

Arte gráfica: Antônio B. Bispo, Ana Maria
Mendonça Freire, Evandro Araújo de Miranda
e Antônio Carlos Moreira Santos.

Diagramação e montagem: Josélia G. Alves
Oliveira.

Assinatura: R\$ 40,00 (anual); R\$ 15,00 (número
avulso). Instituições ou leitores interessados
em obter a publicação por intercâmbio ou
assinatura poderão contactar: CEPLAC - Setor
de Informação Documental, 45.600-000,
Itabuna, Bahia, Brasil.

Endereço para correspondência:
AGROTRÓPICA, Centro de Pesquisas do
Cacau (CEPEC), 45600-000, Itabuna, Bahia,
Brasil.

Telefone: (073) 214-3217

Telex: 0732157 CLRC BR

Fax: (073) 214-3204

Tiragem: 800 exemplares.

AGROTRÓPICA

V. 7

Janeiro - abril 1995

N. 1

CONTEÚDO

I Instruções aos autores

REVISÃO

- 1 Biotecnologia e melhoramento genético do cacaueiro (*Theobroma cacao* L.). L.A. dos S. Dias

ARTIGOS

- 15 Efeitos dos ciclos de umedecimento e secagem sobre a distribuição de poros em classes de diâmetro de quatro Latossolos brasileiros. T.S. de Oliveira, L.M. da Costa, M. de S. Figueiredo e A.J. Regazzi

NOTA

- 25 Grupos de insetos em flores de cacau, *Theobroma cacao* (Sterculiaceae), em Chuao, Estado de Aragua, Venezuela (em espanhol). Z. Narvaez



**MINISTRY OF AGRICULTURE,
PROVISION AND AGRARIAN REFORM
CEPLAC - Executive Commission of the
Cacao Agriculture Plan**

AGROTRÓPICA. Published every four months by the Cacao Research Center (CEPEC) of CEPLAC.

Editorial Committee: Lícia Margarida Gumes Lopes (Coordinator), José Luiz Bezerra, Miguel Moreno Ruiz, José Correia de Sales and Paulo dos Santos-Terra.

Editors: José Correia de Sales and Paulo dos Santos Terra.

Editorial assistants: Lícia Margarida Gumes Lopes and Jacqueline C. Celestino do Amaral.

Revision of bibliographical references: Jurema Correia Santos.

Digitation: Luiza de O.G. Almeida.

Desktop publish: Marlúcia R. Martins.

Graphic art: Antônio B. Bispo, Ana Maria Mendonça Freire, Evandro Araújo de Miranda and Antônio Carlos Moreira Santos.

Layout: Josélia G. Alves Oliveira.

Subscription: annual - US\$ 40.00 (surface mail); single copy - US\$ 15.00 (surface mail). Institutions or individuals interested in obtaining the publication for exchange or subscription should contact: CEPLAC - Setor de Informação Documental, 45600-000, Itabuna, Bahia, Brazil.

Address for correspondence:

AGROTRÓPICA, Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), 45600-000, Itabuna, Bahia, Brazil.

Telephone: (073) 214-3217

Telex: 0732157 CLRC BR

Fax: (073) 214-3204

Circulation: 800 copies.

AGROTRÓPICA

V. 7

January - April 1995

N. 1

CONTENTS

III Instructions to the authors

REVIEW

- 1 Biotecnology and cacao (*Theobroma cacao* L.) breeding (in Portuguese).
L.A. dos S. Dias

ARTICLE

- 15 Wetting and drying cycles effects on pores diameter range of four Brazilian Latosols (in Portuguese). T.S. de Oliveira, L.M. da Costa, M. de S. Figueiredo and A. J. Regazzi

NOTE

- 25 Insect groups on cocoa flowers (*Theobroma cacao*, Sterculiaceae) in Chuao, Aragua State, Venezuela (in Spanish). Z. Narvaez

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

São aceitos para publicação na revista **AGROTRÓPICA** artigos científicos, revisões bibliográficas de natureza crítica, notas prévias e cartas ao editor redigidos em português, espanhol, inglês ou francês. Esses trabalhos devem ser inéditos e não devem ser submetidos a outro periódico antes ou durante o processo de análise pela Comissão de Editoração (COMED) da revista. Trabalhos apresentados em conferências, simpósios ou reuniões científicas poderão ser aceitos para publicação, desde que não tenham sido publicados na íntegra em veículo de grande circulação. Também poderão ser publicados resultados apresentados em teses ou divulgados preliminarmente, de forma sucinta, em informes ou relatórios técnicos.

O original e duas cópias legíveis, acompanhados de quadros e figuras, deverão ser submetidos ao editor da revista, no seguinte endereço: **AGROTRÓPICA, Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), 45600-000, Itabuna, Bahia, Brasil.** **AGROTRÓPICA** prefere que o artigo seja submetido em disquete, que contenha o texto, os quadros e, se possível, as figuras preparados, de preferência, com o programa Word for Windows. Caso isso não seja possível, datilografar o texto e os quadros e preparar as figuras em papel vegetal com tinta nanquim. Em qualquer um dos dois casos, adicionar duas cópias legíveis do texto e quadros e uma cópia das figuras impressa a laser ou copiada em papel vegetal.

O autor é responsável exclusivo pelos conceitos e opiniões emitidos no trabalho, mas a COMED se reserva o direito de aceitar ou não o artigo recebido, bem como submetê-lo ao seu corpo de assessores científicos. Quando necessário, o editor devolverá o trabalho ao autor, juntamente com os comentários e sugestões apresentados pelos assessores científicos. Aguarda-se o retorno do artigo corrigido, com as justificativas para não aceitação de alguma sugestão, pelo prazo máximo de 2 meses.

Antes da sua publicação, as provas do trabalho serão submetidas ao autor para revisão final e deverão ser devolvidas imediatamente ao editor, sendo que quaisquer modificações só serão efetuadas se aprovadas pela COMED. Uma errata poderá ser incluída em número posterior da revista para retificações que porventura se façam necessárias.

Os custos de publicação do trabalho são cobertos pela Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC). **AGROTRÓPICA** fornecerá 20 separatas dos trabalhos publicados, que serão entregues ao autor principal.

O tempo necessário para publicação de um trabalho poderá ser abreviado pelo autor, a começar pela preparação do original e atendimento em tempo às solicitações porventura feitas pelo editor. Originais que vierem fora das especificações serão devolvidas ao autor antes de serem analisadas pela COMED. Sugere-se aos

colaboradores consultar um número recente da revista a fim de tomar conhecimento do estilo adotado bem como, submeter o original a colegas, para que seja avaliada a sua clareza, concisão e coerência. É conveniente solicitar a aprovação do artigo pela instituição a que pertence o autor. São transcritas a seguir algumas instruções e normas estabelecidas pela COMED.

Estrutura. O artigo deve obedecer, de preferência, à seguinte estrutura: título completo, título abreviado, autor, resumo, abstract, introdução, material e método, resultados, discussão, conclusões, agradecimentos e literatura citada. Os resultados e discussão poderão ser fundidos, mas recomenda-se que as conclusões constituam uma seção à parte, sempre que possível. No caso de nota prévia, não é obrigatória a divisão em seções, mas é indispensável a apresentação do resumo e abstract.

Redação do trabalho. Redigir o artigo com clareza, concisão, coerência e exatidão, para facilitar o seu julgamento e revisão bem como baratear os custos de produção.

Texto. O artigo científico ou a revisão bibliográfica não devem ter mais de 6.000 palavras (26 páginas datilografadas, com 27 linhas cada), excluindo resumo, abstract, literatura citada, quadros e figuras e a nota científica não deve exceder 1.500 palavras (cerca de seis páginas). Caso datilografado, preferir espaço duplo, em papel branco, não transparente, tamanho carta (28 x 21,5 cm), com margens de aproximadamente 3 cm em todos os lados. Os quadros e figuras deverão ser apresentados em folhas à parte, constando no texto apenas o lugar onde deverão ser inseridos, Exemplo :

Quadro 1 aqui

As linhas devem ser numeradas em todas as páginas, inclusive cópias, começando sempre pelo número 1 em cada página. Aceita-se numeração manuscrita, desde que perfeitamente legível. A margem direita não precisa ser alinhada (justificada).

Todas as páginas, incluindo quadros e figuras, devem ser numeradas no canto superior direito e identificadas pelo nome do autor ao lado esquerdo superior. A existência de página seguinte pode ser indicada colocando-se seu número no canto inferior direito.

Organização. Dispor o trabalho na seguinte ordem, começando cada item em página separada: 1. Capa - publicação a que se destina, título completo do artigo, título abreviado, autor e respectivo endereço; 2. resumo, com palavras-chave; 3. abstract, com título e palavras-chave em inglês; 4. texto; 5. agradecimentos; 6. literatura citada; 7. quadros (um em cada página); 8. legendas das figuras; e 9. figuras (uma em cada página).

Título e autor. O título completo deve mostrar todos os aspectos importantes do trabalho sem ultrapassar 25

palavras. O título abreviado não deve ultrapassar cinco palavras. O autor deve usar o nome e endereço completos.

Resumo e Abstract. Tanto o resumo como o abstract devem ser redigidos em um só parágrafo e não devem ultrapassar 250 palavras. Devem informar sucintamente a metodologia utilizada, os resultados e as conclusões. Se o artigo for escrito em inglês, o abstract deve ser traduzido para o português. Se em um dos outros três idiomas, o abstract será sempre em inglês. Segundo o resumo e o abstract, deve ser apresentado um grupo de palavras-chave para indexação.

Números. Utilizar o sistema internacional de unidades de medidas (SI). Evitar o uso de algarismos romanos. Não usar traço para substituir a preposição *a* entre dois números, não ser entre parênteses e em quadros ou figuras. Sempre que possível, preferir frações decimais.

Nomenclatura. Nomes científicos deverão ser escritos completos na primeira vez que são citados no resumo, abstract e texto e deverão vir sempre em itálico. Variedades de cultivares deverão ser escritos com inicial maiúscula e entre aspas simples (exemplo: 'Catongo') ou de forma explícita (exemplo: cv. Catongo).

Abreviaturas e siglas. Unidades de medida, fórmulas e expressões podem ser substituídas pelas respectivas abreviaturas e siglas. Quando desconhecidas ou não encontradas em dicionários comuns, deverão ser escritas completas na primeira vez que aparecerem no resumo, abstract e texto.

Notas de rodapé. Recomenda-se evitá-las, dando-se preferência a parênteses no texto. Quando indispensáveis (informações sobre o artigo, patrocinador do trabalho, endereço do autor, etc.), numerá-las no texto com algarismos arábicos.

Literatura citada. As referências devem ser redigidas de acordo com as normas adotadas pela CEPLAC (consultar um número recente da revista). Solicita-se ao autor que compare cuidadosamente as referências com o original citado, antes de submeter o trabalho para publicação. As referências devem ser citadas no texto nas seguintes formas: *Morais (1978)* ou *(Morais, 1978)*. Tratando-se de dois ou três autores, citá-los todos no texto; quando mais de três, citar o primeiro seguido da expressão *et al.* Às vezes ocorre citação resultante de comunicação pessoal ou de dados ainda não publicados. Nesses casos, colocar-se-á, entre parênteses, no texto e não incluir na literatura citada. Quando o autor é desconhecido (anônimo), citar a palavra *Anônimo* ou sua correspondente no idioma do texto. No caso dos autores corporativos, citar o nome completo da instituição. Mais de um artigo do mesmo autor, no mesmo ano, será discriminado com letra minúscula. Exemplo: *Souza (1978 a; b etc.)*. Colocar os nomes de todos os autores nas referências bibliográficas. A seguir serão apresentados alguns exemplos de citações mais usuais:

PERIÓDICO

ABREU, J.M. de. 1988. Avaliação de Gastoxin e Fertoxin

na fumigação de cacau armazenado. *Revista Theobroma (Brasil)* 18(3) : 181-188.

PARTE DE LIVRO

FERRONATO, E.M. de O. 1988. Eumolpinae associated with cacao trees (*Theobroma cacao* L.) in South east Bahia. In Jolivet, P., Petilpierre, E. and Hsiao, T.H., eds. *Biology of Chrysomelidae*. Kluwer Academic. pp. 553 - 558.

LIVRO

WOOD, G.A.R. and LASS, R.A. 1985. *Cocoa*. London, Longman. 620 p.

TESE

VIRGENS FILHO, A. de C. 1986. Sangria por puntura no cultivar RRIM 600 no planalto Paulista. Tese Mestrado. Piracicaba, ESALQ. 88 p.

MONOGRAFIA SERIADA

SILVA, L.F. da e LEITE, J. de O. 1988. Caracterização preliminar dos agrossistemas das regiões cacaueiras da Bahia e Espírito Santo. Ilhéus. CEPLAC / CEPEC. Boletim Técnico nº 156. 15 p.

PARTE DE EVENTO

ALVIM, R. 1988. O cacaueiro (*Theobroma cacao* L.) em sistemas agrossilviculturais. In Conferencia Internacional de Investigación en Cacao, 10ª, Santo Domingo, 1987. Actas. Lagos, Cocoa Producers' Alliance. pp. 3-14.

Quadros e figuras. Evitar, se possível, mais de um quadro ou figura por cada três páginas datilografadas de texto. Não repetir dados incluídos no texto. Numerá-los com algarismos arábicos. Devem ser auto-explicativos.

Nos quadros, os símbolos * e ** podem ser usados para indicar significância estatísticas aos níveis de 5 e 1%, respectivamente. Detalhes devem ser esclarecidos em notas de rodapé, que serão identificadas por letras ou outros símbolos, quando necessários. Linhas horizontais devem ser usadas para separar o cabeçalho da legenda e do corpo e este das notas de rodapé. Linhas horizontais curtas podem ser usadas, se necessário, para separar os subtítulos dentro do cabeçalho. Linhas verticais de separação não devem ser usadas.

As figuras podem ser fotos, mapas ou gráficos. Figuras em cores, poderão ser aceitas desde que o autor assuma os custos adicionais delas decorrentes. As suas dimensões não devem ultrapassar 23 x 17,5 cm, incluindo a legenda. Em casos especiais (mapas, por exemplo), dimensões maiores poderão ser aceitas desde que não ultrapassem o dobro das acima especificadas. Usar exclusivamente escala gráfica.

INSTRUCTIONS TO THE AUTHORS

Scientific articles, bibliographic reviews of a critical nature, notes and letters to the Editor are accepted for publication in Portuguese, Spanish, English or French. The papers should be unpublished and should not be submitted to other periodicals before or during the evaluation process of the Editorial Committee (COMED) of the Journal. Papers presented in conferences, symposia or scientific meetings may be accepted for publication since not yet published in a full form in a well known journal. Results presented in thesis or divulged preliminarily in a concise form as technical information or report may also be published.

The original text and two legible copies accompanied by tables and figures should be submitted to the Editor of the Journal to the following address: **AGROTRÓPICA, Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), 45.600-000, Itabuna, Bahia, Brazil.** AGROTRÓPICA prefers the article to be submitted as a diskette of the text, tables and figures, if possible, prepared preferentially with the soft Word for Windows. If that is not possible, type the text and the tables and prepare the figures in tracing paper and India ink. In both cases, add two legible copies of the text and table and one copy of the figures in laser or tracing paper.

The author is solely responsible for the concepts and opinions set out in the article, but the COMED reserves the right to accept or reject the submitted article as well as to submit it to its scientific reviewers. When necessary, the Editor will return the article to the author, together with the commentaries and suggestions given by the scientific reviewers. Within a maximum of two months, the corrected article should be returned with justification for not accepting suggestions or corrections.

Before publication, an editorial proof of the article will be submitted to the author for final revision and should be returned immediately to the Editor. Any modifications will only be made if approved by the COMED. An errata can be included in a later issue of the Journal in case corrections are necessary.

The cost of publication of the article will be paid by the Executive Commission of the Cacao Agriculture Plan (CEPLAC). AGROTRÓPICA will supply twenty (20) reprints of the published article which will be sent to the first author.

The time necessary for the publication of an article can be greatly shortened by the author, beginning with the preparation of the original and then with attention to the possible requests made by the Editor. Originals which are not within the specifications will be returned to the authors without being evaluated by COMED. It is suggested that contributors consult a recent issue of the Journal in order to become acquainted with the style adopted by the Journal and submit the original to colleagues to evaluate its clarity, conciseness and coherence. It is a good practice obtain the approval of the paper from the institution the author belong to.

Preparation of the article. Write in the impersonal past tense, with clarity, conciseness, coherency and accuracy to facilitate its judging and revision as well as to reduce costs of printing.

Text. The article or the bibliographic review should have not more than 6,000 words (26 typewritten pages, with 27 lines each), excluding abstract, resumo, literature cited, tables and figures, and the notes should have not more than 1,500 words (about six pages). If typewritten, it should be double spaced on white, not transparent paper, letter size (28 x 21,5 cm), with margins of approximately 3 cm on each side. Tables and figures should be presented on separate sheets, indicating in the text only where they should appear. Example:

Table 1 here

Structure. The article should have the following structure, by preference: complete title; abbreviated title; authors(s); abstract; introduction; materials and methods, results, discussion, conclusions, acknowledgements and cited literature. The results and discussion may be merged, but it is recommended that the conclusions constitute a separate part, when possible. In the case of a prior note the division is not obligatory, but the presentation of an abstract is indispensable.

The lines should be numbered on all the pages including copies, always beginning with the number 1 on each page. The numeration may be handwritten, as long as it is clearly legible. The right margin does not have to be aligned.

