

# Agrotrópica

Volume 12, número 1, janeiro a abril de 2000



**Pau Brasil**  
**500 Anos**



Centro de Pesquisas do Cacau

Brasil





**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO**

**Ministro:** Marcus Vinicius Pratini de Moraes

**Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira - CEPLAC**

**Diretor:** Hilton Kruschewsky Duarte

**Superintendência Regional da Bahia e Espírito Santo (SUBES)**

**Superintendente:** Francisco Carlos Ferreira Leite

**Centro de Pesquisas do Cacau - (CEPEC)**

**Chefe:** Raúl René Meléndez Valle

**Serviço de Pesquisas**

**Chefe:** Jonas de Souza

**Serviço de Suporte Técnico**

**Chefe:** José Marques Pereira

**Centro de Extensão - (CENEX)**

**Chefe:** Ebíezel Nascimento Andrade Filho

**Superintendência Regional da Amazônia Ocidental (SUPOC)**

**Superintendente:** João Valério da Silva Filho

**Superintendência Regional da Amazônia Oriental (SUPOR)**

**Superintendente:** Ademir Conceição Carvalho Teixeira

Agrotropica, v. 1, n°1 (1989)  
Ilhéus, BA, Brasil, CEPLAC/CEPEC, 1989

v.

Quadrimestral

Substitui "Revista Theobroma"

1. Agropecuária - Periódico.

CDD 630.5

Capa: Selenê Cristina Badaró

Fotografia (pau-brasil): Luiz Alberto Alves de Souza

Desenho (pau-brasil): Antônio Bispo

## **POLÍTICA EDITORIAL**

**AGROTRÓPICA**, publicação quadrimestral destinada a veicular trabalhos que constituem contribuição original e real para o desenvolvimento agroecológico e socioeconômico das regiões tropicais úmidas. Tem por objetivo ser veículo aberto à divulgação de trabalhos científicos inéditos que contribuam para o aprimoramento das culturas tropicais, pastagens e outros produtos de interesse econômico.

Publica artigos científicos, notas científicas, revisões bibliográficas relevantes e de natureza crítica, em português, espanhol e inglês e cartas ao editor sobre trabalhos publicados em Agrotropica.

O autor é o responsável exclusivo pelo conteúdo do trabalho, todavia, o Editor, com a assistência da assessoria científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações que considere necessárias.

## **EDITORIAL POLICY**

**AGROTRÓPICA** is a Journal published every four months which goal is to divulge papers containing original and real contributions to agroecological and socioeconomical development of humid tropics. Inedited papers leading to the improvement of tropical crops, pastures and other agricultural commodities are welcome. The Journal will publish scientific articles and notes, critical reviews and letters to the Editor written in Portuguese, Spanish and English.

Authors are exclusively responsible for concepts and opinions given in their articles. However the Editor with the help of the Scientific Committee reserves the right to suggest or ask modifications thought to be necessary.



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

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

**Comissão de Editoração:** José Luiz  
Bezerra, Miguel Moreno Ruiz e Milton  
Macoto Yamada.

**Editor:** Miguel Moreno Ruiz

**Assistentes de Editoração:** Jacqueline  
C.C. do Amaral e Selenê Cristina Badaró.

**Normalização de referências bibliográ-  
ficas:** Maria Christina de C. Faria

**Editoração eletrônica:** Jacqueline C.C. do  
Amaral e Selenê Cristina Badaró.

**Capa:** Selenê Cristina Badaró

**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, C.P. 07, 45600-970, Itabuna,  
Bahia, Brasil.

**Endereço para correspondência:**  
**AGROTRÓPICA**, Centro de Pesquisas  
do Cacau (CEPEC), C.P. 07, 45600-970,  
Itabuna, Bahia, Brasil.

**Telefone:** (73) 214 -3220

**Fax:** (73) 214 - 3218

**E-mail:** agrotrop@cepec.gov.br

**Tiragem:** 650 exemplares

# AGROTRÓPICA

V.12

Janeiro - abril 2000

N.1

## CONTEÚDO

### ARTIGOS

- 1 Metodologia, polimorfismo e análise eletroforética de isoenzimas de cacau (*Theobroma cacao* L.) (em inglês). **M. M. Yamada e R. P. Guries.**
- 7 Métodos e protocolos para eletroforese em gel de amido de isoenzimas de *Crinipellis pernicioso*. **M. M. Yamada e M. L. de Oliveira.**
- 15 Estimativas de parâmetros genéticos na variedade de milho BR 5028 – São Francisco no Nordeste brasileiro. **H. W. L. de Carvalho; M. de L. da S. Leal; M. X. dos Santos e P. C. L. de Carvalho.**
- 21 Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no nordeste brasileiro no ano agrícola de 1998/99. **H. W. L. de Carvalho; M. de L. da S. Leal; M. J. Cardoso; M. X. dos Santos; J. N. Tabosa; B. C. L. de Carvalho; M. M. Albuquerque e D. M. dos Santos.**
- 29 Comportamento e estabilidade de produção de cultivares de milho no estado da Bahia, no triênio 1995/96/97. **B. C. L. de Carvalho; H. W. L. de Carvalho; M. de L. da S. Leal; M. X. dos Santos; H. da S. Marques; I. O. Silva; G. V. Sampaio; E. M. de M. Rocha e V. V. Dourado.**
- 35 Tamanho de área e precisão de experimentos de campo com cajueiro em função do número de repetições. **A. G. Rossetti.**
- 41 Avaliação preliminar de clones de copa de seringueira. **V. H. de F. Moraes.**
- 45 Poliploidia em seringueira: III - Estudo comparativo entre clones diplóides e novos poliplóides putativos em condições de jardim clonal. **J. R. B. Marques; W. R. Monteiro e V. H. de F. Moraes.**
- 49 Participação e parceria no trabalho com agricultores e suas organizações. **H. Shmitz; D. M. da Mota e L. E. L. Magalhães.**
- 59 *Trichoderma stromaticum* sp. nov. na produção de basidiomas e infecções de ramos e almofadas florais do cacaueiro por *Crinipellis pernicioso*. **C. N. Bastos.**

### NOTA CIENTÍFICA

- 63 Cancro do caule do inhame, uma nova doença ocorrendo no Brasil, causada por *Rhizoctonia solani* (em inglês). **D. W. Silva; S. P. M. Assis; A. L. Galvão; E. Ramalho Neto; M. Menezes e R. M. Moura.**
- 65 Nova ocorrência de *Callistomys pictus* (Rodentia; Echimyidae) e aspectos de sua história natural na Bahia. **A. M. V. da Encarnação; E. P. de F. Moraes e M. A. de Freitas.**





**MINISTRY OF AGRICULTURE AND  
PROVISION**

**CEPLAC - Executive Commission of  
the Cacao Agriculture Plan**

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

**Editorial Committee:** José Luiz Bezerra, Miguel Moreno Ruiz and Milton Macoto Yamada.

**Editor:** Miguel Moreno Ruiz

**Editorial assistant:** Jacqueline C.C. do Amaral and Selenê Cristina Badaró.

**Revision of bibliographical references:** Maria Christina de C. Faria

**Desktop publish:** Jacqueline C.C. do Amaral and Selenê Cristina Badaró.

**Cover:** Selenê Cristina Badaró

**Subscription:** annual (outside Brasil) - US\$ 60.00 (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, P.O.Box 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil.

**Address for correspondence:**

**AGROTRÓPICA,** Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), P.O.Box 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil.

**Telephone:** 55 (73) 214 - 3220

**Fax:** 55 (73) 214-3218

**E-mail:** agrotrop@cepec.gov.br

**Circulation:** 650 copies.

# AGROTRÓPICA

V.12

January - April

2000

N.1

## CONTENTS

### ARTICLES

- 1** Methodology, polymorphism and eletrophoretic analysis of cacao (*Theobroma cacao* L.) isozymes. **M. M. Yamada and R. P. Guries.**
- 7** Methods and protocols for starch gel electrophoresis of isozymes of *Crinipellis pernicioso* (in Portuguese). **M. M. Yamada and M. L. de Oliveira.**
- 15** Estimatives of genetics parameters of the BR 5028 - São Francisco corn variety for brazilian Northeast (in Portuguese). **H. W. L. de Carvalho; M. de L. da S. Leal; M. X. dos S. and P. C. L. de Carvalho.**
- 21** Adaptability and stability of maize in the brazilian Northeast region in the season 1998/99 (in Portuguese). **H. W. L. de Carvalho; M. de L. da S. Leal; M. J. Cardoso; M. X. dos Santos; J. N. Tabosa; B. C. L. de Carvalho; M. M. Albuquerque and D. M. dos Santos.**
- 29** Behavior and stability of corn cultivars in Bahia State from 1995 to 1997 (in Portuguese). **B. C. L. de Carvalho; H. W. L. de Carvalho; M. de L. da S. Leal; M. X. dos Santos; H. da S. Marques; I. O. Silva; G. V. Sampaio; E. M. de M. Rocha and V. V. Dourado.**
- 35** Influence of the plot and number of replicates on the experimental area size and precision of perennial arboreal plants trials (in Portuguese). **A. G. Rossetti.**
- 41** Preliminary evaluation of crown clones of rubber tree (in Portuguese). **V. H. de F. Moraes.**
- 45** Polyploidy in rubber tree: III - comparative study among diploid and the new putative polyploids clones under the conditions of clonal garden (in Portuguese). **J. R. B. Marques; W. R. Monteiro and V. H. de F. Moraes.**
- 49** Participation and partnership in the work with growers and their organizations (in Portuguese). **H. Shmitz; D. M. da Mota and L. E. L. Magalhães.**
- 59** *Trichoderma stromaticum* sp. nov. on the production of basidiomatas and on infections of shoots and cushion flowers of cocoa by *Crinipellis pernicioso* (in Portuguese). **C. N. Bastos.**

### SCIENTIFIC NOTE

- 63** Yam stem canker, a new disease occurring in Brazil caused by *Rhizoctonia solani*. **D. W. Silva; S. P. M. Assis; A. L. Galvão; E. Ramalho Neto; M. Menezes and R. M. Moura.**
- 65** New occurrence of *Callistomys pictus* (Rodentia; Echimyidae) in Bahia and aspects of its natural history. (in Portuguese). **A. M. V. da Encarnação; E. P. de F. Moraes and M. A. de Freitas.**

# Instruções aos Autores

**1.** Os trabalhos devem ser apresentados em três cópias impressas em espaço duplo, papel branco, e em disquete, no programa WORD. As figuras (desenhos, mapas, fotografias, gráficos) e quadros devem vir à parte. No rodapé da primeira página deverão constar o endereço postal completo e o endereço eletrônico do(s) autores(s).

**2.** Sempre que possível os artigos devem conter: título, resumo, abstract, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos e literatura citada.

**3.** Os artigos científicos e notas científicas devem conter introdução que destaque os antecedentes, a importância do termo e revisão de literatura. Nos materiais e métodos deve-se descrever os materiais e métodos usados, incluindo informações sobre localização, época, clima, solo etc., bem como nomes científicos se possível completos de: plantas, animais, patógenos etc., o desenho experimental e recursos de análise estatística empregados. Os resultados e discussão poderão vir juntos ou separados e devem incluir quadros e figuras com suas respectivas análises estatísticas. As conclusões devem ser objetivas e derivadas dos aspectos significativos da pesquisa e suas implicações no campo agropecuário.

**4. Título** - Deve ser conciso e expressar com exatidão o conteúdo do trabalho.

**5. Resumo e Abstract** - Devem conter no máximo 200 palavras cada.

**6. Palavras chave** - Devem ser no máximo de cinco, sem estar contidas no título.

**7. Unidades de medida** - Usar exclusivamente o Sistema Internacional (S.I.).

**8. Figuras (gráficos, desenhos, mapas)** - As figuras devem ser apresentadas com qualidade que permita boa reprodução gráfica; devem ter 8,2 cm ou 17 cm de largura; devem ser enviadas em disquete, de maneira que possam ser editadas para possíveis correções, acompanhadas de uma cópia impressa. A chave das convenções adotadas deve ser incluída na área da figura. As fotografias não devem ser montadas, mas colocadas em envelopes.

**9. Literatura Citada** - No texto as referências devem ser citadas da seguinte forma: Silva (1990) ou (Silva, 1990). A normalização das referências deve seguir os exemplos abaixo.

## PERIÓDICO

REIS, E.L. 1996. Métodos de aplicação e fracionamentos de fertilizantes no desenvolvimento da seringueira (*Hevea brasiliensis*) no Sul da Bahia. *Agrotrópica* (Brasil) 8(2): 39 - 44.

## LIVRO

BALL, D.M., HOVELAND, C.S. and LACEFIELD, G.D. 1991. Southern forrages. Atlanta, PPI. 256p.

## PARTE DE LIVRO

ENTWISTLE, P.F. 1987. Insects and cocoa. In Wood, G.A.R and Lass, R.A. Cocoa. 4ed. London, Longman. pp.366-443.

## TESE

ROCHA, C.M.F. 1994. Efeito do nitrogênio na longevidade da folha de cacau (*Theobroma cacao* L.). Tese Mestrado. Salvador, UFBA. 31p.

## MONOGRAFIA SERIADA

TREVIZAN, S.D.P. e ELOY, A.L.S. 1995. Nível alimentar da população rural na Região Cacaueira da Bahia. Ilhéus. CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico n° 180. 19p.

## PARTE DE EVENTO

PIRES, J.L. et al. 1994. Cacao germplasm characterisation based on fat content. In International Workshop on Cocoa Breeding Strategies, Kuala Lumpur, 1994. Proceedings. Kuala Lumpur, INGENIC. pp.148-154.

A literatura citada deverá referir-se unicamente a trabalhos publicados.

Após as correções sugeridas pela assessoria científica, o autor deverá retornar ao editor da revista, uma cópia impressa da versão corrigida, acompanhada de uma cópia em disquete.

Os autores receberão 15 separatas do seu artigo publicado.



## Guidelines to Authors

**1** - Papers must be delivered in three copies (double space, white paper). Figures (drawings, maps, pictures and graphs) and tables should be sent separately and ready for publication;

**2** - Whenever possible articles must contain: title, abstract, introduction, material & methods, results and discussion, conclusions, acknowledgements and literature cited (references);

**3** - Scientific articles and notes must include an introduction highlighting the background and importance of the subject and literature review. Under materials and methods one must mention informations about locations, time, climate, soil, etc. and furnish latin names of plants, animals, pathogens, etc., as well experimental designs and statistical analysis used. Conclusions must be objective and derived from relevant results of the research.

**4 - Title** - It must be concise and express the real scope of the work.

**5 - Abstract** - No more than 200 words.

**6 - Kew words** - Five at most, and should not be present in the title.

**7 - Measurement units** - Use only the International System.

**8 - Figures** - They should be made with black ink (tinta nanquim) and be larger than printing size. Dimensions should not exceed 23x17,5cm including the legend. Black and white colors are preferred. All figures must be identified in the back.

**9 - References** - literature cited in the text must be written as follows: Silva (1990) or (Silva, 1990). Citation should be givens as follows.