All pages including tables and figures shall be identified by number in the upper right hand corner and by the author's name in the upper left hand corner. The existence of a following page can be indicated by placing its number in the lower right hand corner.

Organization. The article should be arranged in the following order, placing each item on a separate page: 1. cover-the publication to which it is sent, complete title of the article, abbreviated title, author and corresponding address; 2. abstract, with title and key-words in English; 3. text; 4. acknowledgements; 5. literature cited; 6. tables (one on a page); 7. caption of the figures, and 8. figures (one to a page).

Title and author. The complete title should indicate all the important aspects of the work without exceeding twenty-five (25) words. The abbreviated title should not exceed five words. The author should use complete name and address.

Abstract. The abstract should be written in only one paragraph and should not exceed 250 words. It should communicate concisely the methodology used, the results and the conclusions. If the article is written in English, the abstract should be translated into Portuguese (the Editor will provide the Portuguese version if re-

quired). If in one of the three other languages, the abstract will always be in English. A group of key-words should follow the abstract for indexation.

Numbers. The International System of Units of Measurements (IS) is used. Avoid the use of Roman numerals. Do not use a dash as a substitute for a preposition between two numbers, only between parentheses or in tables or figures. Always when possible use decimal fractions.

Nomenclature. Scientific names should be completely written the first time they are mentioned in the abstract and text and should always be in italic. Varieties of cultivars should be written beginning with a capital letter and with single quotation marks (example: 'Catongo') or in explicit form (example: cv. Catongo).

Abbreviations and symbols. Units of measurement, formulas and other expressions can be submitted with their respective abbreviations and symbols. When unknown or not found in common dictionaries, these should be written out completely the first time they appear in the abstract and text.

Footnotes. It is recommended that these be avoided, choosing rather to use parentheses in the text. When indispensable (information about the article, the sponsor of the work, address of the author, etc.) number them in the text with arabic algarisms.

Cited literature. The reference should be written according to the norms adopted by CEPLAC (consult a recent issue of the Journal).

The author should carefully compare the references with the original citation before submitting the article for publication. The reference should be cited in the text in the following forms: Morais (1978) or (Morais, 1978). When considering two or three authors, cite all in the text; when there are more than three, cite the first followed by the expression et al. At times a citation may be the result of a personal communication or of data not yet published. In these cases, it should be placed in parentheses and not included in the literature cited. When the author of a work is unknown / anonymous, use the word Anonymous or the corresponding word in the language of the text. In the case of corporative authors, cite the complete name of the institution.

More than one article by the same author in the same year will be distinguished with a lower case letter. Example: Souza (1978 a; b, etc.). The names of all the authors shall be included in the bibliographic references. The rules for citation are as follows:

PERIODICALS

ABREU, J.M. de. 1988. Avaliação de Gastoxin e Fertoxin na fumigação de cacau armazenado. *Revista Theobroma (Brasil)* 18(3): 181 - 188.

BOOK CHAPTERS

FERRONATO, E.M. de O. 1988. Eumolpinae associated with cacao trees (*Theobroma cacao* L.) in South east Bahia. In Jolivet, P., Petilpierre, E. and Hsiao, T.H., eds. *Biology of Chrysomelidae*. Dordrecht, Netherlands, Kluwer Academic. pp. 553 - 558.

BOOKS

WOOD, G.A.R. and LASS, R.A. 1985. *Cocoa*. London, Longman. 620 p.

THESIS

VIRGENS FILHO, A. de. C. 1986. Sangria por puntura no cultivar RRIM 600 no Planalto Paulista. Tese Mestrado. Piracicaba, ESALQ. 88 p.

SERIAL MONOGRAPHS

SILVA, L. F. da e LEITE, J. de O. 1988. Caracterização preliminar dos agrossistemas das regiões cacaueiras da Bahia e Espírito Santo. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico nº 156. 15 p.

PART OF MEETINGS

ALVIM, R. 1988. O cacaueiro (*Theobroma cacao* L.) em sistemas agrossilviculturais. In Conferencia Internacional de Investigación en Cacao, 10, Santo Domingo, 1987. *Actas. Lagos, Cocoa Producers' Alliance*. pp. 3-14.

Tables and figures. Avoid more than one table or figure for each three text typewritten pages, if possible. They should not repeat the data included in the text and are to be numbered with arabic algarisms and be self-explanatory.

The symbols * and ** may be used in the tables to indicate statistical significance at the 5% and 1% levels, respectively. Details should be clarified in footnotes which will be identified by letter or other symbol, when necessary. Horizontal lines should be used to separate the heading of the caption and body and this from the footnotes. Short horizontal lines can be used, if necessary, to separate subtitles within a heading. Vertical lines of separation can not be used.

The figures can be photographs, maps or graphs. Color figures may be accepted but the color reproduction must be paid by the authors. Their dimensions can not exceed 23 x 17.5 cm including the caption. In special cases (maps, for example), larger dimensions may be accepted as long as they do not exceed the double of the above specifications. The graphic scale will be used exclusively.

BIOTECNOLOGIA E MELHORAMENTO GENÉTICO DO CACAUEIRO (*Theobroma cacao* L.)

Luiz Antônio dos Santos Dias

CEPLAC, Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), Estação Experimental Filogônio Peixoto, Caixa Postal 102, 29 900-000, Linhares, Espírito Santo, Brasil. Endereço atual: Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa, 36 571-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

Resumo

Discutem-se as biotécnicas recentemente introduzidas na pesquisa genética e, com algum detalhe, suas implicações no melhoramento genético do cacaueiro. As técnicas consideradas são: hibridização *in situ*, obtenção de dihaplóides, cultura de tecidos, eletroforese de isoenzimas, RFLP e RAPD. A hibridização *in situ* mostrou ser técnica poderosa ao definir, em combinação com técnicas convencionais de citogenética, o nível de ploidia do cacaueiro. As pesquisas com dihaplóides devem prosseguir para viabilizar a produção de híbridos de linhagens endogâmicas. Híbridos de linhagens parcialmente endogâmicas devem ser testados quanto à performance, em comparação com os híbridos não convencionais (genitores clonais S_0) cultivados. Entretanto, atenção especial deve ser dada à clonagem dos híbridos superiores não convencionais, como forma alternativa de manter a uniformidade e a alta performance desses híbridos. Com relação à cultura de tecidos, merece destaque a micropropagação que, se aplicada como técnica rotineira, possibilitará, em breve, a multiplicação, em larga escala, de híbridos superiores e germoplasmas-elite. As isoenzimas devem ter aplicação intensificada em cacau, sobretudo nos estudos sobre estrutura genética de populações naturais e nos trabalhos de caracterização de germoplasmas. As técnicas do RFLP e do RAPD devem ser mais intensamente aplicadas no mapeamento genético do cacaueiro para viabilizar a seleção precoce. Fundamentalmente, todas as técnicas revisadas, além de estarem integradas aos objetivos dos programas de melhoramento, deverão ser conduzidas com amostras representativas.

Palavras-chave: *Theobroma cacao*, biotecnologia, melhoramento genético

Biotechnology and cacao (*Theobroma cacao* L.) breeding

Abstract

Biotechniques recently introduced in cacao research have been examined. Implications of technological advances in cacao breeding are discussed in some detail. The techniques considered are: *in situ* hybridization, production of dihaploids, tissue culture, electrophoresis of isozymes, RFLP and RAPD. *In situ* hybridization proved to be a powerful technique when, combined with conventional cytogenetic techniques, determines the cacao tree ploidy level. Researches with dihaploids should go on so hybrid production of inbred lines can be made possible. Hybrids from lines with partial levels of inbreeding should be tested in comparison with

nonconventional hybrids (clones parents not inbred). However, special attention should be given to clonal propagation of nonconventional superior hybrids as an alternative way to maintain the uniformity and high performance of these hybrids. With regard to tissue culture, the micropropagation should be applied as a routine technique, to hasten the multiplication in large scale of superior hybrids and elite germplasms. Isozymes should have their application intensified in cacao, specially in the genetic structure of natural populations and in germplasms characterization studies. RFLP and RAPD should be more intensively applied to cacao genetic mapping to make possible the early selection of materials. All revised techniques should be integrated to cacao breeding programs and carried out with representative samples.

Key words: *Theobroma cacao*, biotechnology, breeding

Introdução

As primeiras iniciativas sistematizadas de melhoramento genético do cacau (*Theobroma cacao* L.) foram implementadas há menos de 60 anos e caracterizaram-se pela descontinuidade. Assim, os programas de melhoramento do cacau, implantados pelos principais países produtores, podem ser considerados como recentes. O cacau apresenta um longo período juvenil, que impede que um ciclo de seleção seja completado em menos de 9 a 12 anos, dependendo da estratégia de recombinação adotada. Além disso, o ciclo produtivo dessa espécie, originária das florestas neotropicais úmidas, ultrapassa os 100 anos, embora produza economicamente durante 40 anos, em média. Ao longo desse período produtivo, o cacau convive com estresses bióticos e abióticos que, ao final, acarretam perda de produção.

Diante desse cenário, a introdução de biotécnicas pode trazer alguns benefícios ao melhoramento do cacau. O principal deles é acelerar a geração de conhecimentos fundamentais sobre a biologia e a genética do cacau. Em consequência, o melhoramento pode se tornar mais científico e preciso, com redução do tempo para desenvolvimento de cultivares de alta performance. Outro benefício oferecido por essas técnicas refere-se à ampliação da base genética dos programas de melhoramento de cacau, reduzindo a vulnerabilidade genética do cultivo. Isso porque as biotécnicas possibilitam uma avaliação quantitativamente maior e qualitativamente melhor dos germoplasmas à disposição dos melhoristas. Essa é uma extensão ao cacau das perspectivas oferecidas ao melhoramento de cultivos agrícolas pela introdução das biotécnicas, com base na análise de Frey (1992).

Antes de tratar da introdução da biotecnologia propriamente dita, é necessário traçar um breve panorama que reflita a evolução dos programas de melhoramento genético do cacau. Embora ênfase seja dada ao programa brasileiro, muitos dos aspectos tratados

são comuns aos programas desenvolvidos em outras regiões produtoras de cacau do mundo. O termo biotecnologia, empregado nesta revisão, engloba um conjunto de técnicas não convencionais aplicáveis ao melhoramento. Esta revisão tem como objetivo discutir as biotécnicas que mais efetivamente possam contribuir para o conhecimento da genética do cacau e para acelerar o seu melhoramento.

Panorama histórico

O melhoramento genético do cacau foi iniciado por F. J. Pound, na década de 30, em Trinidad. Na época, plantas individuais eram selecionadas em plantações comerciais e propagadas clonalmente. No Brasil, já na década de 20, foram criadas duas Estações Experimentais para conduzir pesquisa sistematizada com o cacau: a Estação de Goitacazes, em Linhares, Espírito Santo, pertencente ao Ministério da Agricultura, e a Estação de Água Preta, em Uruçuca, Bahia, do Instituto de Cacau da Bahia. Entretanto, somente na década de 50, após convênio firmado com o Escritório Técnico de Agricultura Brasil-Estados Unidos, o programa brasileiro tomou impulso, consolidando-se nos anos 60, com a criação do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC) pela Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC).

A partir da descoberta da heterose para produção de frutos em cacau (Russel, 1952), obtida do cruzamento entre pares de clones de origem genética distinta, países como Trinidad e Equador implantaram seus programas de hibridação. Trinidad distribuiu sementes de híbridos de cacaueiros aos seus cacaueiros, a partir de 1958. No Brasil, do programa desenvolvido pelo CEPEC, surgiram os primeiros híbridos biclonais de cacau, propagados comercialmente por sementes. As possibilidades de obtenção de genótipos superiores a curto prazo, de aproveitamento das interações gênicas favoráveis no híbrido e de produção de sementes de híbridos de cacaueiros em larga escala, modificando o

panorama econômico regional, foram as razões fundamentais da opção pelo híbrido. A contribuição desses híbridos de cacaueros para o aumento da produtividade do cacau brasileiro tem sido decisiva. A produtividade média das lavouras, situada em 400 kg/ha/ano nos anos 60, alcançou 750 kg/ha/ano na década de 70 (Monteiro, 1985). Convém ressaltar que produtividades acima de 3.000 kg/ha/ano de amêndoas secas não são raras nos experimentos de competição de híbridos conduzidos no Sul da Bahia (Carletto e Mariano, 1987; Carletto e Pereira, 1987). Esses experimentos não receberam adubação e nem tratamento fitossanitário, realçando a superioridade das cultivares híbridas e confirmando a sua expressiva contribuição para o aumento da produtividade das lavouras cacaueras do Brasil.

A síntese de híbridos de cacaueros, contudo, caracterizava-se pelo empirismo e pela aleatoriedade, a despeito das potencialidades representadas pela exploração da heterose. Clones produtivos de per si podiam gerar progênies de baixa produção quando em cruzamento, sendo o inverso também verdadeiro. A seleção dos clones genitores dos híbridos passou então a ser feita com base nos testes de capacidade combinatória. Na década de 70, surgiram as primeiras informações sobre a capacidade de combinação dos clones, permitindo a identificação de combinações genotípicas mais favoráveis tanto para a produção como para outros caracteres. Registros históricos têm tratado da evolução dos programas de melhoramento do cacau, implantados pelos principais Centros de pesquisa do mundo (Cope, 1976; Kennedy et al., 1987) e do Brasil (Vello et al., 1969).

As cultivares híbridas propagadas por sementes não são os únicos materiais de plantio adotados pelas principais regiões produtoras de cacau do mundo (Toxopeus, 1985). A propagação vegetativa em escala comercial é utilizada em algumas dessas regiões com grande êxito, como na Malásia. Kennedy et al. (1987), em uma avaliação muito subjetiva e questionável, relataram que os esforços de melhoramento do cacauero causaram pouco impacto na produção dos maiores centros produtores do mundo, como no caso do Brasil. Impacto maior, segundo os autores, ocorreu em Camarões, Costa do Marfim e Malásia, em virtude da origem recente da maior parte de suas plantações, dos seus programas de melhoramento desenvolvidos sobre uma ampla base genética e da opção por plantios clonais, no caso da Malásia. O melhoramento praticado em Trinidad foi utilizado por Kennedy et al. (1987) para realçar a importância da continuidade de um programa de melhoramento, estruturado com objetivos bem definidos. Apesar de ser um programa bem sucedido, como avaliaram os autores, pouco impacto teve na indústria

chocolateira de Trinidad.

A década de 80 foi marcada pela introdução de modernas tecnologias ao melhoramento do cacauero, a exemplo da hibridização *in situ*, eletroforese de isoenzimas, obtenção de dihaplóides e aprimoramento da cultura de tecidos. Recentemente, as técnicas de regeneração de protoplasto, do RFLP e do RAPD marcaram a entrada definitiva da pesquisa cacauera na área da biotecnologia. São essas tecnologias modernas, auxiliares ao melhoramento convencional do cacauero, que se pretende abordar, de modo crítico, neste trabalho.

Hibridização *in situ*

Essa técnica fundamenta-se na capacidade de desnaturação e renaturação das moléculas de DNA. O maior ou menor grau de homologia das seqüências de bases entre as fitas simples define a semelhança ou a divergência entre as moléculas de DNA. A hibridização *in situ* tem sido utilizada como técnica-meio em clonagem de genes e RFLP. Neste trabalho, entretanto, é referida como técnica-fim, conduzida dentro de preparações citológicas.

A hibridização *in situ* foi utilizada por Glicenstein e Fritz (1989b), em associação com técnicas de citogenética convencional, para pôr fim a uma controvérsia sobre o nível de ploidia de *T. cacao*, que perdurou por décadas. O cacau era considerado uma espécie diplóide, com $2n = 20$ cromossomos (Davie, 1933), até Opeke e Jacob (1969) detectarem a presença de tetravalentes na meiose de *T. cacao* var. Nanay 32 e classificarem a espécie como autotetraplóide. Convém lembrar que os autopoliplóides são muito diferentes dos diplóides quanto à segregação e à recombinação, devido às múltiplas possibilidades de pareamento cromossômico. Trabalhos posteriores (Carletto, 1974; Martinson, 1975) apresentaram ainda resultados controversos, com identificação de trivalentes e univalentes na meiose.

A análise citogenética convencional conduzida por Glicenstein e Fritz (1989b) em mais de 400 meiócitos de quatro clones distintos, resultou num pareamento estritamente bivalente, com ocorrência máxima de dois nucléolos e duas regiões organizadoras do nucléolo por núcleo de célula de raiz e na associação de apenas dois cromossomos com o nucléolo, em células do diplóteno e diacinese. A hibridização *in situ*, com sonda de DNA de cacau de cópia única, produziu uma única banda de hibridização no bivalente paquitênico. Entretanto, no complemento cromossômico somático, duas regiões de hibridização foram observadas, confirmando as análises citológicas. Tais resultados refletiram a natureza diplóide de *T. cacao*, uma espécie dotada de 20 cromossomos,

como ficou comprovado (Davie, 1933; Carletto, 1971; Glicenstein e Fritz, 1989a). A associação das técnicas convencionais de citogenética com a moderna técnica da hibridização *in situ* foi bem sucedida. Assim, as estratégias utilizadas e os resultados obtidos nos programas de melhoramento genético do cacau, conduzidos até a presente data, foram validadas. Nesses programas, o cacau era tratado como uma espécie diplóide, segregando como tal.