Literature cited should correspond only to published papers, unpublished informations must be referred to as "personal communication" or "unpublished data". After attending the corrections of the reviewers the author should return to the Editor a definitive copy of the corrected version and a disk copy in the software recommended by the editors.

Authors will receive 15 reprints of their published paper.

### PERIODICALS

REIS, E.L. 1996. Métodos de aplicação e fracionamentos de fertilizantes no desenvolvimento da seringueira (*Hevea brasiliensis*) no Sul da Bahia. *Agrotrópica* (Brasil) 8(2): 39 - 44.

### BOOKS

BALL, D.M., HOVELAND, C.S. and LACEFIELD, G.D. 1991. Southern forrages. Atlanta, PPI. 256p.

### BOOK CHAPTERS

ENTWISTLE, P.F. 1987. Insects and cocoa. *In* Wood, G.A.R. and Lass, R.A. Cocoa. 4ed. London, Longman. pp.366-443.

### THESIS

ROCHA, C.M.F. 1994. Efeito do nitrogênio na longevidade da folha de cacau (*Theobroma cacao* L.). Tese Mestrado. Salvador, UFBA. 31p.

### SERIAL MONOGRAPHS

TREVIZAN, S.D.P. e ELOY, A.L.S. 1995. Nível alimentar da população rural na Região Cacaueira da Bahia. Ilhéus. CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico n° 180. 19p.

### PART OF MEETINGS

PIRES, J.L. et al. 1994. Cacao germplasm characterisation based on fat content. *In* International Workshop on Cocoa Breeding Strategies, Kuala Lumpur, 1994. Proceedings. Kuala Lumpur, INGENIC. pp.148-154.

## METHODOLOGY, POLYMORPHISM AND ELECTROPHORETIC ANALYSIS OF CACAO (*Theobroma cacao* L.) ISOZYMES\*

\*Extracted from a dissertation submitted by the first author as a requirement for the degree of Doctor in Philosophy major in Plant Breeding/ Plant Genetics at Forest Department of the University of Wisconsin-Madison, USA.

*Milton Macoto Yamada<sup>1</sup> and Raymond P. Guries<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>CEPLAC, Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), Seção de Genética, Caixa postal 7, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brazil

<sup>2</sup>Department of Forestry, 1630, Linden Dr., University of Wisconsin,- Madison, USA.

The objective of this study was to develop methods for resolving isozyme systems, and also to find polymorphic loci for which a genetic interpretation could be provided. The protocol that worked well was a combination of an extraction developed for *Malus* and a morpholine-citrate electrophoresis buffer adjusted to pH 7.1. Among 25 enzymes systems, three new polymorphic enzyme systems (AAT, FLE and DIA) were identified for cacao and genetic interpretation for 7 enzyme systems were provided.

**Key words:** Isozymes, methodology, *Theobroma cacao*

**Metodologia, polimorfismo e análise eletroforética de isoenzimas de cacau (*Theobroma cacao* L.).** O objetivo deste trabalho foi desenvolver métodos para determinação de sistemas de enzimas e também, encontrar locos polimórficos que permitam a interpretação genética. O protocolo que deu o melhor resultado foi a combinação da extração de enzimas desenvolvido para maçã (*Malus*) e o tampão citrato-morfolina ajustado a pH 7.1. Dos 25 sistemas de enzimas, tres (AAT, FLE e DIA) foram identificados como novos para cacau e feitas as interpretações genéticas para 7 sistemas de enzimas.

**Palavras-chave:** Isoenzimas, metodologia, *Theobroma cacao*.



## Introduction

Isozyme applications in genetics studies and breeding of crops plants include cultivar identification (Simpson and Withers, 1986) confirmation of hybridity (Parfitt and Arulsekhar, 1985), development of genetic linkage maps and markers associated to others traits (Weeden and Lamb, 1987; Pan, et al. 1996), mating system studies (Yeh et al., 1983; O'Malley and Bawa, 1987), taxonomy and phylogenetic relationship of crop plants and their wild relatives (Staub et al., 1987; Legionnet and Lefevre, 1996) and germplasm characterization (Simpson and Withers, 1986; Sankar and Sounigo, 1995).

The first attempt to characterize cacao germplasm using isozymes was by Atkinson et al. (1986) who examined 24 enzyme systems and found seven to be polymorphic. Seventeen other enzymes showed activity, but could not be interpreted genetically. Atkinson et al. (1986) concluded that it was possible to use isozymes for cacao germplasm characterization in order to supplement the usual morphological descriptors used for clonal identification.

Lanaud (1986) studied more than two hundred genotypes from different groups of cacao, including Criollo, Lower Amazon Forastero, Upper Amazon Forastero and Trinitario. Among 12 enzymes systems, six were polymorphic, including malate dehydrogenase (MDH), phosphoglucomutase (PGM), isocitrate dehydrogenase (IDH), acid phosphatase (ACP), alcohol dehydrogenase (ADH) and phosphoglucose isomerase (PGI) encoding 10 loci with 24 alleles. No genetic linkages between any pair of polymorphic loci were reported. Lanaud (1986) provided a genetic interpretation for each polymorphic enzyme system.

Yidana et al. (1988) studied cacao peroxidase isozymes using extracts of leaf and bark tissue of 39 clones and 5 species of wild *Theobroma*. They found variation among different genotypes using the same tissue, as well as variation in the same plant depending on the tissue used. Three types of banding pattern, termed ICS1, IMC67, and M8 (Amelonado) were identified in seven 'staining zones'. All 7 zones were present in ICS1 type, one was absent in the IMC67 type and two were absent in M8. However, no genetic interpretation was provided and Yidana et al. (1988) concluded that with further research and development, isozymes could be a tool for cacao germplasm characterization.

Using leaf extracts, Ngambi-Ndjama (1988) evaluated 11 enzyme systems and reported variation for four systems, isocitric dehydrogenase (IDH) phosphatase (ACP), shikimic dehydrogenase (SKD), and diaphorase (DIA).

The number of polymorphic loci identified in cacao appears small when compared with other plant species.

The small number of polymorphic loci reported probably is due to methodology problems, as considerable refinement is needed before resolution yields acceptable results. Also, the number of genotypes studied probably has been too small to detect all available polymorphisms. It was attempted to resolve a large number of isozymes and determine their likely pattern of inheritance for subsequent use as molecular markers in genetic studies.

## Material and methods

### Plant material

Experiment 23 located at CEPLAC/CEPEC, Bahia, Brazil, was used for this study. Open pollinated fruits from 4 hybrids (SIC 24 x ICS1, SIC 823 x ICS 1, SIC 831 x SCA 6 and SIC 864 x SIC 328) from 53 trees were collected and the seeds were planted for enzyme extraction.

### Screening of buffer and enzyme system

A range of grinding buffers, gel and tray buffers, and stains were tried using methods published for conifers and other plant species. The grinding buffer initially used was as described by Marty et al. (1984). It was also tried that described for cacao (Lanaud, 1986; Atkinson et al., 1986) and apple (Bournival and Korban, 1987).

Fresh leaves were collected from 1 month-old-plants and ground to a crude homogenate using cold extraction buffer in a mortar on ice. The crude homogenate was then stored in a freezer at - 80 °C until analyzed.

The gel and electrode buffers, and stain recipes tried were described in Marty et al., (1984) and Soltis et al., (1983). The gel and electrode buffers used were:

- 1) Morpholine-citrate pH 6.1, pH 7.1, pH 8.1 (described as AC for pH 6.1, in Marty et al. 1984);
- 2) Lithium-borate, pH 8.1/Tris citrate, pH 8.5 (RW of Marty et al., 1984);
- 3) Citrate/histidine pH 7.0 (described as HC in Marty et al., 1984);
- 4) Tris-citrate pH 7.5 from Soltis et al. (1983);
- 5) Sodium-borate pH 8.6 /Tris-citrate pH 7.8 from Soltis et al., (1983).

A total of 25 enzyme systems were assayed (Table 1).

After staining, the gel was fixed in methanol: water: acetic acid (5:5:1). Before and after the use of fixative, the gel was rinsed with tap water, wrapped in Saran wrap and stored in the refrigerator until photographed.

### Nomenclature

When more than one zone of activity was observed for an enzyme system, the most anodal was designated as 1, other zone being numbered in increasing order towards the cathodal end. For multiple alleles within any locus,

the most anodal allele detected was designated as 1, other alleles being numbered in increasing order towards the cathodal end.

Table 1. Enzymes assayed using cacao leaf tissue, respective abbreviations, and enzyme commission number.

Enzyme name	Abb.	E. C. number
1 Aconitase	ACO	4.2.1.3
2 Acid phosphatase	ACP	3.1.3.2
3 Alcohol dehydrogenase	ADH	1.1.1.1
4 Aldolase	ALD	4.1.2.13
5 Aspartate aminotransferase	AAT	2.6.1.1
6 Diaphorase	DIA	1.6.2.2
7 Esterase, colorimetric	EST	3.1.1.1
8 Esterase, fluorescent	FLE	3.1.1.1
9 Fumarase	FUM	4.2.1.1
10 Glutamate dehydrogenase	GDH	1.4.1.2
11 Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	GPD	1.2.1.12
12 Glutathione reductase	GR	1.6.4.2
13 Glycerate-2-dehydrogenase	G2D	1.1.1.29
14 Glucose-6-phosphate dehydrogenase	G6P	1.1.1.49
15 Isocitrate dehydrogenase	IDH	1.1.1.42
16 Malate dehydrogenase	MDH	1.1.1.37
17 Malic enzyme	ME	1.1.1.40
18 Menadione reductase	MNR	1.6.99.2
19 Mannose-6-phosphate isomerase	MPI	5.3.1.8
20 Peptidase	PEP	3.4.11.1
21 Phosphoglucosmutase	PGM	2.7.5.1
22 Phosphoglucose isomerase	PGI	5.3.1.9
23 6-phosphogluconate dehydrogenase	6PG	1.1.1.44
24 Shikimic dehydrogenase	SKD	1.1.1.25
25 Triosephosphate isomerase	TPI	5.3.1.1

## Results

For most systems, resolution was good (or at least adequate) to assess the number of zones of activity and to identify polymorphic loci.

### Buffers

The extraction buffer used for *Malus* species (Bournival and Korban, 1987) yielded scorable gels. The extraction buffer used for cacao also yielded good results for some enzyme systems (Atkinson et al., 1986; Lanaud, 1986). For this study, the buffer of Bournival and Korban (1987) was used because it gave better results. The recipe is in Yamada and Guries (1989).

Among the gel and electrode buffers, the morpholine-citrate (pH 7.1) and lithium-borate (pH 8.1)/tris citrate (pH 8.5) of Marty et al., (1984) and the tris-citrate (pH 7.5) and sodium-borate (pH 8.6) of Soltis et al., (1983) provided the best results. Buffer concentrations and electrophoresis conditions for starch gel are described in Yamada and Guries (1989).

### Enzyme system

Among the 25 enzyme systems tested, seven were

polymorphic. Excellent resolution was possible for MDH, IDH, DIA, FLE and PGI. For aspartate amino transferase (AAT), and alcohol dehydrogenase (ADH), it was not possible to score all plants. For some enzyme systems such as MDH, IDH, DIA and FLE the activity was excellent, even in samples stored for 15 months at  $-80^{\circ}\text{C}$ . Four more (ACP, TPI, PGM, MNR) were putatively polymorphic but not well resolved, and on some gels provided an indication of polymorphism, but were not clear enough to reliably score. We can not exclude the possibility that other untried buffers or conditions would yield well resolved gels. Eleven were well resolved but monomorphic. Finally, some enzyme systems never resolved e.g. fumarase (FUM), while others worked only occasionally, but resolution was seldom clear and never repeatable, e.g. Aconitase (ACO) and glycerate-2-dehydrogenase (G2D).

### Monomorphic enzymes

The enzyme systems, ALD, EST, (colorimetric), GPD, GR, MPI, GDH, G6P, ME, PEP, 6PG, SKD worked relatively well, but were always monomorphic. All monomorphic enzyme systems except for 6PG and SKD showed one zone of activity with a single band, suggesting a single locus, but no further information can be provided. For SKD, two bands were observed suggesting that these are the product of two loci in homozygous condition. For 6PG, three bands of activity were present, possibly representing three different homozygous loci.

### Genetic interpretation

In these studies the following enzyme systems were polymorphic: MDH, IDH, DIA, FLE, PGI, AAT and ADH.

### Malate Dehydrogenase (MDH)

This enzyme system is one of the most difficult to interpret in many plant species because several loci encode isozymes, overlapping bands may be common, and interlocus dimers may occur (Goodman et al., 1980; El-Kassaby, 1981). Results indicate that there are four MDH allozymes in *T. cacao*. The most anodal, Mdh-1 was monomorphic, as was Mdh-2. The third locus (Mdh-3) presented six patterns of bands (Figure 1). These patterns were interpreted to represent control by two alleles at one locus with three bands in heterozygous condition indicating a dimer quaternary structure. The 4<sup>th</sup> zone appeared to be monomorphic in all material studied with migration in the cathodal direction. This band was not always present.

### Isocitrate Dehydrogenase (IDH)

A single zone of activity was observed on all gels stained for IDH (Figure 2) Either single or triple bands were observed, suggesting that the active enzyme is a dimer.



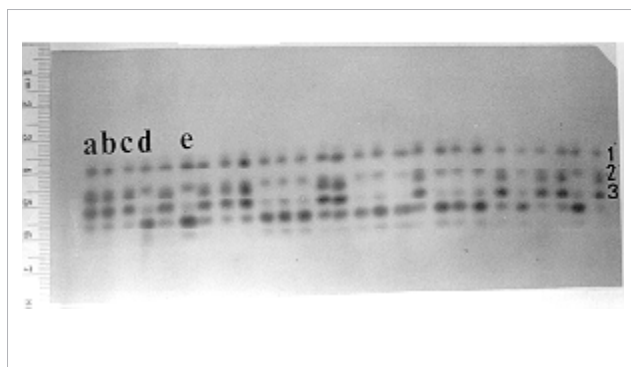


Figure 1. Isozyme phenotypes for MDH. Four zones of activity were observed (cathodal not shown). Zones 1 and 2 were always monomorphic. Zone 3 was controlled by one locus with three alleles detected in cacao. Slots a,b and c represent heterozygosity for alleles 1 and 2 and slots d and e represent homozygotes for allele 2; others slots are additional individuals with these phenotypes.

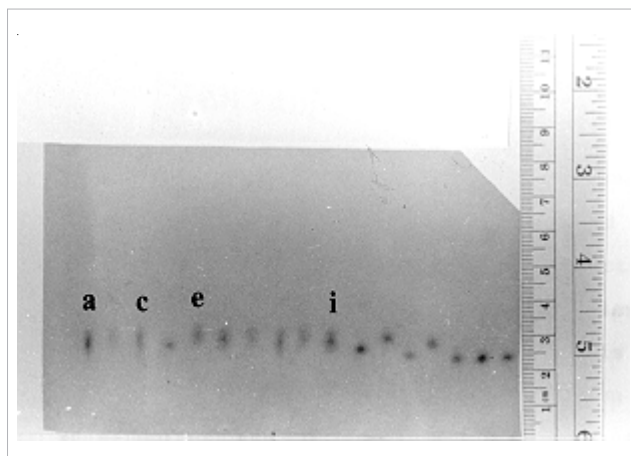


Figure 2. Isozyme phenotype for IDH. Slots a-c and e-i are heterozygous; all others are homozygotes for allele 1 or 2.