Obtenção de dihaplóides

Os híbridos biclonais de cacau, propagados sexuadamente, apresentam forte segregação em campo para diversos caracteres, incluindo a produção. O fato é atribuído à utilização de genitores clonais S_0 , heterozigóticos. Tais híbridos têm estrutura genética de híbridos duplos, sendo considerados híbridos não convencionais, à semelhança dos híbridos intervarietais de milho. Híbridos não convencionais são todos os híbridos produzidos a partir de genitores não endogâmicos. Por outro lado, a síntese de híbridos simples biclonais por processo tradicional de autofecundações sucessivas dos genitores é dificultada principalmente pelo longo período de tempo exigido para avançar gerações. A obtenção de haplóides, e a posterior duplicação de seus cromossomos com colchicina, forma os dihaplóides e abre a perspectiva de produção de genitores endogâmicos para a síntese de híbridos simples. Haplóides espontâneos em cacau surgem numa frequência de 10^{-4} a 10^{-3} até 2%, a depender do genótipo (Dublin, 1974). Os haplóides podem ser obtidos naturalmente de sementes chochas, ou artificialmente, por polinização tardia em flores abertas após 24 horas e até mesmo por cruzamentos interespecíficos (Dublin, 1984; Pinto et al., 1986). Também sementes monoembriônicas e poliembriônicas são fontes de haplóides (Dublin, 1984).

A preocupação maior quanto à utilização de dihaplóides como genitores de híbridos de cacau refere-se à fertilidade dos grãos de pólen e dos óvulos desses tipos genitores. Fertilidade reduzida e variável comprometeria a produção de sementes de híbridos. Lanaud (1987a) estudou a questão em dihaplóides obtidos na Costa do Marfim. Esses dihaplóides apresentaram fertilidade de pólen e óvulo reduzida, com maior variação sazonal em relação aos clones genitores diplóides. Os híbridos entre eles, no entanto, tiveram a fertilidade restaurada. Fato semelhante ocorreu com a expressão de caracteres de herança monogênica e poligênica (Lanaud, 1987b). Assim, a percentagem de amêndoas chochas e o peso de 100 amêndoas mostraram alta variabilidade em relação aos

valores obtidos nos genitores clonais diplóides; os híbridos entre os dihaplóides, porém, apresentaram recuperação dos valores normais para esses dois últimos caracteres. Convém lembrar que o caráter semente chocha tem alta associação positiva com a percentagem de haplóides produzidos.

Basta restaurar a fertilidade dos dihaplóides de per si para viabilizar a sua utilização como genitores dos híbridos, uma vez que suas progênes híbridas têm fertilidade normal. Isso parece possível, obtendo-se dihaplóides de clones diplóides autocompatíveis. Os clones autocompatíveis, sendo mais homozigóticos e apresentando menor carga genética, devem expressar menos alelos deletérios responsáveis pela redução da fertilidade de pólen e óvulo. Cabe registrar que Lanaud (1987a; 1987b) empregou clones alto Amazônicos autoincompatíveis na produção dos dihaplóides.

Todavia, a produção de sementes em quantidade satisfatória por parte dos dihaplóides não garante a síntese de híbridos de alta performance. Para atingir esse último objetivo, é necessário selecionar os melhores genitores entre os dihaplóides. Em princípio, seria preciso então constituir uma grande coleção de dihaplóides, para oportunizar a escolha dos melhores como genitores de híbridos. Entretanto, Lanaud (1987b), após observar a segregação em haplóides de seis marcadores isoenzimáticos, que se mostraram heterozigóticos nos clones parentais diplóides, obteve uma segregação mendeliana normal (1:1), na maioria das famílias de haplóides testados, concluindo que a integridade do genoma diplóide é mantida nos tipos haplóides e, subsequente, nos dihaplóides. Deduz-se desse resultado que os dihaplóides devem ser obtidos de clones diplóides naturais, selecionados pela sua alta capacidade geral de combinação. A propósito, a obtenção de haplóides a partir de germoplasmas do CEPEC, detentores de boa capacidade combinatória e de caracteres agrônômicos superiores, foi proposta por Pinto et al. (1986).

O desenvolvimento de haplóides e dihaplóides em algumas espécies tem enfrentado dificuldades, principalmente em virtude da mortalidade desses organismos em condições de campo (Fehr, 1987). Em cacau, os haplóides desenvolvem apenas raiz principal sem radículas e, portanto, não sobrevivem do seu próprio sistema radicular. Então, a sobrevivência dos haplóides, por alguns anos, foi assegurada com a enxertia do ramo haplóide em cacau diplóide natural (Dublin, 1974; Lanaud, 1987a).

Enquanto prosseguem as pesquisas com dihaplóides, outras estratégias alternativas para produção de linhagens endogâmicas em cacau estão sendo testadas. A produção de linhagens puras, através de autofecundações

sucessivas dos genitores, foi revigorada com a introdução do processo de enxertia denominado "enxertia verde" (Pinto et al., 1990). Esse processo de enxertar plântulas em plantas adultas permite, segundo os autores, reduzir drasticamente o longo período juvenil apresentado pelo cacau, podendo viabilizar a produção de linhagens.

Outros autores defendem a produção de híbridos de cacaueiros, a partir de genitores parcialmente endogâmicos (Bartley, 1969; Soria e Esquivel, 1969). Segundo eles, algum grau de endogamia é tolerado pelo cacau e seria suficiente para eliminar grande parte da segregação apresentada pelos híbridos de genitores clonais S_0 . Não existem dados confirmando a tese. Todavia, em milho, Borrero, Pandey e Ceballos (1992) utilizaram dois cultivares de polinização livre para desenvolver híbrido intervarietal e híbridos de linhagens com diferentes níveis de endogamia, de S_1 até S_4 . Os testes em 13 ambientes demonstraram que, quanto à produção e à estabilidade, os híbridos de linhagens parcialmente endogâmicas comportaram-se de modo semelhante ao híbrido intervarietal não convencional. Não existem testes experimentais semelhantes em cacau e é necessário realizá-los. Se os resultados dos testes com milho se repetirem para cacau, então os híbridos de linhagens parcialmente endogâmicas não devem ser sintetizados, sobretudo pelo alto custo e o prolongado tempo exigido para avanço de gerações com endogamia.

O problema, no entanto, não pode ser apreciado apenas do ponto de vista dos genitores. Se o objetivo é manter a uniformidade no comportamento dos híbridos de S_0 , com referência à produção e a outros caracteres, a sua clonagem passa a ser uma alternativa menos dispendiosa e mais eficiente, em relação à obtenção de dihaplóides e/ou de genitores endogâmicos ou parcialmente endogâmicos. A clonagem em escala comercial dos híbridos biclonais superiores, além de reproduzir integralmente as combinações híbridas, pode eliminar a desuniformidade verificada nos híbridos de cacaueiros multiplicados por semente. A clonagem, naturalmente, se restringiria aos melhores indivíduos dentro dos melhores híbridos. Dias (1993b) discutiu a possibilidade dos plantios clonais em propriedades cacaueiras com alto nível tecnológico. Inspirado nos modelos bem sucedidos da silvicultura clonal, o autor defendeu os plantios multiclonais a partir de blocos monoclonais de 5 a 10 hectares. Ainda que sem dispor de um número ideal de clones para recomendação, algo como 10 a 15 clones, testados em competição para cada região, foram sugeridos. Os clones seriam obtidos por técnicas convencionais de enxertia e/ou estaquia. Entretanto, no futuro, as técnicas de micropropagação substituirão, com vantagens, a clonagem convencional. Aliás, técnicas de

micropropagação começam a ser desenvolvidas para o cacau, como será visto no item seguinte.

Cultura de tecidos

Em cacau, calos têm sido obtidos a partir de uma grande variedade de explantes como folhas, pericarpo, óvulos, embriões imaturos, cotilédones e eixo embrionário de embriões maduros. Esses calos surgem a partir de uma grande variedade de meios de cultura e sob variadas condições fisiológicas de luz e temperatura. Entretanto, todas as tentativas de se produzir regenerantes a partir de calos têm falhado (Dublin, 1984). Esse era o cenário da aplicação da cultura de tecidos em cacau até o início da década de 80.

Sabia-se, desde então, que a cultura de tecidos poderia ampliar o seu valor como técnica auxiliar ao melhoramento genético do cacau, quando regenerantes fossem obtidos. De fato, com a continuidade das pesquisas, os resultados positivos começaram a surgir (Litz, 1986). Adu-Ampomah et al. (1988a) relataram o desenvolvimento de metodologia visando o estabelecimento de coleções de cacau *in vitro*. Trata-se de um importante avanço para os programas de melhoramento. O estabelecimento e a manutenção de micro-coleções de germoplasma-elite facilitarão os trabalhos de caracterização e manutenção de germoplasmas. Ademais, tais coleções permitirão um intercâmbio mais intenso de recursos genéticos entre as instituições de pesquisa de cacau.

A hibridação interespecífica em cacau gera poucos embriões, muitos deles abortados precocemente e outros remanescentes que não desenvolvem sementes normais (Dublin, 1984). A cultura de tecidos, via cultivo de embriões, permitiria o resgate desses embriões. Palma e Villalobos (1989) desenvolveram metodologia para o resgate de embriões provenientes de sementes chochas de cacau, consideradas haplóides. Também o cultivo de embriões imaturos, com formação de embriões, foi relatado por Rodriguez (1987), embora sem sucesso na regeneração dessas estruturas.

A cultura de tecidos apresenta ainda importância nos estudos sobre biossíntese de polifenóis e componentes de sabor e aroma de chocolate, como demonstram os estudos de Jalal e Collin (1977) e Paiva (1982). Em fitopatologia, Prior (1977) empregou com êxito o cultivo de calos como substratos vivos para estudo do crescimento do fungo *Oncobasidium theobromae*, causador de uma doença vascular em cacaueiros de Papua Nova Guiné. A utilização da variação somaclonal, derivada da embriogênese somática, é defendida por Adu-Ampomah et al. (1988b) nos estudos sobre resistência à

podridão parda e vassoura-de-bruxa, cujos agentes causais são *Phytophthora* spp. e *Crinipellis pernicioso*, respectivamente. Esses últimos autores justificam o uso dessa variação alegando reduzida variabilidade entre e dentro de populações, para resistência a tais doenças. Essa alegação pode não ser verdadeira. Na busca da resistência, poucos germoplasmas têm sido testados. Ademais, as metodologias dos testes de resistência em plântulas e plantas adultas de cacau não estão ainda perfeitamente ajustadas.

Resultados positivos na obtenção de regenerantes são recentes. A regeneração de protoplastos de cacau foi relatada por Kanchanapoom e Kanchanapoom (1991), embora já tivessem sido isolados por Thompson et al. (1988). Protoplastos constituem sistemas valiosos para estudos genéticos e de interação patógeno-hospedeiro. Outra técnica derivada da cultura de tecidos, denominada micropropagação, experimenta novos avanços. Embriões somáticos, produzidos de explantes de pétalas e tecidos nucelares, foram obtidos com êxito e resultaram em plântulas (Duhem, Le Mercier e Boxus, 1989; Wen e Kinsella, 1991; Chatelet, Michaux-Ferrière e Dublin, 1992; Figueira e Janick, 1993; López et al., 1993; Sondahl et al., 1993). A técnica ganhou impulso com o desenvolvimento de protocolo para conversão dos embriões somáticos nucelares em plântulas (Figueira e Janick, 1993) e com os procedimentos desenvolvidos por Flynn, Glicenstein e Fritz (1990) para obtenção de milhares de plântulas de cacau a partir da propagação *in vitro* de uma simples gema axilar. Desse modo, a micropropagação poderá viabilizar a propagação clonal, em grande escala, de germoplasmas e híbridos-elite.

É necessário observar que, nos trabalhos de cultura de tecidos em cacau, a técnica em si tem recebido uma importância excessiva em relação aos objetivos do melhoramento. Isoladamente a cultura de tecidos não é de grande valia. Entretanto, se integrada ao programa de melhoramento, como técnica auxiliar, pode ser muito valiosa, como demonstrado em diversas culturas.

Isoenzimas

As múltiplas formas de uma enzima, também chamadas variantes, dotadas da mesma atividade catalítica e ocorrendo em uma simples espécie, são chamadas isoenzimas. O termo foi criado por Market e Moller (1959). A existência de variantes de uma enzima qualquer deve-se a múltiplos locos gênicos codificando para diferentes versões da enzima. As isoenzimas são reveladas quando extratos de tecidos de partes diversas das plantas são submetidos a eletroforese em gel de amido ou poliacrilamida. A revelação se dá quando esses géis são

imersos em solução corante, específica para cada sistema enzimático. Em plantas, as isoenzimas vem sendo utilizadas como marcadores nos estudos de identidade de parentais de híbridos, controle de cruzamentos, determinação da taxa de cruzamento, identidade de lotes de sementes, construção de mapas genéticos, estudos de diversidade entre e dentro de populações, estudos de deriva genética e de especiação.

Os primeiros estudos isoenzimáticos em cacau foram baseados em protocolos modificados, desenvolvidos para o cafeeiro (Amefia et al. 1984; Lanaud e Berthaud, 1985). Entretanto, a maior contribuição ao melhoramento do cacau, advinda do emprego das isoenzimas, foi proporcionada por Lanaud (1986). Empregando seis sistemas isoenzimáticos codificados por oito locos, o autor reconstituiu a história das introduções de germoplasmas de cacau na Costa do Marfim. Assim, ficou evidenciada a estreita base genética em que se encontra assentado o cultivo de cacau naquele país. Evidenciou-se também a necessidade de novas introduções de cacaueiros para obtenção de maiores progressos no melhoramento genético local. Todavia, os resultados obtidos por Lanaud (1986) são passíveis de críticas devido ao reduzido número de locos estudados e também ao reduzido tamanho da amostra utilizada. Ademais, a pequena absorção da variação total disponível, por parte dos dois primeiros componentes principais (35%) empregados para análise dos dados isoenzimáticos, constituiu outra séria limitação ao trabalho.

Mais recentemente, Lanaud et al. (1993) utilizaram marcadores isoenzimáticos para quantificar a diversidade genética de uma ampla coleção composta de 314 genótipos de cacau, pertencentes aos diferentes grupos raciais. Altos níveis de variabilidade foram detectados para o grupo dos forasteiros do alto Amazonas, correspondentes aos níveis exibidos nas populações de trinitários, crioulos e forasteiros do baixo Amazonas juntas. Contrariamente, Warren (1994) detectou baixos níveis de polimorfismo isoenzimático nas populações de forasteiros do alto Amazonas. A amostragem utilizada por esse autor envolveu nove populações representadas por 140 indivíduos, originárias das bacias dos rios Orinoco e Amazonas. Resultados contraditórios como esses demonstram bem as dificuldades dos estudos isoenzimáticos com cacau. Aliás, esses estudos precisam ser ampliados em número e envolver um maior número de populações, adequadamente amostradas e de locos e serem conduzidos sob procedimentos padronizados.

Além de estudos referentes à estrutura genética de populações, as isoenzimas podem ser valiosas para caracterização de germoplasmas de cacau. Esses germoplasmas são mantidos em coleções de campo, em

diversos países, como Brasil, Trinidad, Costa Rica, entre outros. Muitos desses bancos de germoplasmas, como o de Trinidad, possuem mais de dois mil acessos. Em todos eles, no entanto, a caracterização é feita usando descritores botânico-agronômicos referentes a folhas, flores, frutos e sementes, num processo lento, laborioso e que somente pode ser conduzido em planta adulta. Como consequência, existe mais germoplasma para ser caracterizado e avaliado do que a capacidade dos geneticistas comporta. Descritores confiáveis, de grande poder discriminatório, de rápida e fácil aplicação em numerosos acessos, pouco influenciados pelo ambiente, de baixo custo e detectados em quaisquer fases de desenvolvimento e quaisquer partes das plantas são os ideais. As isoenzimas preenchem todos esses requisitos (Adams, 1983), de modo que, se aplicadas às coleções de germoplasmas, em combinação com os descritores tradicionais, podem gerar padrões de bandas que permitam discriminar um acesso do outro. Isoenzimas estão sendo aplicadas com esse objetivo ao banco de germoplasma internacional de Trinidad (Sirju-Charran, Johnson e Warren, 1991).

Outras tentativas de caracterização de germoplasmas foram relatadas (Atkinson, Withers e Simpson, 1986; Yidana, Kennedy e Withers, 1988) mas sem grande êxito. Yamada (1991), entretanto, detectou expressivo polimorfismo, ao utilizar germoplasmas mais divergentes e uma metodologia mais ajustada de eletroforese. A propósito, Yamada e Guries (1989) desenvolveram protocolo na tentativa de produzir um mínimo de padrão em estudos eletroforéticos com cacau. De grande interesse é o estudo enzimático envolvendo cultivares de cacau com diferentes graus de resistência à podridão parda e isolados de *Phytophthora* de diferentes partes do mundo (Blaha, 1988). A interação patógeno-hospedeiro é analisada por comparação entre os zimogramas obtidos de discos foliares infectados e discos não infectados, permitindo diferenciar, em laboratório, as cultivares resistentes das suscetíveis.