### Diaphorase (DIA)

Dia-1 was monomorphic and only one band was observed. This enzyme system was highly polymorphic for Dia-2, with 1 or 2 bands, indicating a monomer structure. A third zone, Dia-3 was also monomorphic (Figure 3). A fourth zone of activity (Dia-4) was not well resolved, but appeared as either a single or 5 bands suggesting that the structure is a tetramer. However, a lack of resolution in many plants resulted in excluding this zone from further analysis. In addition, uncertainty over the correct identification of this zone as either diaphorase or another enzyme (menadione reductase) contributed to its exclusion.

### Fluorescent Esterase (FLE)

The fastest region (Fle-1) was not always clear. While

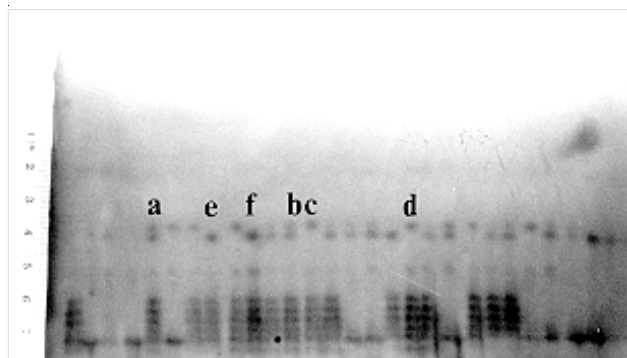


Figure 3. Isozyme phenotypes for DIA. Slots a and b are heterozygotes for alleles 1 and 2. Slots c and d are homozygotes for allele 1; slots e and f are homozygotes for allele 2. The lower zone on gel is MNR.

Fle-2 had 1 or 2 bands indicating that the active enzyme is a monomer. It was important to observe the development of bands several times because they develop rapidly and quickly fade.

### Phosphoglucose Isomerase (PGI)

The most anodal zone Pgi-1, was monomorphic. Pgi-2 was polymorphic loci and appears as a dimer (Figure 4). On some gels, the two loci nearly overlapped.

### Aspartate Amino Transferase (AAT)

The fastest locus (Aat-1) was monomorphic while Aat-2 was a dimer (Figure 5). Sometimes it is easier to see the bands when exposed over light. Aat-1 was difficult to resolve and did not always work.

### Alcohol Dehydrogenase (ADH)

The most common phenotype observed for this enzyme was either three bands or a single band (Figure 6). It appears that a dimer is the quaternary structure.

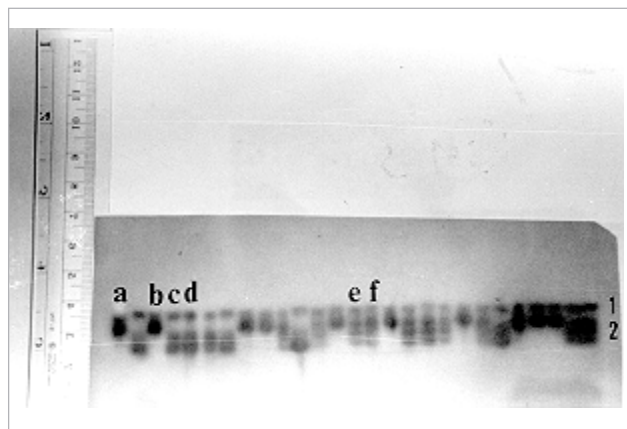


Figure 4. Isozyme phenotype for PGI. Zone 1 was always monomorphic. Zone 2 was polymorphic with two alleles. Slots a and b are homozygous for allele 1, slots c and d are homozygous for allele 2; slots e and f are heterozygous.

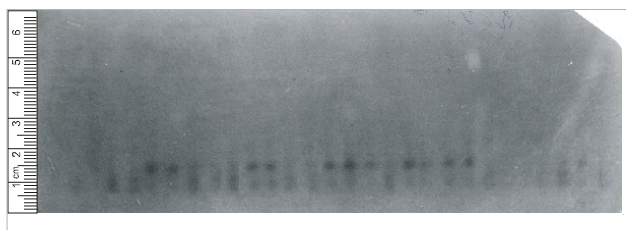


Figure 5. Isozyme phenotypes for AAT. Zone 1 was always monomorphic. Zone 2 was polymorphic but difficult to resolve and not easily photographed.

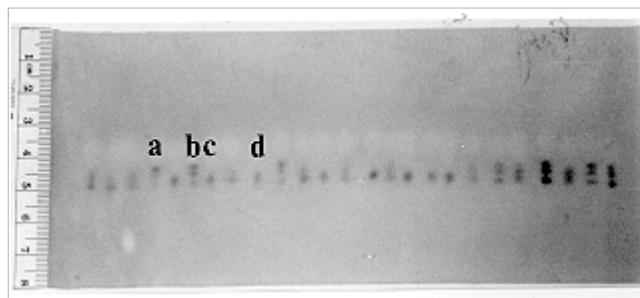


Figure 6. Isozyme phenotype for ADH. A single zone of activity was observed. Slots a and b are heterozygous; slots c and d are homozygous for the slower allele.

## Discussion

In this study, the best resolution for most of the enzyme systems was obtained using the morpholine-citrate system (AC) at pH 7.1. The combination of the *Malus* extraction buffer and this electrophoresis buffer system provided good resolution for many enzyme systems. If more material had been available from other cacao accessions, it is likely that more polymorphic loci would have been found. However, it is clear that levels of isozyme polymorphism in cacao are lower than commonly observed in other woody plants (Hamrick and Loveless, 1986; Hamrick, 1989). The low level of polymorphism observed probably relates to one of the parents in most crosses being Catongo, a putatively highly homozygous material (Vello et al. 1967).

The results for PGI suggest that Pgi-1 is monomorphic confirming similar results by Atkinson et al. (1986). Pgi-2 was polymorphic with segregation indicating a dimer structure. However, only two alleles were observed instead of the three (Atkinson et al., 1986) or four (Lanaud, 1986) previously reported. The low number of alleles present probably is due to the parents being related, although large numbers of samples were used. Results similar to *Camellia Japonica* L. (Wendel and Parks, 1982) for Pgi-1 and Pgi-2 have been found for cacao.

One of the easiest and most repeatable systems to score was IDH. The findings in this study agree entirely with Lanaud's (1986) results in which a dimer was reported. This is also true for other species (Guries and Ledig, 1978; Weeden and Wendel, 1989).

Among the polymorphic enzyme systems identified, ADH has been one of the most difficult to work with because it was not always repeatable, requiring numerous duplicate analyses to score. The existence of polymorphism is clear but not the genetic interpretation. It would be necessary to observe other material, because the fast band was not observed clearly and only infrequently. The apparent high frequency of heterozygotes for some families was initially problematic, and made genetic interpretation questionable. However, in cacao plantations with insect pollination, we are probably not viewing a situation of random mating. Thus, the possibility that all seeds from a single fruit might be heterozygous is a possibility.

MDH proved to be a very polymorphic system that yielded multi-allelic data. No interlocus dimers were found, a situation frequently reported for MDH (Goodman et al. 1980; El-Kassaby, 1981). It would be necessary to examine more plant material to have a better understanding of the two faster migrating zones (Mdh-1 and Mdh-2). One interpretation provided by Lanaud (1986) identifies some MDH isozymes as having a dimer structure while others are monomers. Weeden and Lamb (1987) state that a dimeric structure is typical for MDH. No other references indicated that MDH has a monomer structure. Our interpretation of Mdh-3 is that it is a dimer.

The three new enzyme systems not previously characterized genetically in cacao are DIA, FLE and AAT. For DIA, monomer, dimer and tetramer structure have been attributed to other species (Wendel and Parks, 1982; Stuber et al. 1988; Weeden and Wendel, 1989). Dia-2 encodes a monomer in cacao while Dia-4 appears to be a tetramer because of the presence of five bands. However, scoring of this slower zone was difficult and the bands were not always present. The stain for menadione reductase (MNR) provides a 1:1 correspondence to that of Dia-4. Both actually reveal the same isozymes, as shown by Wendel and Weeden (1989). The equivalence of MNR and DIA also has been reported in Knobcone pine (Straus and Conkle, 1986). A tetramer structure also has been reported for MNR in cacao (Atkinson et al., 1986). Thus, it is concluded that Dia-4 here is equivalent to MNR of Atkinson et al. (1986).

For FLE, a monomer structure was observed, but no reports in the literature confirm this. In *Camellia japonica* L., it has been reported as a dimer (Wendel and Parks, 1982). However, esterase was reported as having either monomer or a dimer structure (Weeden and Wendel, 1989).



With regard to AAT, two loci have been identified. Aat-1 was monomorphic in all material studied, while Aat-2 was a dimer in structure. A finding that agrees with results for other species (Guries and Ledig, 1978; Wendel and Parks, 1982; Bournival and Korban, 1987; Stuber et al., 1988).

### Literature Cited

- ATKINSON, M.D., LINDSEY, A.W. and SIMPSON, M.J.A. 1986. Characterization of cacao germplasm using isozyme markers. 1. A preliminary survey of diversity using starch gel electrophoresis and standardization of procedure. *Euphytica* 35:741-750.
- BOURNIVAL, B.L. and KORBAN, S.S. 1987. Electrophoretic analysis of genetic variability in the apple. *Scientia Horticulturae* 31:233-243.
- EL-KASSABY, Y.A. 1981. Genetic interpretation of malate dehydrogenase isozymes in some conifer species. *Journal Heredity* 72: 451-452.
- GOODMAN, M.M. et al. 1980. Genetic control of malate dehydrogenase isozymes in maize. *Genetics* 94:153-168.
- GURIES, R.P. and LEDIG, F.T. 1978. Inheritance of some polymorphic isozymes in Pitch pine (*Pinus rigida* Mill). *Heredity* 40:27-32.
- HAMRICK, J. L. 1989. Isozymes and the analysis of genetic structure in plant populations. In: Soltis, D.E. and Soltis, P.S. (eds), *Isozymes in Plant Biology*. Oregon, Discorides Press. pp. 87-105.
- HAMRICK, J.L. and LOVELESS, M.D. 1986. Isozyme variation in tropical trees: Procedures and preliminary results. *Biotropica* (Brasil) 18:201-207.
- LANAUD, C. 1986. Genetic studies of *Theobroma cacao* L. with the help of enzymatic markers. I. Genetic control and linkage of nine enzymatic markers. *Cafe Cacao* The 30(4): 259-267.
- LEGIONNET, A. and LEFEVRE, F. 1996. Genetic variation of the riparian pionner tree species *Populus nigra*. I. study of population structure based on isozymes. *Heredity* 77:629-637
- MARTY, T.L., O'MALLEY, D.M. and GURIES, R.P. 1984. A manual for starch gel electrophoresis: New microwave edition. Madison. University Wisconsin Department Forest. Staff Paper Series n. 20, 24p.
- NGAMBI-NIDJAMA, J.M. 1988. Variabilite enzymatique chez le cacaoyer (*Theobroma cacao* L.). In Conferencia Internacional de Investigación en Cacao, 10, Santo Domingo, Republica Dominicana, 1987. Actas. Lagos, Nigeria, Cocoa Producer's Alliance. pp. 725-728.
- O'MALLEY, D.M. and BAWA, K.S. 1987. Mating system of a tropical rain forest tree species. *American Journal Botany* 74(8): 1143-1149.
- PAN, Q. WANG, L. IKEHASHI and TANISAKA, T. 1996. Identification of a new blast resistance gene in the indic rice cultivar kasalath using japanese differential cultivars and isozyme markers. *Phytopathology* 86(10): 1071-1075.
- PARFITT, D.E. and ARULSEKAR, S. 1985. Identification of plum x peach hybrids by isozyme analysis. *Hortscience* 20(2): 246-248.
- SANKAR, A. and SOUNIGO, O. 1995. The use of isozyme electrophoresis for characterization and genetic diversity assessment of cacao. Trinidad. The University of Indies, Cocoa Research Unit. pp. 52-63.
- SIMPSON, M.J.A. and WITHERS, L.A. 1986. Characterization of plant genetic resource using isozyme electrophoresis: A guide to literature. Rome, International Board for Plant Genetic Resources. 102 p.
- SOLTIS, D.E. et al. 1983. Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. *American Fern Journal* 73:9-27.
- STAUB, J.E., FREDRICK, L. and MARTY, T.L. 1987. Electrophoretic variation in cross-compatible wild diploid species of *Cucumis*. *Canadian Journal of Botany* 65:792-798.
- STRAUS, S.H. and CONKLE, M.T. 1986. Segregation, linkage and diversity of allozymes in knobcone pine. *Theoretical and Applied Genetics* 72: 483-493.
- STUBER, C.W. et al. 1988. Techniques and scoring procedures for starch gel electrophoresis of enzymes from maize (*Zea mays* L.). Rabigh. North Carolina State Univ. NCARS Technical Bulletin 286, 87p.
- VELLO, F. et al. 1967. O programa de melhoramento genético da cacauicultura na Bahia. In: Conferência Internacional de Pesquisas em Cacao, 2. Itabuna. pp. 43-46.
- WEEDEN, N. F. and LAMB, R.C. 1987. Genetic and linkage analysis of 19 isozyme loci in apple. *Journal American Society Horticulture* 112: 865-872.
- WEEDEN, N.F. and WENDEL, J.F. 1989. Genetics of plant isozymes. In: Soltis, D.E. and Soltis, P.S. (eds), *Isozymes in Plant Biology*, Oregon, Discorides Press. p. 46-72.
- WENDEL, J.F. and PARKS, C.R. 1982. Genetic control of isozyme variation in *Camellia japonica* L. *Heredity* 73: 197-204.
- WENDEL, J.F. and WEEDEN, N.F. 1989. Visualization and interpretation of plant isozymes. In: Soltis, D.E. and Soltis, P.S. (eds). *Isozymes in Plant Biology*, Oregon, Discorides Press. pp. 5-45.
- YAMADA, M.M. and GURIES, R.P. 1989. A manual for starch gel electrophoresis: New chocolate lovers edition. Madison. University Wisconsin Department. Forest Staff Paper, Series n. 39. 22p.
- YEH, F. C., BRUNE, A., CHELIAK, W.M. and CHIPMA, D.C. 1983. Mating system of *Eucalyptus citriodora* in a seed-production area. *Canadian Journal Forest Research* 13: 1051-1055.
- 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, Republica Dominicana, 1987. Actas. Lagos, Nigeria, Cocoa Producer's Alliance. pp. 719-723.