A análise isoenzimática tornou-se uma técnica muito valiosa no estudo das espécies arbóreas, notadamente entre as coníferas de clima temperado. Desde a década de 70, passou a ser empregada rotineiramente no melhoramento dessas espécies. Com relação às espécies arbóreas tropicais, a aplicação das isoenzimas é mais recente, porém não menos eficiente, e com tendências ao crescimento. A técnica tem viabilizado o estudo da estrutura genética das árvores tropicais, para fins de melhoramento e conservação genética (Moran e Bell, 1983, Dias e Kageyama, 1991). Seu sucesso deve-se à versatilidade de uso, grande poder discriminatório, baixo custo, facilidade operacional, rapidez na obtenção dos

resultados e a interpretação facilitada do zimograma por comparação com a literatura. Ademais, as isoenzimas são herdadas por **codominância** (Adams, 1983), possibilitando distinguir os **genótipos** heterozigotos dos homozigotos. Apesar de **todas** essas vantagens, sua aplicação em cacau tem sido **muito** restrita. Uma das razões é a presença, em excesso, de polifenóis mascarando a expressão das enzimas. O protocolo de Yamada e Guries (1989) superou essa dificuldade técnica. A razão principal parece ser então o reduzido número de pesquisadores atuando na área. A maioria dos trabalhos na área tem sido produzida nos laboratórios francês (Centro de Cooperação Internacional em Pesquisa Agronômica para o Desenvolvimento - CIRAD/Montpellier) e norte-americano (Universidade de Wisconsin/Madison). Finalmente, é necessário lembrar que as isoenzimas correspondem ao produto do gene e, como marcadores, não estão disponíveis em número suficiente para promover uma ampla cobertura do genoma. Para informação direta dos genes e detecção de maiores níveis de polimorfismo, algumas técnicas modernas foram desenvolvidas, a exemplo do RFLP e RAPD, que serão discutidas na sequência.

RFLP

O polimorfismo de fragmentos de restrição de DNA (Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP) é uma técnica recente, porém já aplicada a muitas espécies vegetais. A técnica possibilita avaliar qualitativa e quantitativamente o DNA dos organismos, através do número e tamanho dos fragmentos produzidos, quando esse DNA é digerido por enzimas de restrição. As mudanças que resultam na perda ou aquisição dos sítios de restrição são detectadas pelo RFLP, uma vez que geram fragmentos diferentes em tamanho e número. A execução da técnica do RFLP exige a extração e a purificação do DNA do indivíduo sob análise. Posteriormente, fragmenta-se o DNA com enzimas de restrição, gerando uma população de fragmentos. Os fragmentos são separados por tamanhos pela eletroforese em gel, transferidos do gel para um filtro de nitrocelulose, usando a técnica Southern blot, e hibridizados com uma sonda de DNA marcada, cópia única, homóloga ou parcialmente homóloga a esses fragmentos. Por último, as bandas de hibridização entre fragmentos e sonda são visualizadas por autoradiografia. A combinação de diferentes sondas de DNA testadas ao acaso com diferentes enzimas de restrição permite discriminar genótipos. Os princípios da técnica do RFLP e sua aplicação no melhoramento de plantas agrícolas foram revisados por Beckmann e Soller (1986); Tanksley et al.

(1989) e Maluf (1990).

A técnica do RFLP foi recentemente aplicada em cacau com o objetivo de discriminar germoplasmas (Mirazon et al., 1989; Figueira, Janick e Goldsbrough, 1992; Lerceteau, Crouzillat e Petiard, 1993). Em todos os casos, a técnica mostrou-se valiosa para diferenciação genética entre os germoplasmas, assumindo que diferenças entre indivíduos resultam de diferenças nos DNAs desses indivíduos. Entretanto, a amostragem do germoplasma utilizada nesses trabalhos foi restrita, a despeito da detecção de polimorfismo de RFLP. O pioneirismo da iniciativa, todavia, é que deve ser enfatizado e merecer maior atenção que o aspecto da discutível representatividade da amostra. Ultimamente, diversos trabalhos com RFLP aplicado a cacau vêm ampliando a amostragem de germoplasmas (Laurent, Risterucci e Lanaud, 1993a; 1993b; 1994). Um protocolo para análise de RFLP em cacau também foi desenvolvido (Mirazon et al., 1989).

Estudos de avaliação da diversidade genética usando RFLP vem confirmando a classificação dos grupos raciais em cacau, conforme proposta por Cheesman (1944). Essa classificação estabelece a existência de três grupos raciais: crioulos de amêndoas brancas, suscetíveis a doenças e pouco produtivos; forasteiros dotados de amêndoas púrpuras, rústicos e vigorosos, responsáveis por mais de 80% da produção mundial de cacau e o híbrido entre crioulos e forasteiros denominado trinitário. Assim, os estudos envolvendo RFLP de DNA mitocondrial (Laurent, Risterucci e Lanaud, 1993a), DNA ribossômico nuclear (Laurent, Risterucci e Lanaud, 1993b) e DNA nuclear (Laurent, Risterucci e Lanaud, 1994) têm discriminado os tipos forasteiros dos tipos crioulos, ao contrário dos estudos isoenzimáticos. Além de utilizar marcadores RFLP, que detectam maior nível de polimorfismo em comparação com os marcadores isoenzimáticos, esses trabalhos empregaram amostras mais amplas do germoplasma de cacau. Trata-se, portanto, de uma técnica valiosa para estudos de evolução e de movimentação das populações de cacau.

Embora o RFLP possa ser empregado com sucesso na detecção da variação genética entre indivíduos, o potencial maior dessa técnica está no mapeamento genético. Nesse caso, marcadores polimórficos RFLP podem ser usados para se localizar e se avaliar locos ligados controlando caracteres quantitativos (Quantitative Trait Loci), denominados QTLs. Se um dado QTL está associado a um marcador RFLP, uma planta que contenha o referido QTL poderá ser selecionada pela detecção do RFLP específico. Assim, em uma espécie com um mapa genético saturado, pode-se proceder à seleção para caracteres quantitativos através dos

marcadores. Lanaud et al. (1993) e Lerceteau, Crouzillat e Petiard (1993) vêm utilizando marcadores moleculares RFLPs no mapeamento do genoma de cacau. Marcadores RFLPs têm herdabilidade 1,0, sendo, portanto, de grande utilidade para seleção indireta, sempre que o coeficiente de determinação genotípica entre os RFLPs e o caráter quantitativo de interesse for superior à herdabilidade desse último, como demonstra a genética biométrica (Gallais, 1984). Em plantas perenes, como o cacaueiro, a produção de amêndoas se expressa após um longo período juvenil e a utilização do RFLP pode viabilizar a seleção precoce para esse caráter. Nesse caso, após detectar marcadores RFLPs associados a QTLs controlando a produção, utilizar-se-iam esses marcadores para a seleção desse caráter, ainda em plântulas. Os marcadores RFLPs têm herança mendeliana simples e atuam por codominância (Tanksley et al., 1989), à semelhança das isoenzimas, possibilitando que os heterozigotos sejam distinguidos dos homozigotos. A essas vantagens do RFLP, somam-se algumas desvantagens, como a exigência de DNA altamente purificado, tornando a técnica muito laboriosa, além do custo elevado e de uma interpretação mais complexa do padrão de bandas, em comparação com as isoenzimas. A técnica do RAPD, que será vista a seguir, alia a maioria das vantagens do RFLP, com a eliminação de algumas das suas desvantagens.

RAPD

A reação de amplificação de DNA por DNA polimerase utilizando seqüências decaméricas arbitrárias (Random Amplified Polymorphic DNA), usualmente denominada técnica do RAPD, foi desenvolvida por Williams et al. (1990). Fundamenta-se na reação de replicação e amplificação enzimática exponencial *in vitro* de um fragmento de DNA qualquer, com base na reação de cadeia catalizada por polimerase (Polymerase Chain Reaction - PCR). Na realidade, o RAPD representou um avanço na reação de PCR por dispensar o conhecimento das seqüências nucleotídicas que flanqueiam o DNA alvo. O RAPD baseia-se na amplificação seletiva de fragmentos de DNA, a partir de seqüências oligonucleotídicas arbitrárias, que são os iniciadores de cadeia de DNA (primers decaméricos). Toda a reação se processa em ciclos, compostos de três etapas, realizadas a diferentes temperaturas: desnaturação do DNA a ser amplificado (95°C), hibridização ou anelamento ao primer (54°C) e alongamento da cadeia de DNA pela enzima taq DNA polimerase (72°C), no caso da PCR. Para a técnica do RAPD, são utilizadas condições ditas de baixa estringência, como o anelamento a 36°C. Os ciclos, em número máximo de 45, têm duração de até três minutos

cada e são processados em máquinas automáticas denominadas termocicladores. Cada reação pode acomodar centenas de amostras, a depender da capacidade do termociclador, e durar, em média, duas horas. Os produtos da amplificação corados com brometo de etídio são visualizados em gel de agarose, com uso de luz ultra-violeta. Desse modo, o polimorfismo de DNA revelado por RAPD corresponde à amplificação diferencial de fragmentos de DNA, detectado como presença ou ausência de bandas. A amplificação diferencial se deve a variações na sequência nucleotídica.

Fritz et al. (1993) estão utilizando a técnica do RAPD na avaliação da variabilidade genética entre isolados de *Crinipellis pernicioso*, o fungo causador da vassoura-de-bruxa, obtidos em Trinidad e Brasil. Por outro lado, marcadores RAPDs foram usados para caracterizar clones de cacau, pertencentes a diferentes grupos raciais de *T. cacao*, espécies de *Herrania* e uma espécie não cultivada de *Theobroma* (Wilde, Waugh e Powell, 1992). Um único primer permitiu discriminar, com segurança, todos os 13 genótipos avaliados. O resultado, contudo, não chega a surpreender, uma vez que uma simples caracterização morfológica discriminaria genótipos tão distintos. Polimorfismo de DNA, usando RAPD, também foi detectado em três genótipos de cacau (Figueira, Janick e Goldsbrough, 1992). Aqui, como no item sobre RFLP, o pioneirismo da introdução da técnica na cultura é que deve merecer maior atenção. Todavia, trabalhos posteriores com RAPD em cacau deverão envolver objetivos originais, bem delineados, e amostragens adequadas, para não serem questionados. Recentemente, as relações entre 56 clones de cacau (*T. cacao*), duas espécies selvagens *T. bicolor* e *T. mammosum* e o gênero *Herrania* foram investigadas por Lerceteau, Crouzillat e Petiard (1993), com o uso do RAPD. A variabilidade genética intergenérica e interespecífica foi superior à intraespecífica. Resultado semelhante foi obtido por Wilde, Waugh e Powell (1992).

Os marcadores RAPDs possibilitam ainda mapear, com relativa rapidez, genomas relativamente grandes. Genomas de coníferas com 17 a 34 picogramas de DNA por núcleo haplóide estão sendo mapeados por essa técnica. Hedrick (1992) relatou que, no laboratório da Universidade de Carolina do Norte, já se construiu um mapa genético para *Pinus taeda* com 200 marcadores RAPDs, em apenas dois meses. Essa técnica apresenta perspectivas muito favoráveis, se empregada no mapeamento genético do cacauero, dado que a espécie apresenta um dos menores genomas de plantas (Lanaud, Hamon e Duperray, 1992; Figueira, Janick e Goldsbrough, 1992; Couch, Zintel e Fritz, 1993), da ordem de 0,402 picogramas de DNA por núcleo haplóide, como relatado pelos dois

primeiros trabalhos. Atualmente, marcadores moleculares RAPDs estão sendo utilizados no mapeamento do genoma de cacau (Fritz et al., 1993; Lanaud et al., 1993). Aliás, trabalhos envolvendo a seleção assistida por marcadores começam a surgir em cacau. Assim, Fritz et al. (1993) empregaram marcadores moleculares RAPDs na tentativa de identificar genes de resistência à vassoura-de-bruxa, a partir de primers testados em clones resistentes (Sca 6) e suscetíveis (UF 613). Os primers que detectarem polimorfismos, segundo os autores, serão utilizados na avaliação das progênes retrocruzadas ($F_1 \times$ Sca 6 e $F_1 \times$ UF 613).

A técnica do RAPD pode também significar uma economia de tempo no mapeamento, se comparado à abordagem por RFLP. RAPD dispensa a construção de biblioteca genômica e a hibridização em Southern blot. Além disso, trabalha com DNA pouco purificado, em quantidades que variam de 20 a 50 nanogramas, contra 50 microgramas de DNA purificado exigidos pelo RFLP. Se comparado a isoenzimas e RFLP, o RAPD destaca-se pela facilidade e baixo custo operacionais, devido aos protocolos simples e universais, rapidez na obtenção dos resultados, automaticidade proporcionada pelos termocicladores e pelo não envolvimento com radioatividade. Além do mais, os marcadores RAPDs podem detectar polimorfismos em regiões de DNA repetitivo, inacessíveis a RFLPs (Williams et al., 1990). Por fim, a desvantagem de serem marcadores herdados por dominância pode ser superada pelo emprego de dihaplóides de cacau, ou seja, genótipos homozigóticos fixados, como argumentaram Wilde, Waugh e Powell (1992). Recente análise comparativa envolvendo os marcadores moleculares RAPDs e RFLPs (Santos et al., 1994) provou que ambos apresentam nível de resolução equivalente na discriminação de genótipos de *Brassica oleracea*.

Considerações finais

O melhoramento convencional do cacauero, praticado com híbridos de alta performance produtiva, tem obtido relativo sucesso. Entretanto, muito esforço ainda resta ser realizado nessa área. A clonagem comercial dos híbridos, por exemplo, ainda não foi explorada pelo programa brasileiro de cacau. O melhoramento de populações tampouco tem recebido a devida atenção nesse programa. A estimação de parâmetros genéticos, para definição de estratégias, não é uma atividade comum no melhoramento de cacau. As possibilidades de predição do comportamento de genótipos, oferecidas pela genética quantitativa, não têm sido completamente exploradas, na maioria dos centros de pesquisas de cacau. A viabilidade

de identificação de grupos heteróticos de clones, por exemplo, antes mesmo de realizarem-se os cruzamentos, foi demonstrada pela primeira vez em cacau por Dias (1994). Esse autor provou a validade da predição da performance média e heterótica de híbridos, com relação a componentes de produção, a partir da estimativa de divergência genética multivariada obtida dos correspondentes genitores desses híbridos.

Os vários centros de pesquisas de cacau têm como paradigma o melhoramento das espécies agrícolas anuais, aplicando ao cacaueiro as metodologias desenvolvidas para essas espécies. Essa constatação está implícita nos objetivos traçados por Kennedy et al. (1987) e Enríquez (1985) para o melhoramento do cacaueiro na década de 90. Entretanto, caso o cacaueiro seja visto como espécie arbórea originária da floresta tropical úmida, o melhoramento florestal passa a ser, então, o novo paradigma a ser seguido (Dias, 1993a). Com a mudança do paradigma, alteram-se os conceitos e as estratégias do melhoramento. Diante de todas essas limitações no melhoramento convencional e de alguma resistência, resta saber se existe espaço para as novas técnicas. Kennedy et al. (1987), por exemplo, recomendaram cautela quanto ao engajamento do cacau nas pesquisas biotecnológicas. Para esses autores, “os recentes desenvolvimentos em biologia molecular e manipulação gênica são caros e podem ser irrelevantes para o cacau”. Será então que o melhoramento do cacaueiro é flexível bastante para incorporar e se beneficiar das inovações tecnológicas que estão sendo introduzidas? Tais técnicas podem ser aplicadas de modo integrado aos objetivos dos programas de melhoramento? Para ambas as questões, as respostas podem ser afirmativas, em função dos programas conduzidos por cada centro de pesquisas. Em 1985, a Universidade da Pensilvânia, por exemplo, promoveu um simpósio internacional que discutiu as potencialidades da biotecnologia aplicada ao cacaueiro¹.

Pode-se também questionar o caráter exploratório dos trabalhos envolvendo as biotécnicas aplicadas ao cacau. Amostras inadequadas e objetivos pouco elaborados têm contribuído para tornar discutíveis alguns deles. O que não se pode admitir, entretanto, é que essas restrições retirem a importância e o caráter pioneiro desses trabalhos em cacau e venham a desestimular novas pesquisas na área. As isoenzimas, por exemplo, vêm sendo aplicadas em cacau de modo tímido, em comparação com a importância que têm no melhoramento florestal. A

micropropagação pode viabilizar, a curto prazo, a propagação vegetativa em larga escala de híbridos superiores e de germoplasmas elite. A micropropagação de *T. cacao* ganha importância em virtude da espécie apresentar sementes recalcitrantes, que se mantêm viáveis apenas por um curto período. Com a técnica dos marcadores RAPDs, primers bem definidos funcionariam como descritores, na caracterização rotineira de recursos genéticos (Wilde, Waugh e Powell, 1992). Esses descritores apresentam poder discriminatório, estabilidade ambiental e repetibilidade experimental. Por serem isentos de influência ambiental, tais descritores tornariam as caracterizações de germoplasmas comparáveis no tempo e no espaço. Essas características do RAPD se aplicam também aos marcadores RFLP e, em parte, aos isoenzimáticos, já discutidos. Especificamente, o RAPD, por ser uma técnica de baixo custo relativo, pode orientar na identificação de áreas de coleta de germoplasmas de grande diversidade e na identificação de grupos heteróticos para o programa de híbridos. Também a construção de um mapa genético parcial de cacau, incorporando isoenzimas, RFLP, RAPD e os poucos marcadores morfológicos conhecidos, pode permitir um maior conhecimento da genética do cacau e viabilizar a seleção de QTLs de interesse assistida por marcadores. Finalmente, vale ressaltar que a tecnologia do DNA recombinante começa a dar os primeiros passos em cacau. A clonagem e o sequenciamento de genes de proteases em amêndoas de cacau foram relatados por Spencer e Hodge (1991). Além disso, a indução de galhas causada por *Agrobacterium tumefaciens* em plântulas de cacau foi bem sucedida (Purdy e Dickstein, 1989). No futuro, o plasmídeo Ti de *Agrobacterium tumefaciens* poderá ser usado como vetor para introdução de DNA exógeno em cacau (Fritz et al., 1993).

Outra questão não menos importante, ainda que pouco científica, é a definição do papel dos diferentes centros de pesquisa de cacau diante das modernas tecnologias apresentadas. Como compatibilizar a aplicação dessas tecnologias com a limitação de recursos financeiros que caracteriza, principalmente, os centros de pesquisas tropicais? Nesse particular, parece razoável que tais centros concentrem suas pesquisas em tecnologias de custos mais baixos, como cultura de tecidos, isoenzimas e RAPD. O melhoramento convencional deve, naturalmente, continuar a receber atenção especial. Em contrapartida, a tarefa de desenvolver e aplicar tecnologias mais sofisticadas, de custos elevados, deve ser prioridade nos centros de pesquisa com suficientes recursos financeiros. Nesse caso, o RFLP e a engenharia genética devem receber maior atenção. Na atualidade, grandes companhias transnacionais, em cooperação com

¹ SYMPOSIUM ON CACAO BIOTECHNOLOGY, University Park, 1985, 1986. Proceedings. University Park, Pennsylvania State University, Department of Food Science. 154p.

universidades e corporações de produtores, desenvolvem projetos de pesquisas que visam obter genótipos de cacau resistentes a doenças e pragas e desenvolver técnicas de micropropagação (Roozendaal, 1992). Na Universidade da Pensilvânia, os programas são direcionados para o aumento do teor de gordura da manteiga de cacau. Ainda segundo Roozendaal (1992), trabalha-se também com o objetivo de desenvolver sucedâneos da manteiga de cacau. Esse último tipo de pesquisa atende a objetivos contrários aos dos países produtores.

O emprego de tecnologias modernas em paralelo ao melhoramento genético convencional é um grande desafio aos programas de fitomelhoramento. As plantas perenes, em especial, podem ser muito beneficiadas por essa associação. O cacau, uma das principais espécies arbóreas tropicais cultivadas, conta com um razoável acervo de pesquisas do ponto de vista do organismo. Do ponto de vista molecular, é uma planta desconhecida. Do encontro desses dois campos de estudo - organizmico e molecular - deve-se esperar grandes avanços para a genética e o melhoramento do cacauceiro.

Literatura citada

- ADAMS, W.T. 1983. Application of isozymes in tree breeding. In Tanksley, S.D. and Orton, T.J., eds. *Isozymes in plant genetics and breeding*. Amsterdam, Elsevier Science. pp. 381-400.
- ADU-AMPOMAH, Y., NOVAK, F., AFZAR, R. and DURREN, M. van. 1988a. Determination of methodology to obtain shoot tip culture of cocoa. In Conferencia Internacional de Investigación en Cacao, 10, Santo Domingo, 1987. *Actas. Lagos, Cocoa Producers' Alliance*. pp. 137-142.
- ADU-AMPOMAH, Y., NOVAK, F., AFZAR, R. and DURREN, M. van. 1988b. Embroid and plant production from cultured cocoa explants. In Conferencia Internacional de Investigación en Cacao, 10, Santo Domingo, 1987. *Actas. Lagos, Cocoa Producers' Alliance*. pp. 129-136.
- AMEFIA, Y.K., CILAS, C., DJIEKPOR, E.K. et PARTIOT, M. 1984. Étude du polymorphisme enzymatique chez le cacaoyer. I. Mise au point d'une méthode d'extraction et mise en évidence d'un locus spécifiant une estérase. *Café Cacao Thé* 28(2):89-94.
- ATKINSON, M.D., WITHERS, L.A. and SIMPSON, M.J.A. 1986. Characterisation of cacao germplasm using isoenzyme markers. 1. A preliminary survey of diversity using starch gel electrophoresis and standardization of the procedure. *Euphytica* 35(3):741-750.
- BARTLEY, B.G.D. 1969. Twenty years of cacao breeding at the Imperial College of Tropical Agriculture, Trinidad. In Conferência Internacional de Pesquisas em Cacau, 2, Salvador e Itabuna, 1967. *Memórias. Ilhéus, CEPLAC*. pp.29-34.
- BECKMANN, J.S. and SOLLER, M. 1986. Restriction fragment length polymorphisms and genetic improvement of agricultural species. *Euphytica* 35(1):111-124.
- BLAHA, G. 1988. Polymorphisme enzymatique des *Phytophthora* responsables de la pourriture brune des cabosses: recherche de la variabilité liée à l'interaction hôte-parasite chez le cacaoyer. In Conferencia Internacional de Investigación en Cacao, 10, Santo Domingo, 1987. *Actas. Lagos, Cocoa Producers' Alliance*. pp.397-406.
- BORRERO, J.C., PANDEY, S. and CEBALLOS, H. 1992. Performance and stability of tropical maize hybrids developed from lines with different levels of inbreeding. *Maydica* 37: 252-258.
- CARLETTO, G.A. 1974. Observações citológicas em células mães de pólen de cacaueiros. *Revista Theobroma (Brasil)* 4(2):34-40.
- CARLETTO, G.A. e MARIANO, A.H. 1987. Avaliação de cultivares híbridas de cacauceiro-Ensaio 33. In Ilhéus. CEPLAC. Informe de Pesquisas 1986. p.13.
- CARLETTO, G.A. e PEREIRA, M.G. 1987. Capacidade combinatória em cacauceiro-Ensaio 3. In Ilhéus. CEPLAC. Informe de Pesquisas 1986. pp. 20-21.
- CARLETTO, G.M. 1971. Morfologia dos cromossomos de cacauceiro "Catongo". *Revista Theobroma (Brasil)* 1(3):11-14.
- CHATELET, P., MICHAUX-FERRIÈRE, N. and DUBLIN, P. 1992. Embryogenic potential of the nucellus and the internal integument of immature seeds of cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences* 315(2): 55-62.
- CHEESMAN, E.E. 1944. Notes on the nomenclature, classification and possible relationships of cacao populations. *Tropical Agriculture (Trinidad and Tobago)* 22: 144-159.
- COPE, F.W. 1976. Cacao *Theobroma cacao* (Sterculiaceae). In Simmonds, N.W., ed. *Evolution of crop plants*. London, Longman. pp.285-289.
- COUCH, J.A., ZINTEL, H.A. and FRITZ, P.J. 1993. The genome of the tropical tree *Theobroma cacao* L. *Molecular and General Genetics* 237(1/2): 123-128.

- DAVIE, J.H. 1933. Cytological studies in the Malvaceae and certain related families. *Journal of Genetics* 28(1):33-67.
- DIAS, L.A. dos S. e KAGEYAMA, P.Y. 1991. Variação genética em espécies arbóreas e conseqüências para o melhoramento florestal. *Agrotrópica (Brasil)* 3(3): 119-127.
- DIAS, L.A. dos S. 1993a. Desafio do melhoramento genético do cacauero. In *Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência*, 45, Recife, 1993. Anais (Comunicações). Recife, SBPC. p.20.
- DIAS, L.A. dos S. 1993b. Propagação vegetativa vs reprodução seminal em cacau. In *Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência*, 45, Recife, 1993. Anais (Comunicações). Recife, SBPC. p.19.
- DIAS, L.A. dos S. 1994. Divergência genética e fenética multivariada na predição de híbridos e preservação de germoplasma de cacau (*Theobroma cacao* L.). Tese Doutorado. Piracicaba, ESALQ. 94p.
- DUBLIN, P. 1974. Les haploides de *Theobroma cacao* L.. Diploidisation et obtention d'individus homozygotes. *Café Cacao Thé* 18(2):83-96.
- DUBLIN, P. 1984. Cacau. In Ammirato, R.V., Evans, D.A., Sharp, W.R. and Yamada, Y., eds. *Handbook of plant cell culture*. New York, MacMillan. v. 3. pp.541-563.
- DUHEM, K., LE MERCIER, N. et BOXUS, Ph. 1989. Données nouvelles sur l'induction et le développement d'embryons somatiques chez *Theobroma cacao* L. *Café Cacao Thé* 33(1): 9-14.
- ENRÍQUEZ, G.A. 1985. Prioridades de la investigación en cacao en la próxima década en Centroamérica, México y Panamá. In *International Cocoa Research Conference*, 9, Lomé, 1984. Proceedings. Lagos, Cocoa Producers' Alliance. pp. 55-62.
- FEHR, W.R. 1987. Principles of cultivar development: theory and technique. New York, MacMillan. v 1. 536p.
- FIGUEIRA, A., JANICK, J. and GOLDSBROUGH, P. 1992. Genome size and DNA polymorphism in *Theobroma cacao*. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 117(4): 673-677.
- FIGUEIRA, A. and JANICK, J. 1993. Development of nucellar somatic embryos of *Theobroma cacao*. *Acta Horticulturae* 336:231-238.
- FLYNN, W.P., GLICENSTEIN, L.J. and FRITZ, P.J. 1990. *Theobroma cacao* L.: an axillary bud *in vitro* propagation procedure. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 20: 111-117.
- FREY, K.J. 1992. Plant breeding perspectives for the 1990s. In Stalker, H.T. and Murphy, J.P., eds. *Plant breeding in the 1990s*. Wallingford, CAB International. pp.1-13.
- FRITZ, P.J., SAIN, S.L., ANDEBRHAN, T., DZOGBEFIA, V.P., McHENRY, L., DODO, H., SNYDER, T., PATEL, V., OSEI, J.K. and FURTEK, D.B. 1993. Characterization: a requirement for conservation and utilization of cocoa genetic resources for the 21st century. In *International Workshop on Conservation, Characterization and Utilisation of Cocoa Genetic Resources in the 21st Century*, Port-of-Spain, 1992. Proceedings. St. Augustine, University of the West Indies/CRU. pp.176-197.
- GALLAIS, A. 1984. Use of indirect selection in plant breeding. In Lange, W., Zeven, A.C. and Hogenboom, N.G., eds. *Efficiency in plant breeding*. Wageningen, Pudoc. pp. 45-60.
- GLICENSTEIN, L.J. and FRITZ, P.J. 1989a. Meiosis in *Theobroma cacao*. *Turrialba (Costa Rica)* 39(4):497-500.
- GLICENSTEIN, L.J. and FRITZ, P.J. 1989b. Ploidy level in *Theobroma cacao* L.. *Journal of Heredity* 80(6):464-467.
- HEDRICK, P. 1992. Shooting the RAPDs. *Nature* 355(6362):679-680.
- JALAL, M.A.F. and COLLIN, H.A. 1977. Polyphenols of mature plant, seedling and tissue cultures of *Theobroma cacao*. *Phytochemistry* 16:1377-1380.
- KANCHANAPOOM, M. and KANCHANAPOOM, K. 1991. Isolation, culture and regeneration of *Theobroma* protoplasts. *Physiologia Plantarum* 82(1):A14.
- KENNEDY, A.J., LOCKWOOD, G., MOSSU, G., SIMMONDS, N.W. and TAN, G.Y. 1987. Cocoa breeding: past, present and future. *Cocoa Growers' Bulletin* n°38: 5-22.
- LANAUD, C. et BERTHAUD, J. 1985. Mise en évidence de nouveaux marqueurs génétiques chez *Theobroma cacao* L. par les techniques d'électrophorèse. In *International Cocoa Research Conference*, 9, Lomé, 1984. Proceedings. Lagos, Cocoa Producers' Alliance. pp.249-253.
- LANAUD, C. 1986. Utilisation des marqueurs enzymatiques pour l'étude génétique du cacaoyer. *Theobroma*

- cacao* L. II. Étude du polymorphisme de six systèmes enzymatiques. *Café Cacao Thé* 30(4):271-277.
- LANAUD, C. 1987a. Doubled haploids of cocoa (*Theobroma cacao* L.). 1. Observations of fertility. *Plant Breeding* 99(3):187-195.
- LANAUD, C. 1987b. Doubled haploids of cocoa (*Theobroma cacao* L.). 2. Observations of monogenic and polygenic characters. *Plant Breeding* 99(3):196-202.
- LANAUD, C., HAMON, P. and DUPERRAY, C. 1992. Estimation of nuclear DNA content of *Theobroma cacao* L. by flow cytometry. *Café Cacao Thé* 36(1):3-8.
- LANAUD, C., LAURENT, V., N'GORAN, J., RISTERUCCI, A.M., BOUET, A. and SOUNIGO, O. 1993. Assessment of the genetic diversity of cocoa using biochemical and molecular markers at CIRAD. In International Workshop on Conservation, Characterization and Utilisation of Cocoa Genetic Resources in the 21st Century, Port-of-Spain, 1992. Proceedings. St. Augustine, University of the West Indies/CRU. pp.163-175.
- LAURENT, V., RISTERUCCI, A.M. and LANAUD, C. 1993a. Chloroplast and mitochondrial DNA diversity in *Theobroma cacao*. *Theoretical and Applied Genetics* 87: 81-88.
- LAURENT, V., RISTERUCCI, A.M. and LANAUD, C. 1993b. Variability for nuclear ribosomal genes within *Theobroma cacao*. *Heredity* 71: 96-103.
- LAURENT, V., RISTERUCCI, A.M. and LANAUD, C. 1994. Genetic diversity in cocoa revealed by cDNA probes. *Theoretical and Applied Genetics* 88: 193-198.
- LERCETEAU, E., CROUZILLAT, D. and PETIARD, V. 1993. Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) to evaluate genetic variability within the *Theobroma* genus. In International Workshop on Conservation, Characterization and Utilisation of Cocoa Genetic Resources in the 21st Century, Port-of-Spain, 1992. Proceedings. St. Augustine, University of the West Indies/CRU. pp.332-344.
- LITZ, R.E. 1986. Tissue culture studies with *Theobroma cacao* L. In Symposium on Cacao Biotechnology, University Park, 1985. Proceedings. University Park, Pennsylvania State University, Department of Food Science. pp.111-120.
- LÓPEZ, O.B., BOLLON, H., ESKES, A. and PETIARD, V. 1993. Somatic embryogenesis and plant regeneration from flower parts of cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences* 316(6): 579-584.
- MALUF, W.R. 1990. Perspectivas da aplicação da biologia molecular no melhoramento de plantas: o uso dos RFLPs. In Torres, A.C. e Caldas, L.S., eds. Técnicas e aplicação da cultura de tecidos de plantas. Brasília, ABCTP/EMBRAPA/CNPH. pp. 381-389.
- MARKERT, C.L. and MOLLER, F. 1959. Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic, and species specific patterns. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 45:753-763.
- MARTINSON, V.A. 1975. Cytological studies of diploid and tetraploid *Theobroma cacao*. *Genetica* 45(3):341-348.
- MIRAZON, M.L., GORA-MASLAK, G., MCHENRY, L. and FRITZ, P.J. 1989. *Theobroma cacao* DNA: protocols for RFLP analysis. Turrialba (Costa Rica) 39(4):519-524.
- MONTEIRO, A. 1985. Avaliação econômica das atividades desenvolvidas pela Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira no período de 1957 a 1984. Ilhéus. CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico nº 134. 41p.
- MORAN, G.F. and BELL, J.C. 1983. *Eucalyptus*. In Tanksley, S.D. and Orton, T.J., eds. Isozymes in plant genetics and breeding. Amsterdam, Elsevier Science. pp. 423-441.
- OPEKE, L.K. and JACOB, V.J. 1969. Cytological irregularities in *Theobroma cacao* L. In Conferência Internacional de Pesquisas em Cacao, 2, Salvador e Itabuna, 1967. Memórias. Ilhéus, CEPLAC. pp.114-116.
- PAIVA, M. 1982. In vivo and in vitro production of alkaloids in *Theobroma cacao* L. Ph.D. Thesis. West Lafayette, Purdue University. 99p.
- PALM, T. y VILLALOBOS, V.M. 1989. Rescate in vitro de embriones provenientes de semillas aplanadas de cacao (*Theobroma cacao*). Turrialba (Costa Rica) 39 (4):525-529.
- PINTO, L.R.M., SANTOS, A.V.P. dos, PEREIRA, M.G. e CARLETTO, G.A. 1986. Produção de haplóides de cacauero pelo cultivo de embrião de sementes chochas in vitro. In Simpósio Nacional de Cultura de Tecidos Vegetais, 1, Brasília, 1985. Anais. Brasília, EMBRAPA/CNPH. Documentos nº 1. pp. 101-102.