## MÉTODOS E PROTOCOLOS PARA ELETROFORESE EM GEL DE AMIDO DE ISOENZIMAS DE *Crinipellis perniciosa*

*Milton Macoto Yamada e Marival Lopes de Oliveira*

CEPLAC/Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), Caixa Postal 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil.

A análise de isoenzimas é uma técnica bastante importante em estudos taxonômicos, genéticos e populacionais de uma série de organismos, incluindo fungos. Trata-se de uma técnica simples, de baixo custo, com baixo nível de sofisticação em termos de equipamentos, quando comparadas às modernas técnicas baseadas em estudos de DNA; sendo bastante informativa, desde que sejam detectados níveis razoáveis de polimorfismo nas análises. Buscando avaliar e adequar o uso desta metodologia como uma ferramenta a ser utilizada em estudos populacionais com o fungo *Crinipellis perniciosa*, agente causal da vassoura-de-bruxa do cacau, foram testados 14 sistemas de enzimas com três sistemas de tampões, denominados AC, RW e Soltis # 4. Os sistemas de enzimas: MDH, FLE, PGI, PGM, ALD, PEP, 6PG e ACP foram os que apresentaram melhores resultados em termos de resolução.

**Palavras-chave:** *Theobroma cacao*, vassoura-de-bruxa, metodologia

**Methods and protocols for starch gel electrophoresis of isozymes of *Crinipellis perniciosa*.** The isozyme analysis is a very important technique in taxonomic, genetic and populational studies of a series of organisms, including fungi. It is a simple, low cost as compared to the modern techniques based on DNA studies, if a reasonable number of polymorphic loci are found. Trying to evaluate and adjust the isozyme methodology as an additional tool for population studies in *C. perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cacao, fourteen enzymes and three buffers systems, designated as AC, RW and Soltis #4, were evaluated. Among the isozyme systems evaluated, MDH, FLE, PGI, PGM, ALD, PEP, 6PG and ACP were the ones with the best results regarding enzyme resolution.

**Key words:** *Theobroma cacao*, witches' broom disease, methodology

## Introdução

*Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer, agente causal da vassoura-de-bruxa, é um dos mais importantes e destrutivos patógenos do cacaueiro (*Theobroma cacao* L.), chegando a provocar perdas de até 90 % na produção (Evans, 1981; Evans e Bastos, 1981). O fungo infecta tecidos meristemáticos em lançamentos foliares, almofadas florais, como também frutos, principalmente em estágio inicial de desenvolvimento, provocando uma série de sintomas caracterizados pela proliferação anormal de brotações (vassouras), produção de tecidos vegetativos em almofadas florais, assim como de frutos partenocárpicos em forma de “morango” ou “cenoura”, ou ainda causar infecção em frutos em desenvolvimento, induzindo a formação de lesões características da doença.

Além do cacaueiro, outras espécies da família Sterculiaceae (Bastos e Evans, 1985), membros das famílias Solanaceae (Bastos e Evans, 1985) e Bixaceae (Bastos e Andebrhan, 1986) são também hospedeiros do fungo, podendo ainda colonizar, secundariamente, uma variedade de substratos como saprófita (Evans, 1978; Hedger et al., 1987).

Tentativas em agrupar isolados de *Crinipellis perniciosa* tem sido feitas baseando-se em características culturais e morfológicas do fungo, compatibilidade vegetativa, reações bioquímicas, e em menor proporção, na manifestação de sintomas da doença em cultivares de cacau e de outras espécies de *Theobroma* (Wheeler e Mepsted, 1982, 1988; Rocha, 1983; Andebrhan, 1985, 1988; Bastos, 1986; Hedger et al., 1987; Bastos et al., 1988; McGeary e Wheeler, 1988).

Outros critérios tem sido também utilizados na identificação da variação genética dentro da espécie, tais como marcadores moleculares, com destaque para as análises de RAPD (random amplified polymorphic DNA) (Andebrhan e Furtek, 1994; Yamada et al., 1998; Andebrhan et al. 1999), RFLP (restriction fragment length polymorphisms) (Gebhardt e Salamini, 1992) e PCR de DNA repetitivo (Jarret et al., 1993; Khashnobish e Shearer, 1996).

Eletroforese em gel de amido de isoenzimas é outra técnica que pode ser também de valor considerável na determinação da variação entre um grande número de locos de enzimas (Micales et al., 1986), sendo amplamente utilizada na detecção de polimorfismo genético em plantas, onde existe uma extensa literatura relacionando os diversos marcadores isoenzimáticos identificados e utilizados, eficientemente, em uma grande variedade de espécies (Ballve et al., 1995). Tem sido empregada em complementação aos marcadores moleculares, na identificação e estudos taxonômicos, genéticos e populacionais de uma série de organismos, incluindo os

fungos fitopatogênicos, principalmente, em espécies do gênero *Phytophthora* (Royse e May, 1982; Reynolds et al., 1983; McDonald e McDermott, 1993; Lynn e Vallavielle, 1984; Tooley et al., 1985; Micales et al., 1986, Shattock et al., 1986; Spielman et al., 1989; Mosa et al., 1993; Harrington et al., 1996), embora pouco explorada, até o momento, em estudos com o fungo *C. perniciosa* (Andebrhan e Furtek, 1994).

A literatura encontra-se repleta de orientações úteis para a implementação de pesquisas em isoenzimas, com informações sobre tipos de géis, tampões, métodos de extração, protocolos para os diversos sistemas, além dos equipamentos utilizados (Shaw e Prasad, 1970; May et al., 1979; Soltis et al., 1983; Marty et al., 1984; Werth, 1985; Soltis e Soltis, 1989; Yamada e Guries, 1989; Alfenas et al., 1991; Yamada, 1991). Kephart (1990) aglutinando os conhecimentos acumulados em mais de 25 laboratórios, apresenta orientações importantes para a extração de enzimas, armazenamento de amostras, uso de tampões e interpretações dos resultados. Entre os sistemas mais freqüentemente encontrados na literatura e amplamente utilizados nos estudos de variabilidade e taxonômicos de fungos fitopatogênicos, citam-se: ACO, ACP, ALD, AAT, DIA, G6P, HK, IDH, MDH, PGI, PGM, 6PG e TPI (Leuchtmann, et al. 1992; Brunner e Petrini, 1992).

O presente trabalho teve como objetivo ajustar a metodologia de eletroforese em gel de amido para isoenzimas de *C. perniciosa* para ser utilizada em estudos populacionais, permitindo assim estabelecer diferenciação intraespecífica em indivíduos originários tanto do cacaueiro quanto de outros hospedeiros, buscando oferecer subsídios aos programas de melhoramento genético visando resistência à vassoura de bruxa.

## Materiais e Métodos

### Isolados e extração de enzimas

Os seis isolados de *C. perniciosa* utilizados neste estudo fazem parte da micoteca do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), e foram originários de uma única seção de hifa provenientes de isolamentos de vassouras secas. Um isolado, Cp35, era procedente de jurubeba (*Solanum paniculatum* L.), e os demais de cacau. Destes, três eram provenientes da região Amazônica: Cp21 de Manaus, Cp22 de Altamira e Cp26 de Ouro Preto; e os outros dois, Cp2 e Cp5, da região cacaueira da Bahia. Os isolados foram mantidos em tubos de ensaio contendo meio de batata dextrose agar (BDA), sendo efetuadas transferências periódicas, sempre que necessário. Todas as etapas do trabalho foram conduzidas em laboratórios do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC)/CEPLAC.



Discos de micélio obtidos das margens de colônias com 8 dias de idade, crescidas em meio de BDA, foram transferidos para placas de petri contendo meio líquido de batata e dextrose (200g de batata e 20 gramas de dextrose por litro de água destilada), diluído 1:1 em água destilada esterilizada, após a autoclavagem. Depois de 6-8 dias de crescimento, o micélio foi coletado, lavado em água destilada através de filtragem a vácuo em papel de filtro Whatman nº 1, e em seguida, macerado em um gral de porcelana, com o auxílio de nitrogênio líquido, adicionando-se, posteriormente, dois mililitros de tampão de extração. Os homogenatos foram mantidos em tubos eppendorf, e armazenados em nitrogênio líquido ou em um freezer a -20°C, até que fossem utilizados.

Avaliaram-se como extratores além da água (Nygaard et al., 1989), o tampão Tris-HCl 0,2 M, pH 7,0, diluído em 25 mL de água desionizada e acrescido de 77 mg de ditiotreitol, como também, o próprio tampão Tris-HCl a 0,05 M, pH 7,1 sem o acréscimo do ditiotreitol (Royse e May, 1982; Bonde et al., 1984).

#### Preparo do gel

Em todos os testes realizados, utilizou-se no preparo do gel, a concentração de 12% de amido solúvel. Para tal, quarenta e cinco gramas de amido eram depositadas em um frasco kitazato de 1000 mL de capacidade, e dissolvidas em 18 e 36 mL dos tampões de gel respectivos para os sistemas AC e RW, de acordo com o protocolo, completando-se o volume para 100 mL com água destilada. Enquanto isso, 275 mL de água destilada eram aquecidos em um balão volumétrico de 500 mL de capacidade, até sua completa ebulição, e vertidos no frasco kitazato contendo a suspensão de amido, procedendo-se então a uma vigorosa agitação a fim de proporcionar uma melhor uniformidade do gel. O gel era reaquecido, por aproximadamente 1,5 minutos em microondas, submetendo-o a um tratamento a vácuo para remover bolhas de ar, e então cuidadosamente vertido nas molduras. Após a solidificação, o gel era coberto com um plástico transparente para evitar dissecação, e em seguida transferido para um refrigerador com temperatura regulada para 4°C.

#### Tampões do gel e do eletrodo

Três sistemas de tampão foram avaliados. No primeiro, o sistema contínuo AC: 0,04 M de ácido cítrico anidro em água destilada, com o pH ajustado para 7,1 com N-(3-

aminopropil)-morfolina, e sua diluição em água destilada de 1:20 utilizada como tampão do gel (Micales et al., 1986; Yamada e Guries, 1989). No segundo, o sistema descontínuo RW de Ridgway et al. (1970): 0,06 M de hidróxido de lítio e 0,3 M de ácido bórico, e como tampão do gel: 0,03 M de Tris-HCl, 0,005 M de ácido cítrico anidro e 1 % do tampão do eletrodo, completando a seguir o volume para 3,75 litros, e ajustando o pH para 8,5. O terceiro conhecido como Soltis #4 (TC) (Soltis et al. 1983), que utiliza como tampão do eletrodo, 0,223 M de Tris e 0,086 M de ácido cítrico anidro, com o pH ajustado para 7,5 com NaOH, e como tampão do gel a diluição de 35 mL do tampão de eletrodo para 1 L de água (0,008 M de Tris e 0,003 M de ácido cítrico), ajustando-se a seguir o pH para 7,5.

#### Eletroforese

Após a permanência do gel no refrigerador por um período de uma hora, foram inseridas tiras de papel cromatográfico, embebidas em cada uma das amostras, em um corte efetuado no gel. O gel foi então retornado ao refrigerador e submetido a uma corrida sob corrente constante, a 50 mA (150 volts) para o sistema AC, e 75 mA (200 volts) para o RW, durante aproximadamente 20 minutos. Após tal período, as tiras de papel foram removidas do gel e a eletroforese reiniciada por um período adicional de quatro horas.

#### Sistemas de enzimas

A escolha dos 14 sistemas de enzimas avaliados no presente trabalho (Quadro 1) baseou-se na extensa

Quadro 1. Lista dos sistemas de enzimas testados com *Crinipellis pernicioso* com respectivas abreviações, códigos e os três tampões utilizados.

Enzima	Abrev	Códigos E.C.	Tipo de tampão <sup>a</sup>		
			AC	RW	SOLTIS
1 Álcool desidrogenase	ADH	1.1.1.1	x		
2 Aldolase	ALD	4.1.2.13	x		x
3 Aspartato aminotransferase	AAT	2.6.1.1		x	x
4 Diaforase	DIA	1.6.2.2	x	x	x
5 Enzima málica	ME	1.1.1.40	x	x	x
6 Esterase fluorescente	FLE	3.1.1.1	x		x
7 Fosfatase ácida	ACP	3.1.3.2		x	x
8 Fosfogluco isomerase	PGI	5.3.1.9		x	
9 Fosfoglucomutase	PGM	2.7.5.1		x	
10 6-fosfogluconato desidrogenase	6 PG	1.1.1.44	x		x
11 Glucose 6 fosfato desidrogenase	G6P	1.1.1.49		x	x
12 Isocitrato desidrogenase	IDH	1.1.1.42	x	x	
13 Malato desidrogenase	MDH	1.1.1.37	x		
14 Peptidase	PEP	3.4.11.1	x		x

<sup>a</sup> Tampões utilizados nos respectivos sistemas de enzimas. **AC**: 0,04 M ácido cítrico, pH ajustado para 7,1 com N-(3-aminopropil)-morfolina; e diluição de 1:20 como tampão do gel (Micales et al., 1986; Yamada e Guries, 1989). **RW**: 0,06 M de Hidróxido de lítio e 0,3 M de ácido bórico; e como tampão do gel: 0,03 M de Tris-HCl, 0,005 M de ácido cítrico anidro e 1% do tampão do eletrodo completando volume par 3,75 L, pH 8,5 (Ridgway et al., 1970). **Soltis**: 0,223 M de Tris e 0,086 M de ácido cítrico anidro, pH 7,5 e como tampão do gel 0,008 M de Tris e 0,003 M de ácido cítrico, pH 7,5 (Soltis et al., 1983).

literatura disponível sobre marcadores isoenzimáticos utilizados eficientemente num grande número de espécies de fungos. Alguns sistemas de enzimas não foram avaliados por serem caros ou então pela não disponibilidade de muitas das substâncias químicas, como foram os casos dos sistemas ACO e TPI. Foram testadas diferentes combinações entre sistemas de enzimas e de tampões, sendo alguns sistemas avaliados com mais de um tampão, principalmente, nos casos em que os resultados não foram completamente satisfatórios.

### Fatiamento do gel e revelação de enzimas

Após a eletroforese, o gel foi cortado horizontalmente em 4 a 5 fatias de aproximadamente um milímetro e meio de espessura. Os sistemas de enzimas relacionados no Quadro 1, foram avaliados segundo os procedimentos descritos por Yamada e Guries (1989). Para facilitar e agilizar a operacionalização do processo foram preparadas soluções-estoque dos reagentes nas seguintes concentrações:

NAD <sup>+</sup>	10 mg /mL
NADP <sup>+</sup>	10 mg /mL
MTT	10 mg /mL
PMS	1 mg /mL
MgCl <sub>2</sub>	10 mg /mL

No caso específico dos sistemas ACP e PEP, foram efetuadas pequenas modificações conforme os procedimentos descritos a seguir:

#### Fosfatase Ácida (ACP)

Fast Garnet GBC (sal)	80,0 mg
Alfa-naftil fosfato ácido de sódio	100,0 mg
MgCl <sub>2</sub>	0,5 mL
Água destilada	75,0 mL
Tampão acetato de sódio 0,2 M, pH 5,0	25,0 mL

#### Peptidase (PEP)

Alfa-valil-L-leucina	50,0 mg
Peroxidase	10,0 mg
Veneno de cobra ( <i>Crotalus atrox</i> )	10,0 mg
MgCl <sub>2</sub>	1,0 mL
3-amino-9-etil-carbazole	50,0 mg
Tampão Tris-HCl 0,2 M, pH 8,0	50,0 mL

O 3-amino-9-etil-carbazole é acrescentado por último após ser dissolvido em um mililitro de dimetil formamida.

Os protocolos para os demais sistemas de enzimas não sofreram quaisquer alterações conforme os procedimentos descritos a seguir.

#### Álcool Desidrogenase (ADH)

Etanol 95%	6-10,0 mL
NAD <sup>+</sup>	1,5 mL
MTT	2,0 mL
PMS	2,0 mL
Tampão Tris-HCl 0,2 M, pH 8,0	75,0 mL

#### Aldolase (ALD)

Frutose-1,6-difosfato	350,0 mg
Arsenato de sódio	25,0 mg
Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (G3PDH)	80,0 UI
NAD <sup>+</sup>	1,0 mL
MTT	2,0 mL
PMS	2,0 mL
Tampão Tris-HCl 0,2 M, pH 8,0	10,0 mL

#### Aspartato aminotransferase (AAT) ou (GOT)

Ácido L-aspartico	250,0 mg
Ácido α-cetoglutarico	150,0 mg
Fast blue BB salt	150,0 mg
Piridoxal-5-fosfato	1,0 mg
Tampão do eletrodo RW	100,0 mL

#### Diaforase (DIA)

2,6-diclorofenol-indolifenol	1,0 mg
NADH	20,0 mg
MTT	1,0 mL
Tampão Tris-HCl 0,2 M, pH 8,0	50,0 mL

#### Enzima Mállica (ME)

Substrato de DL-ácido málico	25,0 mL
NADP <sup>+</sup>	1,0 mL
MgCl <sub>2</sub>	1,0 mL
MTT	1,0 mL
PMS	1,0 mL
Tampão AC (eletroforese), pH 6,1	25,0 mL
Solução do substrato de ácido málico 0,5M, pH 7,0	
DL-ácido málico	67,0 g
Água destilada	500,0 mL
Ajustar o pH para 7,0 com NaOH 1.0 N	
Água destilada para um volume final de 1 litro	

#### Esterase fluorescente (FLE)

4-metilumbeliferil acetato	1,0 mg
Acetona	3,0 mL
Tampão de acetato 0,2 M, pH 5,0	10,0 mL

Observação: dissolver primeiro em acetona, ler sob luz ultravioleta depois de 2 a 3 minutos. Se necessário, as fatias do gel podem ser utilizadas para outros sistemas, depois da leitura.

#### Fosfoglucoisomerase (PGI)

Frutose-6-fosfato	25,0 mg
G6PDH	40,0 UI
NADP <sup>+</sup>	1,0 mL
MgCl <sub>2</sub>	1,0 mL
MTT	1,0 mL
PMS	1,0 mL
Tampão Tris-HCl 0,2 M, pH 8,0	50,0 mL

#### Fosfoglucomutase (PGM)

Glucose-1-fosfato	300,0 mg
Glucose-1,6-difosfato	0,5 mg
G6PDH	50,0 UI
NAD <sup>+</sup>	1,0 mL
MgCl <sub>2</sub>	1,0 mL
MTT	1,5 mL
PMS	1,5 mL
Tampão Tris-HCl 0,2 M, pH 8,0	50,0 mL

**6-Fosfogluconato desidrogenase (6 PG)**

6-ácido fosfogluconico (sal trisódico)	50,0 mg
NADP <sup>+</sup>	1,0 mL
MgCl <sub>2</sub>	1,0 mL
MTT	1,5 mL
PMS	1,5 mL
Tampão Tris-HCl 0,2 M pH 8,0	50,0 mL

**Glucose-6-fosfato desidrogenase (G6P)**

Glucose-6-fosfato	100,0 mg
NADP <sup>+</sup>	1,0 mL
MgCl <sub>2</sub>	1,0 mL
MTT	1,0 mL
PMS	1,0 mL
Tampão Tris-HCl 0,2 M pH 8,0	50,0 mL

**Isocitrato desidrogenase (IDH)**

DL-Ácido isocítrico	200,0 mg
NADP <sup>+</sup>	1,0 mL
MgCl <sub>2</sub>	1,0 mL
MTT	1,0 mL
PMS	1,0 mL
Tampão Tris-HCl 0,2 M pH 8,0	50,0 mL

**Malato desidrogenase (MDH)**

DL-substrato de ácido málico	25,0 mL
NAD <sup>+</sup>	1,0 mL
MTT	1,0 mL
PMS	1,0 mL
Tampão Tris-HCl 0,2 M, pH 8,0	25,0 mL

Ver detalhes sobre o preparo do substrato de ácido málico em Enzima Málica.

Após a revelação das isoenzimas, o gel foi lavado com água destilada e fixado com uma solução de metanol, ácido acético e água, na proporção de 5:5:1, para ser fotografado posteriormente.

**Resultados e Discussão**

De maneira geral, o desenvolvimento de novos protocolos para o uso de isoenzimas requer muito tempo. Diversos fatores influenciam no processo, tais como: a espécie e o tipo de tecido utilizado; os tampões de extração; a composição e o pH dos tampões do gel e do eletrodo; as condições de eletroforese; e as soluções corantes, principalmente, quando se está trabalhando em protocolos para espécies ainda pouco estudadas (Ballve et al., 1995).

Nas avaliações das soluções extratores para as enzimas de *C. pernicioso*, o tampão Tris-HCl a 0,2 M

com o pH ajustado para 7,0 com ditioneitol, foi o que apresentou o melhor resultado, seguido pelo próprio tampão Tris-HCl a 0,05 M, pH 7,1, sem a adição do ditioneitol. Por outro lado, o uso da água destilada na extração, embora tenha sido utilizada com sucesso em *P. megasperma* por Nygaard et al. (1989), não apresentou aqui o mesmo comportamento. Aparentemente, a extração de enzimas em *C. pernicioso* não é um processo tão complicado como para plantas ou até para outros fungos, onde muitas vezes há a necessidade da adição de substâncias anti-oxidantes como 2-mercaptoetanol, PVP e EDTA (Gottlieb et al., 1998; Soltis et al., 1983).

Dos dois processos de conservação de amostras avaliados neste trabalho, o que apresentou melhor resultado foi o do armazenamento em nitrogênio líquido, permitindo a conservação do material a longo prazo, de forma eficiente, sem que se observasse qualquer degradação de enzimas, sendo por isso mesmo o método utilizado rotineiramente. O armazenamento em freezer a -20 °C, a despeito de já ter sido utilizado de forma bem sucedida por Gottlieb et al. (1998) em espécies de *Ganoderma*, não proporcionou o mesmo sucesso com *C. pernicioso*, embora o armazenamento em temperaturas mais baixas como -80 °C pudesse ter sido mais eficiente, já que vem sendo utilizado com sucesso em outros fungos, como em espécies do gênero *Xylaria*, (Brunner e Petrini, 1992).

Com relação aos três sistemas de tampão testados, observou-se melhor comportamento dos sistemas de enzimas MDH, FLE, ALD, PEP, ADH, 6PG, IDH, ME e DIA com o tampão AC; e dos sistemas PGI, PGM, AAT, G6P e ACP, com o tampão RW. O tampão descrito por Soltis et al. (1983) não apresentou o resultado esperado.

Considerável polimorfismo foi observado entre os seis isolados de *C. pernicioso* testados. A detecção de tal polimorfismo com os sistemas avaliados é consistente com os resultados obtidos em outros fungos dos gêneros *Phytophthora* (Oudemans e Coffey, 1991), *Phylosticta* (Leuchtmann et al., 1992), *Xylaria* (Brunner e Petrini, 1992), *Ganoderma* (Gottlieb et al., 1998), *Trichoderma* e *Gliocladium* (Stasz et al., 1988). Entre os sistemas avaliados, IDH e DIA não apresentaram bandas visíveis. Tais sistemas, embora tivessem apresentado níveis consideráveis de polimorfismo com boa resolução em *Phytophthora* spp. (Nygaard, et al., 1989, Oudemans e Coffey, 1991), *Phylosticta* (Leuchtmann et al. 1992) e *Xylaria* (Brunner e Petrini, 1992), mereceriam entretanto ser melhor avaliados com *C. pernicioso*, em função dos resultados apresentados.

Os resultados obtidos com os sistemas AAT, ADH e G6P, diferentemente do observado em outros fungos, nem sempre foram consistentes com *C. pernicioso*, não sendo



visualizadas bandas com bom nível de resolução. O sistema G6P, por exemplo, foi utilizado com bons resultados em *Phytophthora* spp. (Oudemans e Coffey, 1991; Nygaard et al., 1989) *Trichoderma* e *Gliocladium* (Stasz et al., 1988), enquanto o sistema AAT funcionou bem para *Trichoderma* e *Gliocladium* (Stasz et al., 1988), *Xylaria* (Brunner e Petrini, 1992) e *Ganoderma* (Gottlieb et al., 1998).

Desta forma, os sistemas MDH, FLE, PGI, PGM, ALD, PEP, 6PG e ACP, que são também sistemas utilizados com sucesso em outras espécies de fungos (Oudemans e Coffey, 1991; Nygaard et al., 1989; Stasz et al., 1988), foram os que apresentaram os melhores resultados com *C. pernicioso*. Na Figura 1 estão ilustrados os resultados obtidos com quatro desses sistemas: PGM, MDH, PEP e PGI. O FLE apesar de ter mostrado bom nível de polimorfismo, apresentou o inconveniente de ser de difícil visualização, revelando-se num curto espaço de tempo (15 a 20 minutos). O sistema ACP, embora tenha mostrado boa resolução e com altos níveis de polimorfismo em outras espécies de fungos como *Xylaria* (Brunner e Petrini, 1992), *Ganoderma* (Gottlieb et al., 1998) e *Phytophthora* (Nygaard et al., 1989), comportou-se como monomórfico em *C. pernicioso*.

Novos sistemas de revelação foram tentados com peptidase utilizando-se 50 mg de alfa-valil-L-leucina em lugar de [L-leucil-L-tirosina (30 mg), L-fenil-alanil-L-prolina (40 mg) e L-leucil-L-alanina (50 mg)], tal como descrito em Yamada e Guries (1989). Este mesmo substrato já havia sido utilizado e descrito como PEP 3, por Giebler (1997). Outras alternativas de substratos peptídicos são a glicil-leucina, leucil-glicil-glicina (Stasz

et al., 1988) e leucil-leucil-leucina, descritos também em Alfenas et al. (1991).

Considerando-se o nível de polimorfismo encontrado com os sistemas de enzimas avaliados, a eletroforese em gel de amido de isoenzimas é uma técnica bastante útil, podendo ser utilizada com sucesso, principalmente em estudos de variabilidade intraespecífica em *C. pernicioso*, tal como tem acontecido em outros fungos (Bonde et al., 1984; Leuchtmann et al., 1992).

## Agradecimentos

À Stela Dalva V. M. Silva pelo apoio na instalação do laboratório, a Valdívnia Reis da Silva pela ajuda nos trabalhos de laboratório, ao FUNDECAU pelo financiamento de alguns equipamentos, e ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos no início das pesquisas.

## Literatura Citada

- ALFENAS, A. C., PETERS, I., BRUNE, W. e PASSADOR, G. C. 1991. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Viçosa, UFV, 242p.
- ANDEBRHAN, T. 1985. Variabilidade de isolados de *Crinipellis pernicioso*. In Belém, CEPLAC/SUPOR. Informe de Pesquisas, 1985. pp. 30-32.
- ANDEBRHAN, T. 1988. Cultural characteristics and biochemical reactions of isolates of *Crinipellis pernicioso*, causative agent of witches' broom disease of cocoa. In Conferencia Internacional de Investigacion en Cacao, 10, Santo Domingo, Republica Dominicana, 1987. Actas. Lagos, Nigeria, Cocoa Producer's Alliance. pp. 363-366.
- ANDEBRHAN, T. and FURTEK, D. 1994. Random Amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis of *Crinipellis pernicioso* isolates from different hosts. Plant Pathology 43: 1020-1027.
- ANDEBRHAN, T. et al. 1999. Molecular fingerprinting suggests two primary outbreaks of witches' broom disease (*Crinipellis pernicioso*) of *Theobroma cacao* in Bahia, Brazil. European Journal of Plant Pathology 105: 167-175.
- BALLVE, R. M. L. et al. 1995. Methodology for starch gel electrophoresis and protocols for isozymes of 32 plant genera. Brazilian Journal of Genetics 18 (3): 491- 502.
- BASTOS, C. N. 1986. Comparação morfológica de isolados de *C. pernicioso* (Stahel) Singer. In Belém, CEPLAC/DEPEA. Informe Técnico 1986. pp. 45-49.

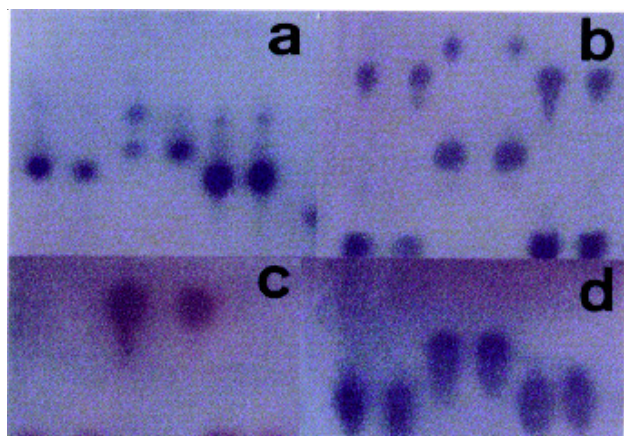


Figura 1. Eletromorfos de quatro sistemas de enzimas obtidos com seis isolados de *Crinipellis pernicioso* (Cp2, Cp5, Cp21, Cp22, Cp26 e Cp35): a) Fosfoglucomutase (PGM), b) Malato desidrogenase (MDH), c) Peptidase (PEP), e d) Fosfoglucoase isomerase (PGI).