- PINTO, L.R.M., PEREIRA, M.G., CARLETO, G.A. e SANTOS, A.V.P. dos. 1990. Progenitores endógamos em cacau: métodos de obtenção e perspectivas para hibridação. *Agrotropica* (Brasil) 2(2): 59-67.
- PRIOR, C. 1977. Growth of *Oncobasidium theobromae*, Talbot and Keane in dual culture with callus tissue of *Theobroma cacao* L. *Journal of General Microbiology* 99(1) 219-222.
- PURDY, L.H. and DICKSTEIN, E.R. 1989. *Theobroma cacao*, a host for *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Disease* 73(8): 638-639.
- RODRIGUEZ, J.A. 1987. Regeneração do cacau *in vitro*. In Ilhéus. CEPLAC. Informe de Pesquisas 1986. p. 33.
- ROOZENDAAL, G. van. 1992. Biotechnology and the current shift in the world's cocoa production. *Biotechnology and Development Monitor* 10: 12-13.
- RUSSEL, T.A. 1952. The vigour of some cacao hybrids. *Tropical Agriculture* (Trinidad and Tobago) 29(4/6):102-106.
- SANTOS, J.B., NIENHUIS, J., SKROCH, P., TIVANG, J. and SLOCUM, M.K. 1994. Comparison of RAPD and RFLP genetic markers in determining genetic similarity among *Brassica oleracea* L. genotypes. *Theoretical and Applied Genetics* 87: 909-915.
- SIRJU-CHARRAN, G., JOHNSON, E. and WARREN, J.M. 1991. Isozymes and the description of cocoa germplasm in Trinidad. *Cocoa Growers' Bulletin* n° 44: 25-28.
- SONDAHL, M.R., LIU, S., BELLATO, C. and BRAGIN, A. 1993. Cacao somatic embryogenesis. *Acta Horticulturae* 336: 245-248.
- SORIA, J. y ESQUIVEL, O. 1969. Algunos resultados del programa de mejoramiento genético de cacao en el IICA - Turrialba. In Conferência Internacional de Pesquisas em Cacau, 2, Salvador e Itabuna, 1967. Memórias. Ilhéus, CEPLAC. pp.35-42.
- SPENCER, M.E. and HODGE, R. 1991. Cloning and sequencing of the cDNA encoding the major albumin of *Theobroma cacao*: identification of the protein as a member of the Kunitz protease inhibitor family. *Planta* 183: 528-535.
- TANKSLEY, S.D., YOUNG, N.D., PATERSON, A.H. and BONIERBALE, M.W. 1989. RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science. *Biotechnology* 7: 257-264.
- THOMPSON, W., COLLIN, H., ISAAC, S. and HARDWICK, K. 1988. Isolation of protoplasts from *Theobroma cacao* L. In Conferencia Internacional de Investigación en Cacao, 10, Santo Domingo, 1987. Actas. Lagos, Cocoa Producers' Alliance. pp.623-626.
- TOXOPEUS, H. 1985. Planting material. In Wood, G.A.R. and Lass, R.A., eds. *Cocoa*. 4ed. New York, Longman. pp.80-92. (Tropical Agriculture Series).
- VELLO, F., MARIANO, A.H., GARCIA, J.R., NASCIMENTO, I.F. e MAGALHÃES, W.S. 1969. O programa de melhoramento genético do cacau na Bahia. In Conferência Internacional de Pesquisas em Cacau, 2, Salvador e Itabuna, 1967. Memórias. Ilhéus, CEPLAC. pp.43-56.
- WARREN, J.M. 1994. Isozyme variation in a number of populations of *Theobroma cacao* L. obtained through various sampling regimes. *Euphytica* 72: 121-126.
- WEN, M.C. and KINSELLA, J.E. 1991. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration of *Theobroma cacao*. *Food Biotechnology* 5(2): 119-137.
- WILDE, J., WAUGH, R. and POWELL, W. 1992. Genetic fingerprinting of *Theobroma* clones using randomly amplified polymorphic DNA markers. *Theoretical and Applied Genetics* 83(6/7):871-877.
- WILLIAMS, J.G., KUBELIK, A.R., LIVAK, K.J., RAFALSKI, J.A. and TINGEY, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18(22):6531-6535.
- YAMADA, M.M. and GURIES, R.P. 1989. A manual for starch gel electrophoresis: new chocolate lovers edition. Madison. University of Wisconsin. College of Agricultural and Life Sciences. Staff Paper Series n° 39. 22p.
- YAMADA, M.M. 1991. Genetic studies in cacao (*Theobroma cacao* L.). Ph.D. Thesis. Madison, University of Wisconsin. 179p.
- YIDANA, J.A., KENNEDY, A.J. and WITHERS, L.A. 1988. Variation in peroxidase isozymes of cocoa (*Theobroma cacao* L.). In Conferencia Internacional de Investigación en Cacao, 10, Santo Domingo, 1987. Actas. Lagos, Cocoa Producers' Alliance. pp.719-723.

EFEITOS DOS CICLOS DE UMEDECIMENTO E SECAGEM SOBRE A DISTRIBUIÇÃO DE POROS EM CLASSES DE DIÂMETRO DE QUATRO LATOSSOLOS BRASILEIROS

Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor

*Teogenes Senna de Oliveira¹, Liovando Marciano da Costa²,
Matosinho de Souza Figuêiredo³ e Adair José Regazzi⁴*

¹ Universidade Federal do Ceará (UFC), Departamento de Ciências dos Solo, 60021-970, Fortaleza, Ceará, Brasil

² Universidade Federal de Viçosa (UFV), Departamento de Solos, 36571-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil

³UFV, Departamento de Fitotecnia ⁴UFV, Departamento de Informática

Resumo

Foram avaliados os efeitos dos ciclos de umedecimento e secagem sobre a distribuição de poros, em classes de diâmetro, utilizando-se agregados dos horizontes A e B de três Latossolos do Estado de Minas Gerais e um do Espírito Santo. Os agregados, contidos em colunas de PVC, foram submetidos, em casa de vegetação, a 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 ciclos de umedecimento e secagem, definidos a partir da disponibilidade total de água. Observou-se redução do espaço poroso total nos solos cauliniticos, em decorrência da ocupação por agregados e/ou partículas primárias já existentes, ou mesmo os originários da fragmentação imposta pelos ciclos, e que se movimentaram em profundidade, bem como em consequência da acomodação natural do solo devido ao umedecimento.

Palavras-chave: porosidade do solo, agregados, estabilidade, Latossolo

Wetting and drying cycles effects on pores diameter range of four Brazilian Latosols

Abstract

Effects of wetting and drying cycles were evaluated on the pores diameter range, using A and B horizons aggregates of three Latosols from the state of Minas Gerais and one from the state of Espírito Santo. The aggregates, packed in PVC columns, were submitted, in greenhouse, to 0, 3, 6, 9, 12, 15 and 18 wetting and drying cycles, based on total soil water availability. The results show that the wetting and drying cycles decreased the total porous space due to the occupation by aggregates and/or primary particles. This was due to the natural soil accommodation and downward movement of aggregates and/or primary particles and yet aggregates fragmented by wetting and drying cycles.

Key words: soil porosity, aggregates, stability, Latosol

Introdução

Os solos estão continuamente submetidos a variações sazonais de temperatura e umidade, com efeitos que se refletem sobre o comportamento das propriedades físicas e químicas. Especificamente com relação à umidade, as variações naturais que ocorrem podem ser caracterizadas pelo umedecimento e secagem cíclicos, intensificados periodicamente por chuvas, condensação, capilaridade, radiação solar, ventos etc. (Utomo e Dexter, 1982). A irrigação de solos para produção agrícola pode também se constituir em uma variação cíclica de umidade, pois a quantidade de água à disposição das plantas é reduzida pelo uso consuntivo da cultura em função do turno de rega.

Estudos de avaliação dos efeitos dos ciclos de umedecimento e secagem concentram-se principalmente no estado da agregação do solo, apresentando resultados bastante contraditórios. Haines (1923), Bouyoucos (1924), McGeorge (1937), Russell (1938), Peterson (1943), Woodburn (1944), Nijhawan e Olmstead (1947), Harris, Chester e Allen (1966), Rovira e Greacen (1957), Telfair et al. (1957), Sillanpää e Webber (1961), Hofman (1976), Richardson (1976) e Horn e Dexter (1989) observaram aumento da estabilidade dos agregados com os ciclos de umedecimento e secagem. Por outro lado, redução da estabilidade foi encontrada por Willis (1955), Chepil e Woodruff (1963) e Salih e Maulood (1988), enquanto McHenry e Russell (1943) e Utomo e Dexter (1982) verificaram ocorrência de aumento inicial da estabilidade estrutural seguido da redução. Já a redução seguida de aumento foi comprovada por Rovira e Greacen (1957) e Dexter, Kroesbergen e Klipers (1984).

A ação conjunta dos efeitos dos ciclos de umedecimento e secagem sobre a agregação pode ter como consequência a redução do volume de poros, observável pelo aumento da densidade aparente, sendo considerado também um fator de compactação e/ou adensamento do solo, devido às mudanças que podem provocar, independentemente da forma como isso ocorre, se química ou mecânica (Harris, 1971; Coughland e Fox, 1977). Os estudos de compactação do solo, porém, concentram-se, na sua grande maioria, na avaliação dos seus efeitos sobre a produção agrícola, principalmente os que se relacionam com a camada compactada em subsuperfície, pressão externa e revolvimento exagerado do solo. Tornam-se, portanto, necessárias investigações mais detalhadas, que permitam a sua quantificação e compreensão, de tal forma a possibilitar alternativas que possam minimizá-los, principalmente no que refere aos processos naturais em conjunto com a ação do homem. Entre os parâmetros

utilizados para a descrição do ambiente de desenvolvimento das plantas, a distribuição de poros em classes de diâmetro se destaca por expressar, de forma mais efetiva a influência dos vários processos físico-mecânicos, naturais ou não, no espaço poroso do solo e as variações pertinentes.

Objetivou-se, assim, com o presente estudo, investigar os efeitos que as variações de umidade exercem sobre a distribuição de poros em diferentes classes de diâmetro, utilizando material de solo originário de classes de latossolos mais comuns no Brasil.

Material e métodos

Utilizaram-se materiais de solos dos horizontes A e B de três Latossolos provenientes de Minas Gerais e um do Espírito Santo, coletados nos mesmos locais selecionados para o estudo conduzido por Ferreira (1988). Nessa seleção, consideraram-se os resultados obtidos por esse autor, que conclui serem a Caulinita e Gibbsita os constituintes mineralógicos de maior influência sobre as propriedades físicas e os responsáveis pelo desenvolvimento da estrutura do solo, propondo também modelos de estruturação para os Latossolos brasileiros: o caulinitico e o gibbsítico. Assim, dos sete materiais originalmente estudados por Ferreira (1988), selecionaram-se quatro, considerando os maiores conteúdos na fração argila dos constituintes citados (Quadro 1).

Os ensaios, num total de sete, foram conduzidos em casa de vegetação, montados em colunas de PVC, utilizando-se agregados dos materiais de solo de diâmetro entre 2,00 e 0,25 mm. Para tanto, procedeu-se uma separação inicial, realizada manualmente para cada horizonte, após secagem ao ar e com o auxílio de uma peneira de 4,72 mm de abertura. Tal procedimento teve a finalidade de evitar a fragmentação de agregados, mantendo-os o mais próximo possível da condição natural. Posteriormente, amostras de 400 g de cada horizonte foram submetidas a vibração mecânica, durante quatro minutos, utilizando-se um conjunto de duas peneiras, superpostas, com aberturas de 2,00 mm e 0,25 mm, adaptado em aparelho com movimento vibratório.

As colunas, com altura e diâmetro médios de 15 e 7,5 cm, respectivamente, foram preenchidas com 400 g de agregados dos horizontes A e B, misturados na proporção de 1:1. Nova agitação foi procedida, desta vez por dois minutos, a uma vibração sete vezes menor que a adotada para a separação inicial, visando simular o arranjo natural do material de solo.

Os ciclos de umedecimento e secagem foram estabelecidos a partir da disponibilidade total de água para

Quadro 1 - Localização, teores de caulinita e gibbsita da fração argila e classificação textural dos Latossolos estudados.

Solo ¹	Localização	Caulinita ²	Gibbsita ²	Areia grossa	Areia fina	Silte	Argila	Classificação textural
				%				
LA	Marataizes (ES)	88,3	3,8	65	11	1	23	Franco argilo-arenoso
LE	Rio Paranaíba (MG)	0,5	85,3	3	6	15	76	Muito argiloso
LU	Viçosa (MG)	81,4	8,0	31	11	6	52	Argiloso
LV	São Gotardo (MG)	5,4	91,8	25	11	8	56	Argiloso

¹ LA- Latossolo Amarelo; LE - Latossolo Vermelho-Escuro; LU - Latossolo Una; LV - Latossolo Vermelho-Amarelo.

² Fonte: Ferreira (1988).

as plantas, ou seja, a quantidade máxima possível de água a ser armazenada no solo e à disposição das plantas. Para o seu cálculo, considerou-se a umidade do solo entre a capacidade de campo e o ponto de murcha permanente, adotando-se, porém, um fator de disponibilidade de 0,70. Esse fator é normalmente utilizado nos dimensionamentos dos sistemas de irrigação e variável com o tipo de cultura, considerando-se, no presente estudo, aquelas plantas que são mais resistentes à deficiência hídrica, cujo fator varia entre 0,6 e 0,7 (Bernardo, 1982). Assim sendo, os ciclos caracterizaram-se pelo umedecimento até a capacidade de campo, redução pela secagem da água disponível na coluna a um máximo de 30% acima do ponto de murcha permanente e reumedecimento até o ponto inicial. Adição de água destilada foi feita junto à superfície da coluna sobre um papel de filtro de diâmetro igual ao do PVC, proporcionando maior uniformidade durante o umedecimento bem como redução da movimentação e/ou fragmentação de agregados pelo impacto da água.

O ponto de murcha e a capacidade de campo foram estabelecidos a partir de amostras deformadas originárias do material de solo utilizado para o preenchimento das colunas de PVC, de acordo com o método recomendado por Bernardo (1982). Para tanto, foram determinados os graus de umidade e respectivos potenciais matriciais dos diferentes materiais de solo (Quadro 2), com o uso de extrator de placa porosa, de acordo com Richards e Fireman (1943). Avaliou-se a retenção de água nos seguintes potenciais: -0,01; -0,033; -0,1; -0,5; -1,0 e -1,5, expressos em Mpa.

As colunas de solo foram submetidas à 0, 3, 6, 9, 12, 15 e 18 ciclos de umedecimento e secagem. Adotou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco repetições para cada classe de solo.

Os materiais de solo foram mantidos com suas características químicas naturais, não tendo sido submetidos a qualquer tratamento químico de correção.

Quadro 2 - Graus de umidade e respectivas potenciais matriciais dos Latossolos¹ estudados.

Solo ¹	Potencial matricial					
	-0,01	-0,033	-0,1	-0,5	-1,0	-1,5
- % em peso						
LA	9,94	8,80	7,81	7,30	6,85	6,30
LE	35,78	34,32	31,05	29,39	27,49	26,78
LU	29,04	27,90	24,25	22,90	21,80	20,52
LV	21,22	19,43	18,73	17,40	17,00	15,45

¹ LA- Latossolo Amarelo; LE - Latossolo Vermelho-Escuro; LU- Latossolo Una; LV - Latossolo Vermelho-Amarelo.

Completado o número de ciclos de umedecimento e secagem estabelecidos para cada ensaio, as colunas foram reumedecidas, separadas em três anéis, secas ao ar, armazenadas e analisadas.

Na análise textural, a dispersão foi efetuada quimicamente (NaOH 0,5N) e mecanicamente (agitação rápida), ao passo que, na determinação da argila dispersa em água, fez-se uso apenas da dispersão mecânica e da água destilada. Empregou-se o método da pipeta (Day, 1965) para as determinações de silte e argila e a tamisação para areia.

A densidade de partículas (Dp) foi determinada pelo método do balão volumétrico, utilizando-se querosene comercial em substituição ao álcool etílico (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1979).

A determinação da densidade aparente (Da) das colunas de solo, após cada ensaio, foi feita pela divisão do peso do solo seco pelo respectivo volume, ou seja, o volume da coluna de PVC.

Foi utilizada para o cálculo do volume total de poros (VTP) a equação:

$$\text{VTP \%} = 1 - \frac{D_a}{D_p} \cdot 100$$

A distribuição de poros em classes de diâmetro foi determinada nas colunas de solo intactas, utilizando modelo capilar e colunas de água de 20, 40, 60 e 100 cm. Empregou-se o método do funil (Bouma, 1973). A equação utilizada foi:

$$D = 2 \cdot \frac{2\int}{d h g}$$

em que:

D - diâmetro de poros em mm;

\int - tensão superficial de água em dyna.cm⁻¹;

d - densidade de água em g.cm⁻³;

h - altura da água em cm;

g - aceleração devida à gravidade em dyna.g⁻¹.

Efetuuou-se, inicialmente, a análise estatística de cada ensaio, individualizando-se o fator ciclo de umedecimento e secagem, procedendo-se, em seguida, à análise conjunta das variáveis.

A comparação de médias das classes de solo foi feita por meio do teste Student-Newman-Keuls (SNK), a 5% de probabilidade, e a avaliação dos efeitos dos ciclos de umedecimento e secagem pela análise de regressão, mediante o emprego da técnica dos polinômios ortogonais.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos pela avaliação dos efeitos dos ciclos de umedecimento e secagem sobre a porcentagem de poros, distribuídos em diferentes classes de diâmetro, estiveram sujeitos a alterações provocadas por vários fatores, inerentes ao método utilizado, a saber: deslocamentos das colunas de solo, previstos como pressuposição para o uso do delineamento inteiramente casualizado; precisão na estimativa da altura da coluna de solo, necessária para o cálculo da porosidade total, e limitações do método adotado (Bouma, 1973) para determinar a distribuição dos poros em diferentes classes de diâmetro (Quadro 3).