- BASTOS, C. N. and ANDEBRHAN, T. 1986. Urucu *Bixa orellana* a new host of Witches' broom disease *Crinilellis pernicioso* of cocoa. *Fitopatologia Brasileira* 11:963-965.
- BASTOS, C. N. and EVANS, H. C. 1985. New pathotype of *Crinipellis pernicioso* (witches' broom disease) on solanaceous hosts. *Planta Pathology* 34: 306-312.
- BASTOS, C. N., ANDEBRHAN, T. e ALMEIDA, L. C. 1988. Comparação morfológica de isolados de *Crinipellis pernicioso*. *Fitopatologia Brasileira* 13:202-206.
- BONDE, M. R. et al. 1984. Isozyme analysis to differentiate species of *Peronosclerospora* causing downy mildews of maize. *Phytopathology* 74: 1278-1283.
- BRUNNER, F. and PETRINI, O. 1992. Taxonomy of some *Xylaria* species and xylariaceous endophytes by isozyme electrophoresis. *Mycological Research* 96 (9): 723-733.
- EVANS, H. C. 1978. Witches' broom disease of cocoa (*Crinipellis pernicioso*) in Ecuador. 1. The fungus. *Annual Applied Biology* 89:185-192.
- EVANS, H. C. 1981. Witches' broom disease - a case study. *Cocoa Growers' Bulletin* 32: 5-19.
- EVANS, H. C. and BASTOS, C. N. 1981. Preliminary results of research on witches' broom disease of cacao (*Crinipellis pernicioso*) in the Amazonian Region of Brazil. In *Conference Internationale sur la Recherche Cacaoyère*, 7, Douala, Cameroun, 1979. Actes. London, J. de Lafforest and Transla-Inter. pp. 255-256.
- GEBHARDT, C. and SALAMINI, F. 1992. Restriction fragment length polymorphisms analysis of plant genomes and its application to plant breeding. *International Review of Cytology - A Survey of Cell Biology* 135: 201-237.
- GIEBLER, S. 1997. Gene flow in the *Daphnia longispina* hybrid complex (*Crustacea, cladocera*) inhabiting large lakes. *Heredity* 79: 231-241.
- GOTTLIEB, A. M., SAIDMAN, B. O. and WRIGHT, J. E. 1998. Isoenzymes of *Ganoderma* species from southern South America. *Mycological Research* 102 (4): 415-426.
- HARRINGTON, T. C. et al. 1996. Isozyme variation and species delimitation in the *Ceratocystis coerulea* complex. *Mycologia* 88: 104-113.
- HEDGER, J. N., PICKERING, V. and ARAGUNDI, J. 1987. Variability of populations of the witches' broom disease of cocoa (*Crinipellis pernicioso*). *Transactions of the British Mycological Society* 88: 533-546.
- JARRET, R. L. et al. 1993. Detecting genetic diversity in diploid bananas using PCR and primers from a highly repetitive DNA sequences. *Euphytica* 68: 69-76.
- KEPHART, S. R. 1990. Starch gel electrophoresis of plant isozymes: a comparative analysis of techniques. *American Journal of Botany* 77(5) : 693-712.
- KHASHNOBISH, A and SHEARER, C. A. 1996. Phylogenetic relationships in some *Leptosphaeria* and *Phaeosphaeria* species. *Mycological Research* 100: 1355-1363.
- LEUCHTMANN, A. et al. 1992. Isozyme polymorphism in six endophytic *Phyllosticta* species. *Mycological Research* 96: 287-294.
- LYNN, J. E. and VALLAVIELLE, C. 1984. Variation in protein profiles of *Phytophthora*: comparison of six species. *Transactions of the British Mycological Society* 83: 463-472.
- MARTY, T. L., O'MALLEY, D. M. and GURIES, R. P. 1984. A manual for starch gel electrophoresis : New microwave edition. University of Wisconsin, Department of Forest. Staff paper series 20. 24p.
- MAY, B., ROBERTS, D. W. and SOPER, R. S. 1979. Intraspecific genetic variability in laboratory strains of *Entomophthora* as determined by enzyme electrophoresis. *Experimental Mycology* 3:289-297.
- MCDONALD, B. A. and McDERMOTT, J. M. 1993. Population genetics of plant pathogenic fungi. *Bioscience* 43: 311-319.
- McGEARY, F. M. and WHEELER, E. J. 1988. Growth rates of, and micelial interactions between isolates of *Crinipellis pernicioso* from cocoa. *Plant Pathology* 37: 489-498.
- MICALES, J. A., BONDE, M. R. and PETERSON, G. L. 1986. The use of isozyme analysis in fungal taxonomy and genetics. *Mycotaxon* 27:405-49.
- MOSA, A. A., KOBAYASHI, K. and OGOSHI, A. 1993. Isoenzyme polymorphism and segregation in isolates of *Phytophthora infestans* from Japan. *Plant Pathology* 42: 26-34.
- NYGAARD, S. L. et al. 1989. Isozyme variability among isolates of *Phytophthora megasperma*. *Phytopathology* 79: 773-779.
- OUDEMANS, P. and COFFEY, M. D. 1991. Isozyme comparison within and among worldwide sources of three morphologically distinct species of *Phytophthora*. *Mycological Research* 95: 19-30.
- REYNOLDS, M., WEINHOLD, A. R. and MORRIS, T. J. 1983. Comparison of anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* by polyacrilamide gel electrophoresis of soluble proteins. *Phytopathology* 73: 903-906.
- RIDGWAY, G. J, SHERBURNE, S. W. and LEWIS, R. W. 1970. Polymorphisms in the esterases of Atlantic

- herring. Transactions of the American Fisheries Society 99: 147-151.
- ROCHA, H.M. 1983. The ecology of *Crinipellis pernicios* (Stahel) Singer in witches' brooms on cocoa (*Theobroma cacao* L.). Ph. D. thesis. England. London, University. Faculty of Science. 145p.
- ROYSE, D. J. and MAY, B. 1982. Genetic relatedness and its application in selective breeding of *Agaricus brunnescens*. Mycologia 74: 569-575.
- SHATTOCK, R. C., TOOLEY, P. W. and FRY, W. E. 1986. Genetics of *Phytophthora infestans*: determination of recombination, segregation and selfing by isozymes analysis. Phytopathology 76: 410-413.
- SHAW, C. R. and PRASAD, R. 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes - a compilation of recipes. Biochemical Genetics 4: 297-320.
- SOLTIS, D. E. 1983. Starch gel electrophoresis of ferns: A compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. American Fern Journal 73: 9-27.
- SOLTIS, D. E. and SOLTIS, P. M. 1989. Isozymes in Plant Biology. Oregon, Discorides Press. pp.268.
- SPIELMAN, L. J., McMASTER, B. J. and FRY, W. E. 1989. Dominance and recessiveness at loci for virulence against potato and tomato in *Phytophthora infestans*. Theoretical Applied Genetics 77:832-838.
- STASZ, T. E., WEEDEN, N. F. and HARMAN, G. E. 1988. Methods of isozyme electrophoresis for *Trichoderma* and *Gliocladium* species. Mycologia 80 (6): 870-874.
- TOOLEY, P. W., FRY, W.E. and VILLAREAL GONZALEZ, M. J. 1985. Isozyme characterization of sexual and asexual *Phytophthora infestans* populations. Journal of Heredity 76: 431-435.
- WERTH, C. R. 1985. Implementing an isozyme laboratory at a field station. Virginia Journal of Science 36 (1): 53-76.
- WHEELER, B.E.J. and MEPSTED, R. 1988. Pathogenic races of *Crinipellis pernicios*? In Conferencia Internacional de Investigacion en Cacao, 8, Cartagena, Colombia, 1981. Actas. Lagos, Nigeria, Cocoa Producer's Alliance. pp.365-370.
- WHEELER, B.E. J. and MEPSTED, R. 1988. Pathogenic variability among isolates of *Crinipellis pernicios* from cocoa (*Theobroma cacao*). Plant Pathology 37: 475-488.
- YAMADA, M. M. 1991. Genetic studies in cacao (*Theobroma cacao* L.). Ph.D. Thesis. Madison, University of Wisconsin, 179p.
- YAMADA, M. M. and GURIES, R. P. 1989. A manual for starch gel electrophoresis: New Chocolate Lovers Edition. Madison, University of Wisconsin/ Department of Forestry. Staff Paper no. 39. 22p.
- YAMADA, M. M., ANDEBRHAN, T. and FURTEK, D. B. 1998. Genetic variability among isolates of *Crinipellis pernicios* from solanaceous hosts and their relationship to isolates from *Theobroma cacao*. Agrotrópica 10 (2): 123-126.





## ESTIMATIVAS DE PARÂMETROS GENÉTICOS NA VARIEDADE DE MILHO BR 5028 – SÃO FRANCISCO NO NORDESTE BRASILEIRO

*Hélio Wilson Lemos de Carvalho<sup>1</sup>, Maria de Lourdes da Silva Leal<sup>1</sup>, Manoel Xavier dos Santos<sup>2</sup> e  
Paulo César Lemos de Carvalho<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Embrapa/Centro de Pesquisa Agropecuária dos Tabuleiros Costeiros (CPATC), Av. Beira-Mar, 3250, Caixa Postal 44, 49001-970, Aracaju, Sergipe, Brasil, helio@cpac.embrapa.br. <sup>2</sup>Embrapa/Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (CNPMS), Caixa Postal 151, 35701-970, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil. <sup>3</sup>Escola de Agronomia da Universidade Federal da Bahia (EAFUBA), 44380-000, Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

A variedade de milho BR 5028 – São Francisco submetida a diversos ciclos de seleção entre e dentro de progênies de meios-irmãos no Nordeste brasileiro, tem demonstrado possuir grande potencial em responder à seleção com vistas ao aumento da produtividade de grãos, com a continuidade do programa de melhoramento. Por essa razão, novos ciclos de seleção entre e dentro de progênies de meios-irmãos foram praticados na variedade BR 5028, no período de 1996 a 1998, nos municípios de Neópolis, Umbaúba e N. Sra. das Dores, localizados no Estado em Sergipe e Cruz das Almas, no Estado da Bahia, visando à obtenção de material mais produtivo que o atual, e mais adaptável às condições edafoclimáticas da região. As 196 progênies de cada ciclo foram avaliadas em látice simples 14 x 14, com duas repetições, efetuando-se as recombinações dentro do mesmo ano agrícola, de modo a se obter uma geração por ano. As magnitudes dos parâmetros genéticos mostraram que a variedade BR 5028 – São Francisco possui alta variabilidade genética, a qual fornece perspectiva de aumentos subsequentes de produção por seleção, o que, juntamente com o bom rendimento apresentado, e a sua precocidade, faz dessa cultivar alternativa importante para a região. A magnitude da interação progênies x locais evidenciou a importância de se avaliar as progênies em mais de um local, para melhorar a eficiência do processo seletivo e obter estimativas mais consistentes dos componentes de variância.

**Palavras-chave:** melhoramento intrapopulacional, progênies meios-irmãos, variação genética, interação genótipos x ambientes.

**Estimates of genetics parameters of the BR 5028 – São Francisco corn variety for Brazilian Northeast.** The BR 5028 – São Francisco corn variety submitted to a series of selection cycles between and inter progenies of half sibs on Brazilian Northeast showing a high responsive potential of selection, which has been set to increase cob yield under development of new cycles of selection. Selection cycles numbers X, XI and XII, between and inter progenies of half sibs, were carried out in 1996-98 at Neópolis, Umbaúba and Nossa Senhora das Dores counties in Sergipe State and Cruz das Almas county in Bahia, in order to obtain a germoplasm more productive and better adapted to the ecological conditions of the region. The 196 progênies from each cycle were evaluated in a simple 14 x 14 lattice design been the recombination of the selected progenies performed within the same year crop in view to obtain one cycle/year. The magnitudes of the genetic parameters have show that the cultivar BR 5028-São Francisco has a high genetic variability, that gives perspective of subsequent gains in the production by selection, that associated it a good yild and to its precocity, makes this cultivar to be an important alternative for the agriculture in the region. The magnitude progeny x location interaction showed the importance for progeny evaluation in more than one location, to increase the efficiency of the process to obtain more accurate estimates of variances.

**Key words:** intra population breeding, progenies of half-sibs, genetic variation

## Introdução

O desenvolvimento e a difusão de variedades de milho de porte baixo de planta e de espiga, de ciclo precoce, bem adaptadas e de maior estabilidade de produção no Nordeste brasileiro, poderá propiciar mudanças substanciais na agricultura regional. De fato, em regiões onde é maciço o uso de variedades de milho, a recomendação de variedades melhoradas em substituição às locais é de fundamental importância para elevar a produtividade desse cereal.

Por essa razão, têm sido realizados no Nordeste brasileiro diversos trabalhos de competição de cultivares de milho, visando a seleção daquelas mais promissoras para a região. Nesse contexto, surgiu a variedade BR 5028 – São Francisco, de ciclo precoce e de porte baixo de planta e de espiga, tolerante ao acamamento e quebramento do colmo, produtiva e com bom empalhamento das espigas (Carvalho et al., 1992), sendo, por isso, escolhida para ser submetida a um programa de melhoramento intrapopulacional, visando a obtenção de um material melhor adaptado às condições da Região Nordeste. Dessa forma, essa variedade passou por sete ciclos de seleção entre e dentro de progênies de meios-irmãos no período de 1985 a 1995 (Carvalho et al., 1994 e Carvalho et al., 1998a). Em todos esses ciclos de seleção, as altas magnitudes das estimativas dos parâmetros genéticos, associadas às altas médias de produtividade das progênies, mostraram o grande potencial da variedade em responder à seleção, permitindo a obtenção de um material melhor adaptado às condições edafoclimáticas da região, em comparação com as variedades atualmente em uso.

O método de seleção entre e dentro de progênies de meios-irmãos apresenta, como grande vantagem, a possibilidade de obtenção da variância genética aditiva, a qual fornece aos melhoristas subsídios importantes que permitem verificar quais as chances de êxito na seleção, e quais as alterações que podem ocorrer na variabilidade genética, no decorrer dos sucessivos ciclos de seleção. Trabalhos realizados no exterior (Webel and Lonquist, 1967; Sentz, 1971; Compton and Bahadur, 1977), e no Brasil (Sawazaki, 1979; Santos e Napolini Filho, 1986; Carvalho et al., 1994 e 1998a), obtiveram ganhos contínuos de seleção para aumento da produção de grãos, com o uso desse método, após sucessivos ciclos de seleção.

Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo estimar parâmetros genéticos em três ciclos de seleção entre e dentro de progênies de meios-irmãos da variedade de milho BR 5028 – São Francisco, a fim de verificar o comportamento da variabilidade genética para a característica peso da espiga e o potencial genético dessa variedade no Nordeste.

## Material e Métodos

A variedade de milho de polinização aberta BR 5028 – São Francisco apresenta porte baixo de planta e de espiga, ciclo precoce, tolerância ao acamamento e quebramento do colmo, bom empalhamento e grãos dentados com coloração amarelo-intensa. 196 progênies de meios-irmãos dessa variedade foram obtidas no início do ano agrícola de 1996. Essas progênies deram seqüência ao programa de melhoramento em execução com essa variedade, desenvolvendo-se os ciclos X de seleção, em Nossa Senhora das Dores, Neópolis e Cruz das Almas (1996), o XI em Nossa Senhora das Dores e Umbaúba (1997) e o XII em Neópolis, Nossa Senhora das Dores e Umbaúba (1998). À exceção do município de Cruz das Almas, localizados nos tabuleiros costeiros da Bahia, os demais estão situados nos tabuleiros costeiros do Estado de Sergipe.