Pode-se inferir que os ciclos de umedecimento e secagem promoveram redução da porcentagem de macroporos (Figura 1), bastante nítida para os solos LU e LV, com maior intensidade no primeiro, o que não ocorre com o LA e LE, que se mostraram indiferentes aos efeitos. Nesse caso, essa redução é acompanhada pela elevação da porcentagem de microporos, independentemente da classe de solo (Figura 2). Por sua vez, avaliando-se individualmente a distribuição dos poros em classes de diâmetro, verificou-se que os de diâmetro

superior a 0,15 mm (Figura 3) (os de maior diâmetro) apresentaram redução acentuada em porcentagem, principalmente no LA e LU, enquanto os de diâmetro entre 0,03 e 0,05 mm mostraram um ligeiro aumento (Figura 4), restrito no LA, porém observável no LU, o que não invalida as inferências gerais a respeito do comportamento do solo em relação aos efeitos dos ciclos de umedecimento e secagem.

Quanto às demais classes de diâmetro, verificou-se que os poros menores que 0,03 mm não apresentaram alterações que permitissem inferir alguma tendência de comportamento, o mesmo ocorrendo com os com diâmetro entre 0,05 e 0,074 mm.

Os Latossolos gibisíticos (LE e LV) não foram afetados pelos ciclos de umedecimento e secagem tão acentuadamente quanto os cauliniticos (LA e LU), associando-se esses resultados a variações pouco intensas e/ou ao método adotado, que não foi sensível para detectar as alterações ocorridas. Os solos com poros de diâmetro entre 0,03 e 0,05 mm não apresentaram qualquer alteração, enquanto nos de diâmetro acima de 0,15 mm, somente o LE não foi afetado. Essas mudanças no LV tiveram um comportamento quadrático, que, provavelmente, deve estar relacionado com o rearranjo dos agregados na coluna de solo.

Os Latossolos cauliniticos apresentaram maior predisposição aos efeitos dos ciclos de umedecimento e secagem. Isso está relacionado com as características físicas, químicas e mineralógicas desses solos, de acordo com os resultados obtidos por Ferreira (1988) e previsíveis nos modelos de estruturação propostos por esse autor. Mesmo nas classes de diâmetro em que as alterações não foram independentes da classe de solo, deve haver maior participação dos efeitos ocorridos nesses latossolos.

A redução observada no espaço poroso pode ser atribuída a dois fenômenos: acomodação e adensamento do solo. Bustamante (1975) definiu acomodação como o movimento vertical descendente que ocorre na superfície do solo quando está sendo umedecido. Não está implícito nesse conceito a movimentação individualizada de partículas e/ou agregados, mas de toda a massa de solo. Tal aspecto, de acordo com Carvalho (1991) e Oliveira (1992), torna evidente que a redução do espaço poroso não ocorre somente com a acomodação do solo, mas também, com a obstrução de poros por partículas e/ou agregados que se translocam verticalmente na coluna de solo (Oliveira, 1992). Assim sendo, a redução do espaço poroso pode ser considerada um adensamento do solo, embora Harris (1971) classifique-a como compactação do solo. Segundo Keller (1966), citado por Bustamante (1975), a compactação provoca a redução do espaço

Quadro 3 - Médias das porcentagens de poros dos quatro Latossolos estudados, classes de diâmetro e ciclos de umedecimento e secagem avaliados.

Classe de diâmetro	Solo ¹	Ciclos de umedecimento e secagem						
		0	3	6	9	12	15	18
< 0,03 mm	LA	12,49	12,34	12,18	12,58	12,06	12,36	12,08
	LE	29,66	27,90	28,37	27,61	29,02	28,84	29,22
	LU	27,38	25,48	25,42	28,21	27,75	28,44	28,09
	LV	22,32	20,79	21,28	22,56	21,66	21,65	23,27
0,03-0,05 mm	LA	0,82	1,11	1,19	0,92	1,01	0,95	1,31
	LE	1,17	1,10	1,07	0,87	1,10	0,95	0,98
	LU	0,69	0,10	1,28	1,00	1,18	1,27	1,10
	LV	0,71	0,10	0,69	0,70	0,78	0,74	0,89
0,05-0,074 mm	LA	1,90	2,42	1,75	1,94	1,83	1,05	2,16
	LE	1,66	1,73	2,12	1,61	1,97	1,57	2,11
	LU	0,91	1,95	2,26	1,72	1,97	2,03	1,90
	LV	1,41	1,76	1,86	1,34	1,92	1,08	2,40
0,074-0,15 mm	LA	14,98	13,24	12,77	16,13	15,72	16,73	18,54
	LE	18,52	14,04	16,86	15,79	14,82	18,30	16,18
	LU	14,21	12,88	11,39	14,40	17,38	21,25	16,51
	LV	22,16	17,18	18,36	17,36	16,69	19,29	16,51
> 0,15 mm	LA	21,99	24,40	24,80	18,49	20,83	20,00	17,19
	LE	18,62	25,33	21,95	25,27	22,34	20,12	21,12
	LU	21,77	24,93	26,65	19,25	16,00	11,00	16,44
	LV	15,46	21,58	20,69	27,58	20,80	18,64	18,54
Macroporos	LA	38,87	40,06	39,32	36,56	38,38	37,78	37,89
	LE	38,80	41,10	40,93	42,67	39,13	39,98	39,40
	LU	36,89	39,76	40,30	35,36	35,35	34,28	34,85
	LV	39,03	40,52	40,91	46,28	39,41	39,01	37,45
Microporos	LA	13,30	13,46	13,38	13,50	13,07	13,31	13,39
	LE	30,83	29,00	29,44	28,48	30,12	29,79	30,20
	LU	28,06	26,44	26,70	29,22	28,93	29,71	29,18
	LV	23,03	21,75	21,95	23,25	22,44	22,39	24,16

¹ LA- Latossolo Amarelo; LE - Latossolo Vermelho-Escuro;

LU - Latossolo Una; LV - Latossolo Vermelho-Amarelo.

poroso quando pressões são exercidas sobre a superfície do solo, caso em que o movimento de partículas e/ou agregados no solo é tridimensional. A diferença em relação ao adensamento é que a redução do espaço poroso ocorre em condições naturais e não por pressões externas exercidas.

A intensidade com que ocorre o adensamento e a acomodação do solo, em decorrência dos efeitos dos ciclos de umedecimento e secagem, dependerá do movimento e rearranjo das partículas e/ou agregados do solo na coluna (Oliveira, 1992). Segundo Harris (1971), o rearranjo dependerá do arranjo, da superfície de contato,

da distribuição por tamanho e do tipo de estrutura. Os resultados obtidos permitem acrescentar a estabilidade dos agregados em água, uma vez que a maior ou menor tendência de fragmentação dos agregados do solo altera substancialmente o rearranjo das partículas e/ou agregados do solo.

Os Latossolos caulíníticos foram os que apresentaram resultados mais significativos, pois a fragmentação em agregados, originando outros de menor diâmetro e até mesmo partículas primárias, alterou completamente o arranjo inicial. A reorientação dos agregados e/ou partículas na coluna de solo, em razão do fluxo de água

$$\hat{Y}_{LA} = \bar{Y}_{LA} = 38,41$$

$$\hat{Y}_{LE} = \bar{Y}_{LE} = 40,29$$

$$\hat{Y}_{LU} = 37,0713 + 1,52149C + 0,245822C^2 + 0,00863099C^3 \quad R^2 = 0,856$$

$$\hat{Y}_{LV} = 38,7627 + 0,93006C - 0,0577903C^2 \quad R^2 = 0,533$$

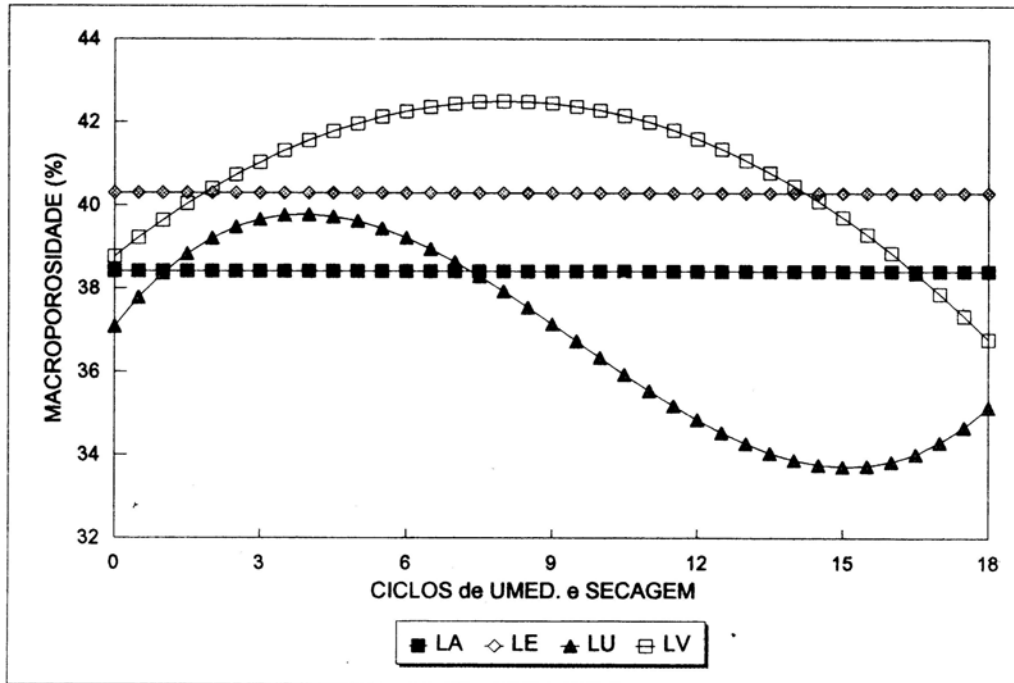


Figura 1 - Porcentagens de macroporos nos Latossolos estudados em função dos ciclos de umedecimento e secagem (LA=Latossolo Amarelo; LE=Latossolo Vermelho-Escuro; LU=Latossolo Una; e LV=Latossolo Vermelho-Amarelo).

$$\hat{Y} = 22,40133 + 0,101619 C$$

$$R^2 = 0,929$$

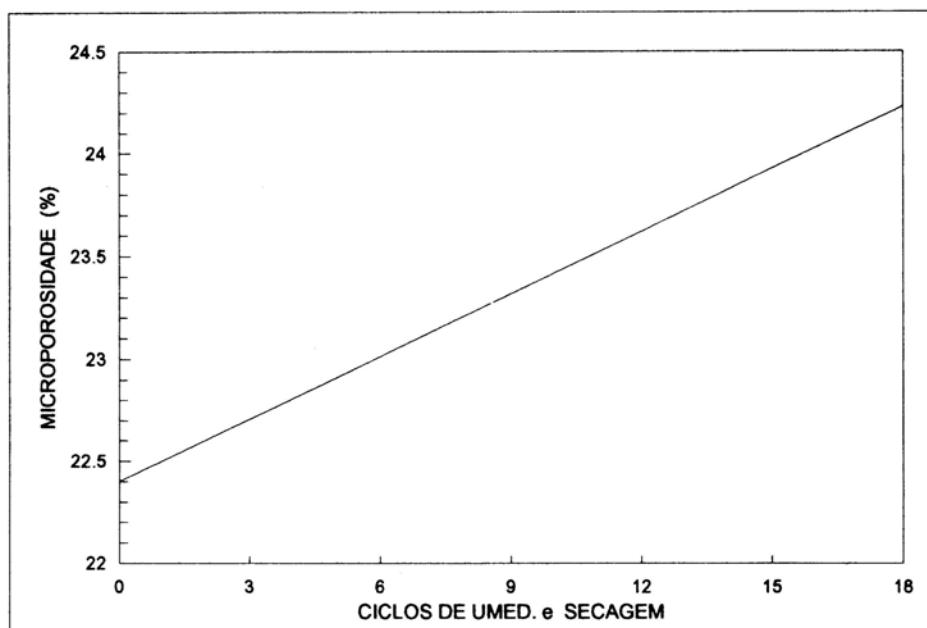


Figura 2 - Porcentagem de microporos em função dos ciclos de umedecimento e secagem (LA=Latossolo Amarelo; LE=Latossolo Vermelho-Escuro; LU=Latossolo Una; e LV=Latossolo Vermelho-Amarelo).

$$\begin{aligned} \hat{Y}_{LA} &= 24,0114 - 0,323543C & R^2 &= 0,870 \\ \hat{Y}_{LE} &= \bar{Y}_{LE} = 22,11 \\ \hat{Y}_{LU} &= 21,2419 + 3,24774C + 0,553315C^2 + 0,0198132C^3 & R^2 &= 0,947 \\ \hat{Y}_{LV} &= 16,2411 + 1,58429C - 0,0857286C^2 & R^2 &= 0,600 \end{aligned}$$

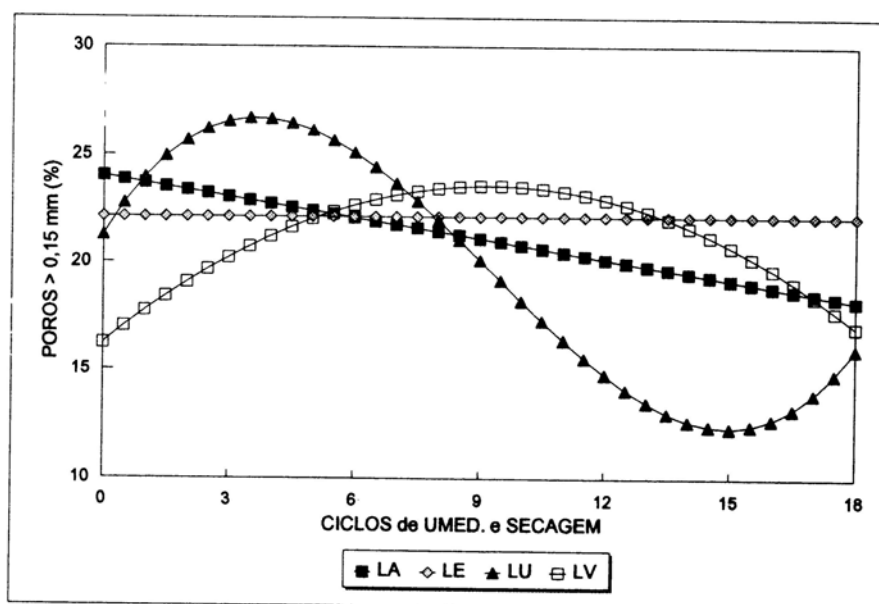


Figura 3 - Porcentagens de poros com diâmetro superior a 0,15 mm nos Latossolos estudados em função dos ciclos de umedecimento e secagem (LA=Latossolo Amarelo; LE=Latossolo Vermelho-Escuro; LU=Latossolo Una; e LV=Latossolo Vermelho-Amarelo).

$$\begin{aligned} \hat{Y}_{LA} &= 0,820052 + 0,159202C - 0,0229305C^2 + 0,000866275C^3 & R^2 &= 0,870 \\ \hat{Y}_{LE} &= \bar{Y}_{LE} = 1,03 \\ \hat{Y}_{LU} &= 0,733005 + 0,08047C + 0,00331755C^2 & R^2 &= 0,711 \\ \hat{Y}_{LV} &= \bar{Y}_{LV} = 0,78 \end{aligned}$$

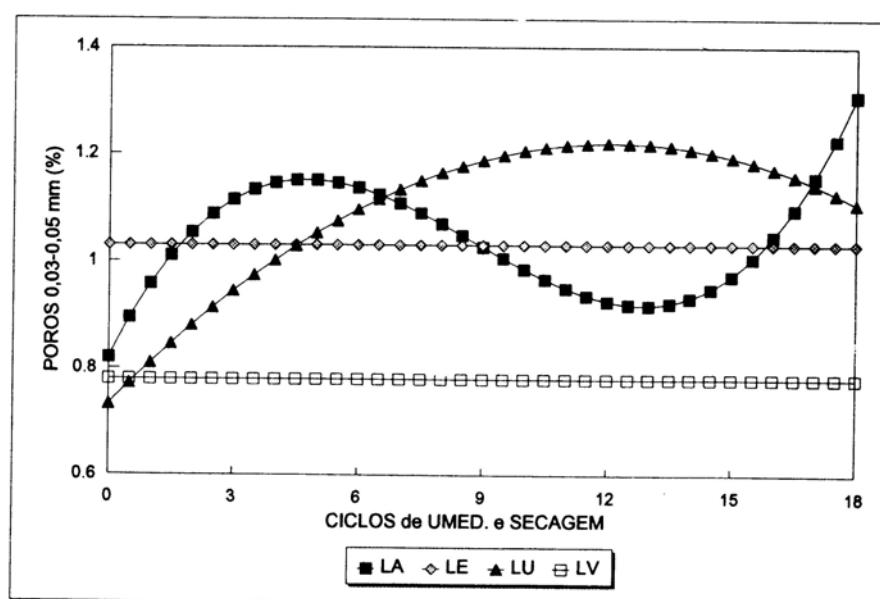


Figura 4 - Porcentagens de poros com diâmetro entre 0,03 e 0,05 mm nos Latossolos estudados em função dos ciclos de umedecimento e secagem (LA=Latossolo Amarelo; LE=Latossolo Vermelho-Escuro; LU=Latossolo Una; e LV=Latossolo Vermelho-Amarelo).

com o umedecimento, caracteriza a acomodação do solo. À medida que esse fluxo se repete, há movimentação vertical de agregados e/ou partículas de menor diâmetro, originário ou não da fragmentação promovida pelos ciclos de umedecimento e secagem. Quando em equilíbrio, ocupam os espaços vazios existentes, reduzindo o diâmetro dos poros das diferentes classes.

Os Latossolos gibsíticos não apresentaram comportamento semelhante e da mesma intensidade, certamente pela maior estabilidade e menor superfície de contato, embora não se possa afirmar que não tenha havido alterações. Apesar da possível movimentação interna de agregados com diâmetros inferiores, não houve redução do espaço poroso detectável pelo método proposto por Bouma (1973). A estrutura em blocos subangulares e angulares, típica dos Latossolos cauliniticos (Ferreira, 1988), apresenta superfície de contato maior que a granular dos Latossolos gibsíticos, o que leva à redução mais rápida, com o tempo, do espaço poroso total. Já a estrutura granular, com menor superfície de contato, não terá a mesma rapidez e, comparativamente, não proporcionará grandes alterações, mesmo com o movimento de água devido ao umedecimento.

Conclusões

Os efeitos dos ciclos de umedecimento e secagem causam a redução do espaço poroso dos Latossolos, principalmente em decorrência da acomodação natural do material de solo e da movimentação de agregados e/ou partículas primárias com o fluxo de água originário do umedecimento. A intensidade com que essa redução ocorre varia com o tipo de solo, sendo maior para os solos cauliniticos, por apresentarem agregados menos estáveis à ação dos ciclos de umedecimento e secagem, o que não ocorre com os gibsíticos.

Literatura Citada

- BERNARDO, S. 1982. Manual de irrigação. 2ed. Viçosa, UFV. 463p.
- BOUMA, J. 1973. Guide to the study of water movement in soil pedons above the water table. Madison, University of Wisconsin Extension. 194p.
- BOUYOUCOS, G.J. 1924. The influence of water on soil granulation. *Soil Science* 18:103-108.
- BUSTAMANTE B., F. 1975. Relación entre el grado de aplicación del agua del riego y la estructura del suelo.

- Revista Facultad Nacional de Agronomía (Colombia) 30:18-27.
- CARVALHO, A. F. 1991. Emprego da agitação horizontal na avaliação da estabilidade de agregados de cinco solos da região sudeste. Tese Mestrado. Viçosa, UFV. 75p.
- CHEPIL, W.S. and WOODRUFF, N.P. 1963. The physics of wind erosion and its control. *Advances in Agronomy* 15:211-302.
- COUGHLAND, K. J. and FOX, W. E. 1977. Measurement of aggregate size. *Australian Journal of Soil Research* 15:211-219.
- DAY, P. R. 1965. Particle fractionation and particle-size analysis. In Black, C. A., ed. *Methods of soil analysis. I. Physical and mineralogical properties including statistics of measurement and sampling*. Madison, American Society of Agronomy. pp.545-567.
- DEXTER, A.R., KROESBERGEN, B. and KUIPERS, H. 1984. Some mechanical properties of aggregates of top soils from the IJsselmeer polders. 2. Remoulded soil aggregates and the effects of wetting and drying cycles. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 32:215-227.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. SERVIÇO NACIONAL DE LEVANTAMENTO E CONSERVAÇÃO DE SOLOS. 1979. Manual de métodos de análise de solo. Rio de Janeiro. 1v.
- FERREIRA, M. M. 1988. Influência da mineralogia da fração argila nas propriedades físicas de latossolos brasileiros. Tese Doutorado. Viçosa, UFV. 79p.
- HAINES, W.B. 1923. The volume changes associated with variations of water content in soil. *Journal of Agricultural Science* 13:296-310.
- HARRIS, R.F., CHESTERS, G. and ALLEN, O.N. 1966. Dynamics of soil aggregation. *Advances in Agronomy* 18:107-169.
- HARRIS, W. L. 1971. The soil compaction process. In Barnes, K. K., Taylor, H. M., Throckmorton, R. I., Berg, G. E. van der and Chairman, W. M. C. *Compaction of agricultural soils*. St. Joseph, ASAE. pp.7-44.
- HOFMAN, G. 1976. The influence of drying and storing soil samples on aggregate stability. *Mededelingen van Faculteit Landbouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent* 41:101-106.
- HORN, R. and DEXTER, A.R. 1989. Dynamics of soil aggre-

gation in an irrigated desert loess. *Soil & Tillage Research* 13:253-266.

McGEORGE, W.T. 1937. Studies on soil structure: some physical characteristics of puddled soils. *Bulletin of the Arizona Agricultural Experiment Station* n° 67:122-127.

McHENRY, J.R. and RUSSELL, M.B. 1943. Elementary mechanics of aggregation of puddled materials. *Soil Science Society of America Proceedings* 8:71-78.

NIJHAWAN, S.D. and OLMSTEAD, L.B. 1947. The effect of sample pre-treatment upon soil aggregation in wet-sieve analysis. *Soil Science Society of America Proceedings* 12:50-53.

OLIVEIRA, T. S. 1992. Efeitos dos ciclos de umedecimento e secagem sobre as propriedades físicas e químicas de quatro latossolos brasileiros. Tese Mestrado. Viçosa, UFV. 104p.

PETERSON, J.B. 1943. Formation of water-stable structure in puddled soils. *Soil Science* 55:289-300.

RICHARDS, L. A. and FIREMAN, M. 1943. Pressure - plate apparatus for measuring moisture sorption and transmission by soils. *Soil Science* 56:395-404.

RICHARDSON, S.J. 1976. Effect of artificial weathering cycles on the structural stability of a dispersed silt soil. *Journal of Soil Science* 27:287-294.

ROVIRA, A.D. and GREACEN, E.L. 1957. The effect of ag-

gregate disruption on the activity of microorganisms in the soil. *Australian Journal of Agricultural Research* 8:659-673.

RUSSELL, W.W. 1938. Soil structure. Harpenden. Imperial Bureau of Soil Science. Technical Communications n° 37. 40p.

SALIH, R.O. and MAULOOD, A. O. 1988. Influence of temperature and cycles of wetting and drying on modulus of rupture. *Soil & Tillage Research* 11:73-78.

SILLANPÄÄ, M. and WEBBER, L.R. 1961. The effects of freezing-thawing and wetting-drying cycles on soil aggregation. *Canadian Journal of Soil Science* 41:182-187.

TELFAIR, D., GARNER, M.R. and MIARS, D. 1957. The restoration of a structurally degenerated soil. *Soil Science Society of America Proceedings* 21:131-134.

UTOMO, W. H. and DEXTER, A. R. 1982. Changes in soil aggregates stability induced by wetting and drying cycles in non-saturated soil. *Journal of Soil Science* 33:623-637.

WILLIS, W.O. 1955. Freezing and thawing and wetting and drying in soils treated with organic chemicals. *Soil Science Society of America Proceedings* 19:263-267.

WOODBURN, R. 1944. Aggregation of Houston clay in Mississippi. *Soil Science Society of America Proceedings* 9:30-36. ●

GRUPOS DE INSECTOS EN FLORES DE CACAO, *Theobroma cacao* (STERCULIACEAE), EN CHUAO, ESTADO ARAGUA, VENEZUELA

Zurhilma Narváez

Instituto de Zoología Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela,
Apartado 4579, Maracay 2101 - A, Venezuela

Resumen

Se estudiaron los insectos en flores de cacao, en dos localidades con diferente grado de sombra en la Hacienda Cacaotera Chuao, en la costa norte del Edo. Aragua, Venezuela. En cada localidad, se tomaron 40 muestras (de dos flores abiertas cada una) en tres oportunidades: noviembre y diciembre de 1993 y enero de 1994. Thysanoptera fue el grupo mas abundante en ambos sitios, (68,47% en el sector con sombra no densa (LOC₂) y 45,53% en la localidad con sombra densa (LOC₁), Aphididae fue el segundo (17,20 % LOC₂ y 29,59 % LOC₁). El tercero fue Formicidae en LOC₂ (7,25 %) y Pseudococcidae (11,65%) en LOC₁. Se reconocieron otros nueve grupos: Homoptera (ninfas 0,03% en LOC₂), Hymenoptera (microhimenopteros 0,02% en LOC₂), Diptera (larvas 2,02% en LOC₂ y 1,36% en LOC₁; mosquitos 0,03% en LOC₁), Lepidoptera (larvas 1,69 % en LOC₂ y 1,63% en LOC₁), Coleoptera (adultos 0,03% en LOC₁), Collembola (0,05% en LOC₂ y 0,03% en LOC₁), Acarina (0,05 % LOC₂) y Araneae (1,40 %) en las dos localidades.

Palabras clave: *Theobroma cacao*, flor, insecto

Insect groups on cocoa flowers (*Theobroma cacao*, Sterculiaceae) in Chuao, Aragua State, Venezuela

Abstract

Insects on cocoa flowers were studied in two localities with different degrees of shade in the Hacienda Cacaotera Chuao, on the north coast of Aragua State, Venezuela. Forty samples, each consisting of two open cocoa flowers, were taken at each locality in November and December of 1993, and January of 1994. In both localities, Thysanoptera was the most abundant, with 68.47 % in the "lightly shaded locality" (LSL) and 45.53 % in the "densely-shaded locality" (DSL), Aphididae was second (17.20 % LSL, 29.54 % DSL). Third was Formicidae in LSL (7.25 %) and Pseudococcidae (11.65 %), in DSL. Other nine groups were also recorded: Homoptera (nymphs, 0.03 % LSL), Hymenoptera (microhymenoptera, 0.2 % LSL), Diptera (larvae, 2.02 % LSL, 1.36 % DSL; mosquitoes 0.03 % DSL), Lepidoptera (larvae, 1.69 % LSL, 1.63 % DSL), Coleoptera (adult, 0.03 % DSL), Collembola (0.05 % LSL, 0.03 % DSL), Acarina (0.05% LSL) and Araneae (1.40 %), at both localities.

Key words: *Theobroma cacao*, flower, insect

La primera información sobre insectos en flores de cacao, en Venezuela, fue dada por Sánchez y Capriles de Reyes (1979) señalando la presencia de: gusano de la flor *Platyptilia nubilila* (Lepidoptera, Pterophoridae), carapachito (Homoptera, Membracidae), saltahojas o salivitas (Homoptera, Cercopidae) áfidos o pulgones (*Toxoptera* sp.) entre los insectos polinizadores se encuentran tres subgéneros de *Forcipomyia* (Diptera, Ceratopogonidae). Goitia (1990) indica la presencia de varias especies de hormigas.

En este trabajo se presentan los primeros datos sobre la abundancia relativa de insectos en flores de cacao que forman parte de un proyecto sobre la entomofauna del cultivo, en Chuao, Edo. Aragua, Venezuela. La investigación se hizo en dos localidades, una con sombra densa (LOC₁) y otra con sombra no densa (LOC₂) en la Hacienda cacaotera Chuao, en la costa norte del Edo. Aragua, Venezuela. En cada localidad, se tomaron 40 muestras en tres oportunidades, noviembre y diciembre 1993 y enero 1994. Cada muestra consistió de dos flores de cacao que se colocaron en pequeños viales de plástico y se cubrieron con un tapón de algodón. Las muestras fueron examinadas en el Instituto de Zoología Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela, Maracay, Edo. Aragua, identificándose los insectos hasta donde fue posible.

La abundancia relativa de cada grupo de insectos, en las dos localidades, en Chuao, se muestra en la Tabla 1.

Sánchez y Capriles de Reyes (1979) informaron sobre la presencia de Thysanoptera, en follaje de cacao, pero esta es la primera vez que se hace para flores, en Venezuela. Los áfidos, trips y hormigas son los insectos más comunes en flores de cacao (Soetardi, 1950), pero aparentemente no ocasionan daño de importancia económica, al igual que los pseudocóccidos. Estos últimos están comprometidos en la transmisión de enfermedades viróticas (Urquhart, 1963), pero en Venezuela no hay ninguna información al respecto.

Por su abundancia, diversidad y su papel en el mantenimiento del equilibrio natural entre las poblaciones de insectos, las hormigas son una porción muy importante del agroecosistema cacao (Jaffe, Tablante y Sánchez, 1986). Una de las especies colectadas, *Wasmannia auropunctata*, cumple varios papeles según Goitia (1990) favorece la polinización del cacao, depreda a algunos insectos y colecta secreciones azucaradas de algunos homópteros como los pseudocóccidos.

Los polinizadores usuales (Diptera, Ceratopogonidae) también son insectos comunes en las flores de cacao (Soetardi, 1950), pero no se colectaron con la metodología aplicada.

Tabla 1- Abundancia relativa de insectos en flores de cacao, Edo. Aragua, Venezuela.

Grupo	LOC ₁		LOC ₂	
	Nº	%	Nº	%
Thysanoptera ¹	406	68,47	168	45,53
Homoptera:				
Aphididae ²	102	17,20	109	29,54
Pseudococcidae ³	1	0,02	43	11,65
Otros ⁴	4	0,07	11	1,95
Hemiptera ^x	0	0	1	0,03
Hymenoptera:				
Formicidae ⁵	43	7,23	18	4,88
Otros ⁶	1	0,02	1	0,03
Diptera ⁷	12	2,02	5	1,36
Lepidoptera ⁸	10	1,69	6	1,63
Coleoptera ^x	0	0	1	0,03
Collembola ^x	3	0,05	1	0,03
Acarina	3	0,05	0	0
Aranea ^x	8	1,35	5	1,36
Total	593		369	

Nº= número de individuos; %= porcentaje; x= sin identificar; 1= posiblemente dos especies. Adultos y ninfas; 2=*Toxoptera aurantii*. Adultos y ninfas; 3=Adultos y ninfas. 4=posiblemente cuatro especies. Ninfas; 5=*Crematogaster* sp., *Paretrechina* sp., *Wasmannia auropunctata*; 6=Avispita microparasítica. Adulto; 7=Larvas y 1 adulto, Cecidomyiidae. 1 adulto Culicidae; 8=Pterophoridae, *Platyptilia nubilila*, Larvas.

Agradecimientos

Se agradece a Mario Cermeli por la identificación de los áfidos y William Goitia por la identificación de las hormigas. Este trabajo fue financiado por FUNDACITE - ARAGUA, Venezuela, a través del proyecto PC-93-AG-03.

Literatura Citada

- GOITIA, W. J. 1990. Morfología funcional de la flor e interacción hormiga-polinizador en *Theobroma cacao*. Tesis Licenciatura en Biología. Caracas, Universidad Simón Bolívar. 114 p.
- JAFFE, K., TABLANTE, P. A. y SANCHEZ, P. 1986. Ecología de Formicidae en plantaciones de cacao en Barlovento, Venezuela. *Revista Theobroma (Brasil)* 16 (4):189-197.
- SANCHEZ, P. y CAPRILES DE REYES, L. 1979. Insectos asociados al cultivo del cacao en Venezuela. Caucahua. Estación Experimental de Caucahua. Boletín Técnico nº 11. 56p.
- SOETARDI, R. G. 1950. De betekenes van insecten bij de bestuiving van *Theobroma cacao* L. *Archief voor de Koffiecultuur* 17(1):1-31.
- URQUHART, D. H. 1963. Cacao. Turrialba, IICA. 322p. ●

POLÍTICA EDITORIAL

AGROTRÓPICA é uma publicação quadrimestral destinada a veicular trabalhos que constituem original e real contribuição para divulgar tecnologias dirigidas ao desenvolvimento agroecológico e socioeconômico das regiões tropicais úmidas. Tem por objetivo ser um veículo aberto à divulgação de trabalhos científicos que contribuam para o aprimoramento das culturas do cacau, seringueira, essências florestais, pimenta-do-reino, cravo da índia, palmáceas, fruteiras tropicais, pastagens e outros produtos de interesse econômico.

Os artigos devem ser redigidos em português, espanhol, inglês ou francês e podem ser preparados sob a forma de artigos científicos, revisões bibliográficas de natureza crítica, notas prévias ou cartas ao editor sobre trabalhos publicados em *Agrotrópica*. Trabalhos apresentados em conferências, simpósios ou reuniões científicas poderão ser aceitos para publicação, a menos que tenham sido publicados na íntegra em veículo de grande circulação. Também poderão ser aceitos resultados apresentados em teses.

O autor é o responsável exclusivo pelos conceitos e opiniões emitidos no trabalho, mas a Comissão de Editoração se reserva o direito de aceitar ou não o artigo recebido, bem como submetê-lo ao seu corpo de assessores científicos. A publicação dos trabalhos será mais rápida se obedecidas as normas adotadas pela revista, publicadas anualmente no primeiro número do volume.

Os artigos devem ser submetidos a **AGROTRÓPICA**, Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), 45600-000, Itabuna, Bahia, Brasil.

EDITORIAL POLICY

AGROTRÓPICA is a Journal published every four months which goal is to divulge papers concerned with agroecological and socioeconomical development of humid tropics and which represent an original and significant contribution to the advancement of the knowledge in the subject. It intends to be an open vehicle for publishing scientific work by professionals. Contributions which lead to improvement in the cultivation of either cacao, rubber, timber crops, black pepper, clove, palms, tropical fruit crops, forage and other products of economic interest are welcome.

Material intended for publication should be written in Portuguese, Spanish, English or French and may be accepted as scientific articles, critical reviews, notes or critical comments on papers published in *Agrotrópica*. Papers presented in conferences, symposia or scientific meetings may be accepted for publication only if they have not been published in an well known journal. Results presented in thesis may also be accepted.

Authors are exclusively responsible for concepts and opinions given in the articles. The Editorial Committee, however, reserves the right to accept or refuse papers received for publication following submission to qualified reviewers. Papers will be published sooner if prepared according to the format adopted by *Agrotrópica* guidelines which are published annually in the first number of each volume.

Manuscript submitted for publication should be delivered to **AGROTRÓPICA**, Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), 45600-000, Itabuna, Bahia, Brazil.



COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA
Órgão Vinculado ao Ministério da Agricultura