Nesses três ciclos de seleção, as 196 progênies de meios-irmãos foram avaliadas em látice simples 14 x 14. Cada parcela constou de uma fileira de 5,0m de comprimento, com espaços de 0,87m entre fileiras, e 0,20m entre covas dentro das fileiras. Foram colocadas 40 sementes por fileira, deixando-se 25 plantas/fileira, após o desbaste. As testemunhas utilizadas BR 106 (variedade) e BR 3123 (híbrido triplo) foram colocadas dentro dos blocos, totalizando sete parcelas com a variedade e sete parcelas com o híbrido, dentro de cada repetição. Após a realização dos ensaios, foi praticada uma intensidade de seleção de 10% entre as progênies. As progênies selecionadas foram recombinadas em lotes isolados por despendoamento, onde foram selecionadas 196 novas progênies, correspondendo a uma intensidade de seleção de 20% dentro das progênies, no mesmo ano agrícola, de modo a obter um ciclo/ano. Todos os ensaios e campos de recombinação receberam uma adubação de acordo com os resultados das análises de solo de cada área experimental.

Em todos os ensaios foram tomados os pesos de espigas, os quais foram ajustados para 15% de umidade. Não foi efetuada a correção para estande em virtude de as parcelas mostrarem número final de plantas bem próximo do ideal. A análise de variância por local foi efetuada de acordo com Cochran e Cox (1957). Em seguida, procedeu-se a análise de variância conjunta, a partir das médias ajustadas de progênies. Os quadrados médios das análises de variância por local e conjunta foram ajustados para indivíduos, obtendo-se todas as variâncias expressas em  $(g/planta)^2$ , conforme Vencovsky (1978). Embora as análises tenham sido feitas em látice, as estimativas dos componentes de variância foram baseadas nas esperanças dos quadrados médios para blocos casualizados, usando-se os quadrados médios de

tratamento ajustados e o erro efetivo do látice, conforme método descrito por Vianna e Silva (1978). Estima-se o coeficiente de herdabilidade no sentido restrito no nível de média de progênie ( $h^2_m$ ) pela relação

$$\frac{\sigma_p^2}{\sigma_F^2} \text{ em que } \sigma_p^2 \text{ é a variância genética entre progênes}$$

de meios-irmãos e  $\sigma_F^2$  é a variância fenotípica entre médias de progênes. O coeficiente de herdabilidade em nível de planta ( $h^2$ ) foi estimado pela relação

$$\frac{\sigma_A^2}{\sigma_F^2}, \text{ em que } \sigma_A^2 \text{ é a variância aditiva e } \sigma_F^2$$

é a variância fenotípica, conforme apresentado por Santos e Naspolini Filho (1986). O índice de variação (b) é dado pelo quociente  $CV_g/Cv_e$ , em que  $C.V_g$  é o coeficiente de variação genético e  $Cv_e$  é o coeficiente de variação ambiental.

Foram estimados os ganhos de seleção, de acordo com Vancovsky (1978), apresentado por Santos e Naspolini Filho (1986):

$$Gs = K' \frac{\left(\frac{1}{4}\right) \sigma_A^2}{\sigma_F^2} + K'' \frac{\left(\frac{3}{8}\right) \sigma_A^2}{\sigma_d^2}, \text{ sendo:}$$

Gs: progresso genético esperado com a seleção entre e dentro de progênes de meios-irmãos;

K1: diferencial de seleção standardizado, correspondente a uma intensidade de seleção de 10% ( $K1=1,755$ );

K'': diferencial de seleção standardizado, correspondente a uma intensidade de seleção de 20% ( $K''=1,3998$ );

$\sigma_F$ : desvio-padrão fenotípico entre médias de progênes de meios-irmãos;

$\sigma_d$ : desvio-padrão fenotípico dentro de diferentes progênes de meios-irmãos.

## Resultados e Discussão

Nos três ciclos de seleção foram detectadas diferenças significativas ( $P<0,01$ ) entre as progênes, evidenciando a presença de variabilidade genética entre elas (Tabela 1). A interação progênes x locais, (Tabela 1), foi também significativa ( $P<0,01$ ) nesses três ciclos de seleção,

mostrando comportamento diferenciado das progênes nos locais. A importância da interação progênes x locais vem sendo detectada por diversos autores, em várias populações: Pacheco (1987), com o ciclo I da população CMS 39, em dois locais; Carvalho et al., (1994, 1995 e 1998 b), com os ciclos I das variedades BR 5033, BR 5028 e BR 5011, em dois locais; Carvalho et al., (1998 a), com os ciclos VIII e IX da variedade BR 5028 – São Francisco, em dois locais. Os coeficientes de variação experimental oscilaram de 9,3% a 10,2%, revelando a boa precisão dos ensaios (Scapim et al., 1995). Uma maior precisão dos ensaios de avaliação de progênes é desejável, uma vez que, à medida em que ela aumenta, melhor será a resposta e o progresso obtido por seleção.

As produtividades médias de espigas obtidas nas progênes avaliadas foram de 6.833kg/ha, 5.817kg/ha e 6.619kg/ha, nos ciclos X, XI e XII, respectivamente, Tabela 2, revelando a alta capacidade produtiva da variedade BR 5028 – São Francisco. Essas produtividades médias corresponderam a +1%, +6% e +11%, em relação às produtividades obtidas com a variedade testemunha BR 106, nos ciclos X, XI e XII, respectivamente. Em relação à testemunha BR 3123 (híbrido triplo), essas produtividades foram de -15%, -13% e -8%, respectivamente, nos ciclos X, XI e XII. As progênes selecionadas superaram a variedade BR 106 em 20%, 29% e 29%, respectivamente, nos ciclos X, XI e XII. Essas progênes superaram também o híbrido triplo BR 3123 em 1%, 5% e 7%, respectivamente, nos ciclos X, XI e XII. Algumas progênes chegaram a produzir 14% e 12% mais que o híbrido triplo BR 3123, nos ciclos XI e XII, respectivamente, revelando uma melhoria considerável na variedade em estudo.

Tabela 1. Quadrados médios das análises de variância conjunta (g/planta), médias de produção (g/planta), coeficientes de variação (%). Ciclo X, Neópolis, N. Sra. das Dores e Cruz das Almas, 1996. Ciclo XI, N. Sra. das Dores e Umbaúba, 1997. Ciclo XII, Neópolis, N. Sra. das Dores e Umbaúba, 1998.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Ciclo X 1996	Ciclo XI 1997	Ciclo XII 1998
		Neópolis N. Sra. das Dores Cruz das Almas	N. Sra. das Dores Umbaúba	N. Sra. das Dores Neópolis Umbaúba
Local	1 (2) <sup>a</sup>	47.467,82**	42.677,73**	202.085,48**
Tratamentos	195	597,47**	359,86**	1.029,6**
Interação (TxL)	195	436,63**	257,23**	559,7**
Erro efetivo médio	390 (585) <sup>a</sup>	165,27	103,37	151,2
Médias		125,34	108,13	132,7
C.V. (%)		10,2	9,4	9,3

\*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

<sup>a</sup> Refere-se aos graus de liberdade dos ciclos X e XII, realizados em três locais.



As estimativas dos parâmetros genéticos estão na Tabela 3, ressaltando-se que as avaliações das progênes foram realizadas em três locais (ciclos X e XII) e dois locais (ciclo XI), tornando as estimativas obtidas menos influenciadas pelo componente da interação progênes x locais, à semelhança do ocorrido em outros trabalhos de melhoramento (Hallauer and Miranda Filho, 1988; Carvalho et al., 1994, 1995 e 1998 b e Carvalho et al., 1998 a).

As estimativas da variância aditiva nos ciclos X e XI, Tabela 3, foram de 321,7 (g/planta)<sup>2</sup> e 313,3 (g/planta)<sup>2</sup>, sendo de magnitudes semelhantes àquelas relatadas por Ramalho (1977), Carvalho et al., (1998b) e Pacheco (1987). A estimativa obtida no ciclo XI [102,6 (g/planta)<sup>2</sup>], foi de magnitude semelhante àquela obtida por Carvalho et al. (2000) e de magnitude superior àquela relatada por Carvalho et al. (2000b), obtidas também na média de dois locais. Verificou-se, também, que a variação detectada na variância genética entre progênes acompanhou a mostrada na variância genética aditiva, registrando-se valores compatíveis com as obtidas por Carvalho et al. (2000a), nos ciclos VIII e X de seleção, realizados em dois locais.

As magnitudes da variância aditiva obtidas evidenciam o potencial dessa variedade na continuidade do programa de melhoramento e, segundo Paterniani (1968), é do máximo interesse que essa variância permaneça tão alta quanto possível, para permitir progressos substanciais

por seleção. O autor comenta, ainda, que o método de seleção entre e dentro de progênes de meios-irmãos reduz muito essa variância no primeiro ciclo de seleção, mas, apesar dessa redução, no decorrer dos ciclos de seleção, têm-se observado ganhos altamente satisfatórios, a exemplo dos obtidos por Sawazaki (1979), Carvalho et al. (1998a, 2000a e 2000b).

As magnitudes da variância da interação progênes x locais (Tabela 3) mostraram comportamento diferenciado das progênes entre os locais. Hallauer and Miranda Filho (1988) comentam que este componente da variância pode atingir mais de 50% do valor da estimativa da variância genética entre progênes e que as estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos obtidas em apenas um local são superestimadas, em razão da existência do componente de variação resultante da interação progênes x local, que não pode ser isolado. Diversos autores têm focado a importância de se avaliar as progênes em mais de um local, em razão de melhorar a eficiência do processo seletivo e permitir à obtenção de estimativas mais consistentes dos componentes da variância, a exemplo dos resultados relatados por Pacheco (1987), Bigoto (1988), Carvalho et al. (1994, 1995, 1998a, 2000a e 2000b).

Ainda na Tabela 3 observa-se que os valores dos coeficientes de herdabilidade no sentido restrito com médias de progênes ( $h^2_m$ ) oscilaram entre 28,5% (ciclo XI) a 80,8% (ciclo X), superando os valores expressos para

a herdabilidade a nível de plantas individuais ( $h^2$ ), os quais variaram de 11,4% (ciclo XI) a 22,0% (ciclo XIII), evidenciando que a seleção entre progênes de meios-irmãos deve ser mais eficiente que a seleção individual para o presente caso e concorda com os resultados relatados por Sawazaki (1979), Bigoto (1988), Carvalho et al. (1994, 1995, 1998a, 2000a e 2000b). Os valores encontrados para os coeficientes de variação genética refletiram uma menor variabilidade entre as progênes do ciclo XI. Os índices b apresentaram as mesmas tendências observadas para os coeficientes de variação genética e suas magnitudes expressaram também a variabilidade genética exibida pela variedade em estudo, cujos valores superaram aqueles relatados por Carvalho et al. (1994, 1995 e 1998b).

Tabela 2. Comparação das produtividades médias das progênes avaliadas e selecionadas nos ciclos X, XI e XII de seleção com as testemunhas BR 106 (variedade) e BR 3123 (híbrido triplo).

Ciclo	Materiais	Produtividades Médias Kg/ha	Porcentagem em relação às testemunhas	
			BR 106	BR 3123
X	BR 106	6739	100	-
	BR 3123	8013	-	100
	Média das progênes selecionadas	8093	120	101
	Média das progênes avaliadas	6833	101	85
	Progênie menos produtiva	5223	77	65
	Progênie mais produtiva	8412	125	105
XI	BR 106	5490	100	-
	BR 3123	6710	-	100
	Média das progênes selecionadas	7067	129	105
	Média das progênes avaliadas	5817	106	87
	Progênie menos produtiva	4019	73	60
	Progênie mais produtiva	7652	139	114
XII	BR 106	5960	100	-
	BR 3123	7180	-	100
	Média das progênes selecionadas	7678	129	107
	Média das progênes avaliadas	6619	111	92
	Progênie menos produtiva	5111	86	71
	Progênie mais produtiva	8067	135	112

Tabela 3. Estimativas obtidas referentes à variância genética entre progênieis ( $\sigma^2_p$ ), variância genética aditiva ( $\sigma^2_A$ ), variância da interação ( $\sigma^2_{pxl}$ ), coeficientes de herdabilidade no sentido restrito de médias de progênieis ( $h^2_m$ ) e quanto à seleção massal ( $h^2$ ), coeficiente de variação genética (CVg), índice de variação (b) e ganhos genéticos\* entre e dentro de progênieis de meios-irmãos (Gs), considerando o caráter peso de espigas nos ciclos X, XI e XII.

Ciclos	$\sigma^2_p$	$\sigma^2_A$	$\sigma^2_{pxl}$	$h^2_m$	$h^2$	CVg	b	Gs	entre	Gs	dentro
	g/planta				%			g/planta	%	g/planta	%
X	80,4	321,7	135,7	80,8	21,5	7,2	0,7	14,1	11,2	6,2	4,9
XI	25,7	102,6	76,9	28,5	11,4	4,7	0,5	4,8	4,4	2,5	2,3
XII	78,3	313,2	204,2	45,6	22,0	6,7	0,7	10,4	7,8	5,1	3,8

\* Para cálculo dos ganhos considerou-se  $\sigma^2_d = 10 \sigma^2_e$ , conforme Gardner (1961).

Os ganhos estimados com a seleção entre e dentro de progênieis de meios-irmãos foram de 11,2% e 4,9%, totalizando 16,1%, 4,4% e 2,3%, totalizando 6,7%, 7,8% e 3,8%, totalizando 11,6%, nos ciclos X, XI e XII, respectivamente, e são da mesma magnitude daqueles valores relatados por Carvalho et al. (1994 e 1995), na média de dois locais, com os ciclos I das variedades BR 5028 e BR 5033 e superior àqueles relatados por Bigoto (1988) e Carvalho et al. (1998b). Tais valores expressam, juntamente com as altas magnitudes dos demais parâmetros genéticos e as altas médias de produtividade das progênieis, a variabilidade presente na variedade BR 5028-São Francisco. Segundo Santos e Napolini Filho (1986), inúmeros trabalhos têm apresentado progressos esperados com a seleção entre e dentro de progênieis de meios-irmãos e uso de sementes remanescentes, sendo, porém um ciclo completado em dois anos (Webel and Lonquist, 1967; Paterniani, 1968; Segovia, 1976). Os resultados encontrados neste trabalho foram concordantes aos encontrados pelos autores citados, destacando-se, ainda, a superioridade quando são feitas comparações de um ano para dois anos. Vale ressaltar também que os ganhos encontrados com a seleção entre progênieis foram maiores que aqueles encontrados com a seleção massal, evidenciando uma maior eficiência com a seleção entre progênieis, o que é concordante com os relatos de Santos e Napolini Filho (1986), Carvalho et al. (1994, 1995, 1998a, 2000a e 2000b). Considerando a variabilidade detectada a partir das estimativas dos parâmetros genéticos e o fato de essa variedade apresentar alto potencial para a produtividade, acredita-se que substanciais progressos poderão advir com a continuidade do programa de melhoramento.

### Conclusões

1 – As magnitudes das estimativas dos parâmetros genéticos ao final do ciclo XII de seleção, associadas às

altas médias de produtividades de espigas das progênieis são indicadoras do grande potencial genético da variedade BR 5028 – São Francisco.

2 – A estimativa da variância da interação progênieis x local evidencia a importância de se realizar a seleção em mais de um local, para melhorar a adaptação da variedade e a eficiência do processo seletivo.

3 – A variedade BR 5028 – São Francisco pode ser

amplamente recomendada para as condições do Nordeste brasileiro.

4 – Após a realização do ciclo XII de seleção a variedade BR 5028-São Francisco ainda apresenta uma quantidade apreciável de variabilidade genética.

### Literatura Citada

- BIGOTO, C. A. 1988. Estudo da população ESALQ PB1 de milho (*Zea mays* L.) em cinco ciclos de seleção recorrente. Tese de Mestrado. Piracicaba, ESALQ/USP. 12p.
- CARVALHO, H. W. L. de, MAGNAVACA, R. e LEAL, M. de L. da S. 1992. Estabilidade de cultivares de milho no Estado de Sergipe. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 27(7):1037-1082.
- CARVALHO, H.W. L. de, et al. 1994. Três ciclos de seleção entre e dentro de famílias de meios-irmãos na população de milho BR 5028, no Nordeste brasileiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 29 (11):1727-1733.
- CARVALHO, H. W. L. de, et al. 1995. Potencial genético da população de milho (*Zea mays* L. "CMS 33") para fins de melhoramento no Nordeste brasileiro. Ciência e Prática (Brasil) 19 (1) :37-42.
- CARVALHO, H.W. L. de, et al. 1998a. Melhoramento genético da variedade de milho BR 5028-São Francisco no Nordeste brasileiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira 33 (4): 441-448.
- CARVALHO, H.W. L. de, et al. 1998b. Três ciclos de seleção entre e dentro de famílias de meios-irmãos na população de milho BR 5011 no Nordeste brasileiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira 33 (5): 713-720.
- CARVALHO, H.W.L. de, et al. 1998b. Estabilidade de cultivares de milho no Nordeste brasileiro no ano de 1996. Revista científica Rural (Brasil) 3(2): 20-26.

- CARVALHO, H.W.L. de, et al. 2000a. Potencial genético da cultivar de milho BR 5011-Sertanejo nos Tabuleiros Costeiros do Nordeste brasileiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35(6): 1169-1176.
- CARVALHO, H.W.L. de, et al. 2000b. Melhoramento genético da cultivar de milho BR 5033-Asa Branca nos Tabuleiros Costeiros do Nordeste brasileiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35 (7):1417-1425.
- COCHRAN, W. G. and COX, C. M. 1957. *Experiment designs*. 2.ed. New York, J. Wile. 611p.
- COMPTON, W. A. and BAHADUR, K. 1977. Ten cycles of progress from modified ear-to-row selection in corn. *Crop Science* 17: 378-380.
- GARDNER, C.O. 1961. An evolution of effects of mass selection and seed irradiation with thermal neutrons yield of corn. *Crop Science* 1:241-245.
- HALLAUER, A.R. and MIRANDA FILHO, J.B. 1988. *Quantitative genetics in maize breeding*. 2<sup>a</sup>. ed. Ames, Iowa State University Press. 468p.
- PACHECO, C.A.P. 1987. Avaliação de progênies de meios-irmãos na população de milho CMS 39 em diferentes condições de ambiente – 2º ciclo de seleção. Tese de Mestrado. Lavras, ESAL. 109p.
- PATERNIANI, E. 1968. Avaliação de métodos de seleção entre e dentro de famílias de meios-irmãos no melhoramento de milho (*Zea mays L.*) Tese de Mestrado. Piracicaba, ESALQ. 92p.
- RAMALHO, M. A. P. 1977. Eficiência relativa de alguns processos de seleção intrapopulacional no milho baseado em famílias não-endógamas. Tese de Doutorado. Piracicaba, ESALQ. 122p.
- SANTOS, M.X. dos e NASPOLINI FILHO, V. 1986. Estimativas de parâmetros genéticos em três ciclos de seleção entre e dentro de famílias de meios-irmãos no milho (*Zea mays L.*) Dentado Composto Nordeste. *Revista Brasileira de Genética* 9: 307-319.
- SAWAZAKI, E. 1979. Treze ciclos de seleção entre e dentro de famílias de meios-irmãos para a produção de grãos de milho IAC-Maya. Tese de Mestrado. Piracicaba: ESALQ/USP. 99p.
- SCAPIM, C.A., CARVALHO, C.G.P. de e CRUZ, C. D. 1995. Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 30 (5): 683-686.
- SENTZ, J.C. 1971. Genetic variances in a synthetic variety of maize estimated by two mating. *Crop Science* 11:234-238.
- SEGOVIA, R.T. 1976. Seis ciclos de seleção entre e dentro de famílias de meios-irmãos no milho (*Zea mays L.*) Centralmex. Tese de Doutorado. Piracicaba, USP-ESALQ. 88p.
- VENCOVSKY, R. 1978. Herança quantitativa. In Paterniani, E. *Melhoramento e produção do milho no Brasil*. Campinas: Fundação Cargill, p.122-201.
- VIANNA, R.T., e SILVA, J.C. 1978. Comparação de três métodos estatísticos de análise de variância em experimentos em “látice” em milho (*Zea mays L.*). *Experientiae (Brasil)* 24: 21-41.
- WEBEL, O.D. and LONQUIST, J. M. 1967. An evaluation of modified ear-to-row selection in a population of corn (*Zea mays L.*). *Crop Science* 7: 651-655.
-



## ADAPTABILIDADE E ESTABILIDADE DE CULTIVARES DE MILHO NO NORDESTE BRASILEIRO NO ANO AGRÍCOLA DE 1998/99

*Hélio Wilson Lemos de Carvalho<sup>1</sup>, Maria de Lourdes da Silva Leal<sup>1</sup>, Milton José Cardoso<sup>2</sup>, Manoel Xavier dos Santos<sup>3</sup>, José Nildo Tabosa<sup>4</sup>, Benedito Carlos Lemos de Carvalho<sup>5</sup>, Marcondes Maurício Albuquerque<sup>6</sup>, Denis Medeiros dos Santos<sup>6</sup>*

<sup>1</sup>Embrapa Tabuleiros Costeiros, Av. Beira Mar 3250, Caixa Postal 44, 49001-970, Aracaju, Sergipe, Brasil. <sup>2</sup>Embrapa Meio Norte, Av. Duque de Caixas, 5650, Caixa Postal 01, 64066-220, Teresina, Piauí. <sup>3</sup>Embrapa Milho e Sorgo, Rodovia Mg 424, Km 65, Caixa Postal 151, 35701-970, Sete lagoas, Minas Gerais, Brasil. <sup>4</sup>IPA, Av. Gen. San Martim 1371, Caixa Postal 1022, 50761-000, Recife, Pernambuco, Brasil. <sup>5</sup>EBDA/Embrapa, Av. Dorival Caymmi, 15649, Salvador, Bahia, Brasil. <sup>6</sup>Embrapa Tabuleiros Costeiros, Caixa Postal 44, 49001-970, Aracaju, Sergipe, Brasil.

Vinte cultivares de milho foram avaliadas em dezessete ambientes do Nordeste brasileiro, no ano agrícola de 1998/99, em blocos ao acaso, com três repetições, visando conhecer a adaptabilidade e a estabilidade desses materiais para fins de recomendação. A análise de variância conjunta para o peso de grãos mostrou diferenças significativas entre as cultivares e comportamento inconsistente dessas cultivares em face das variações ambientais. A metodologia utilizada (Lin & Binns, 1988) mostrou-se eficiente na identificação das melhores cultivares para os diferentes tipos de ambientes, além de ser de fácil interpretação. As variedades melhoradas, BR 5039-São Vicente, BR 5004, BR 5037-Cruzeta, Sintético Dentado, AL 30-Tietê, AL 25-Vencedor, BR 5011-Sertanejo e Sintético mostraram melhor adaptabilidade e estabilidade de produção, justificando suas recomendações para exploração na região.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L., interação genótipos x ambientes, variedades

**Adaptability and stability of maize in the brazilian Northeast region in the season 1998/99.** In the season 1998/1999 twenty maize cultivars were evaluated in seventeen environments of the Brazilian Northeast region. The experimental design was randomized blocks, three repetitions, in order to know the adaptability and the stability of those materials for recommendation. The combined analysis of variance for the weight of grains showed significant differences among cultivars and an inconsistent behavior of those cultivars was observed due to the environmental variations. The methodology (Lin & Binns, 1988) was efficient in identifying the best cultivars for different environments besides being of easy interpretation. The improved varieties, BR 5039-São Vicente, BR 5004, BR 5037-Cruzeta, Synthetic Dent, AL 30-Tietê, AL 25-Vencedor, BR 5011-Sertanejo and Synthetic showed better adaptability and production stability, justifying the recommendation for exploration in the Northeast region.

**Key words:** *Zea mays* L., genotype x environment, varieties

## Introdução

No Nordeste brasileiro, o crescimento da avicultura, em maior escala, e da suinocultura, é significativo em razão da existência de grandes centros consumidores (capitais dos Estados). O milho sendo largamente utilizado nessas atividades, acrescido do consumo na pecuária, na indústria e na culinária regional, tem a produção atual insuficiente para atender à demanda regional, sendo necessário recorrer à importação para suprir a necessidade de mercado. Diante desse quadro, infere-se que estimulando-se a produção de milho na região, a qual oferece condições edafoclimáticas propícias ao desenvolvimento dessa cultura, pode-se cobrir o “déficit” gerado pelo consumo regional.

A produtividade do milho no Nordeste brasileiro é baixa e atribui-se tal fato à ocorrência de fatores econômicos e culturais dos produtores e a não utilização de tecnologias modernas de produção. Tendo limitação de capital, a maior parte dos produtores de milho não pode adotar tecnologias que demandam aumentos nos custos de produção, sendo, então, necessário dotá-los de cultivares de milho adaptadas às condições edafoclimáticas da região, o que requer, dessa forma, o desenvolvimento de um programa de pesquisa voltado para a avaliação de cultivares de milho, objetivando colocar à disposição dos agricultores materiais com melhor adaptação e maior estabilidade de produção, dotadas de características agrônômicas modernas, tais como: precocidade, menor altura de planta e de espiga e bom empalhamento de espigas.

A presença de interação cultivares x ambientes assume papel fundamental no processo de recomendação de cultivares nessa vasta região, e é necessário minimizar o seu efeito, o que é possível através da seleção de cultivares com maior estabilidade fenotípica (Ramalho et al. 1993). A ocorrência dessa interação tem sido observada em diversos trabalhos de avaliação de cultivares de milho realizadas em diversas oportunidades, conforme ressaltam Carvalho et al. (1992), no Estado de Sergipe; Arias (1996), no Estado do Mato Grosso; Carneiro (1998), no Paraná; Cardoso et al. (1997), no Piauí; Monteiro et al. (1998), no Ceará; Carvalho et al. (1999a, 1999b, 1999c, 2000a e 2000b) em diversos ambientes de todo o Nordeste brasileiro. Em todos esses casos ficou demonstrada a necessidade de selecionar cultivares adaptadas e de maior estabilidade, para fins de recomendação.

A adaptabilidade e a estabilidade, embora sejam fenômenos relacionados, são características independentes, conforme resalta Torres (1988), ao detectar ausência de correlação entre essas características, o que mostra que elas devem ter controle genético independente. O referido autor esclarece que em um programa de melhoramento deve-se,

primeiro, selecionar com vistas à produtividade, e, dentro dos materiais selecionados, fazer a seleção quanto à estabilidade. Carvalho et al. (2000a) também observaram ausência de correlação entre as produtividades médias e os parâmetros de estabilidade ( $R^2$ ), reforçando o fato de que essas características devem ter controle genético independente. Mariotti et al (1976) sugerem que a adaptabilidade seria a capacidade dos genótipos responderem vantajosamente à melhoria do ambiente, enquanto que, a estabilidade refere-se à capacidade dos genótipos apresentarem comportamento altamente previsível em função das variações ambientais.

Diversos métodos têm sido utilizados para investigar a adaptabilidade e a estabilidade, encontrando-se uma ampla revisão sobre o assunto em Arias (1996) e Carneiro (1998). Nesses trabalhos ficou evidenciado que as metodologias mais utilizadas são aquelas que utilizam regressão linear. A metodologia de Lin e Binns (1988) estima a performance fenotípica por um único parâmetro ( $P_i$ ), a qual relaciona à distância avaliada a melhor cultivar (representada pela produtividade máxima obtida em cada local), de modo que, quanto menor o seu valor, maior será a adaptabilidade e a estabilidade de comportamento da cultivar em questão. Arias (1996) e Carneiro (1998) têm mostrado as vantagens dessa metodologia, ao compará-las com as metodologias que utilizam regressão linear, ressaltando que a metodologia de Lin e Binns (1998) possui estimativa e interpretação mais fáceis, além de mostrar eficiência na discriminação das cultivares para os ambientes favoráveis e desfavoráveis.

Sabe-se também que grande parte da população dessa região sofre de desnutrição, provocada, basicamente, por um contínuo déficit protéico. Com o desenvolvimento de cultivares de milho de alta qualidade protéica, pode-se aumentar o valor nutritivo do milho, associando alto valor energético a alto valor protéico. Portanto, o uso de cultivares de alta qualidade protéica trará benefícios substanciais para a região, não só ao combate à fome e à miséria, como também, na suplementação da merenda escolar e na formulação de rações mais baratas para animais monogástricos, com um alto valor protéico e de menor custo.

Considerando esses aspectos desenvolveu-se o trabalho com o objetivo de se identificar cultivares de milho de melhor adaptabilidade e estabilidade de produção e portadoras de características agrônômicas desejáveis para recomendação no Nordeste brasileiro.

## Materiais e Métodos

Vinte cultivares de milho (doze variedades, nove populações e um híbrido-testemunha) foram avaliados em

blocos ao acaso, com três repetições, em dezessete ambientes do Nordeste brasileiro, distribuídos nos Estados do Piauí, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia, no ano agrícola de 1998/99.

Cada parcela constou de quatro fileiras de 5,0 m de comprimento, e espaços de 0,9 m entre fileiras e 0,50 m entre covas. Foram colocadas três sementes por cova e foram deixadas duas plantas por cova após o desbaste. Foram colhidas as duas fileiras centrais de forma integral, correspondendo a uma área útil de 9,0 m<sup>2</sup>.

Foram medidos os seguintes caracteres: florescimento masculino (Piauí) e feminino (Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia), alturas de planta e de espiga, estande de colheita, número de espigas colhidas e peso de grãos. Os dados de florescimento foram tomados quando 50% das plantas das duas fileiras centrais emitiram os pendões (florescimento masculino) e os estilo-estígmata (florescimento feminino). A altura da planta foi medida do solo até a base do pendão e a altura da espiga do solo até a base de inserção da primeira espiga. Os pesos de grãos de cada tratamento foram ajustados para o nível de 15% de umidade. Os dados de florescimento masculino e feminino em razão de serem tomados em uma só repetição não foram submetidos à análise estatística. Os demais dados foram submetidos a uma análise de variância por local, obedecendo-se ao modelo em blocos ao acaso, e a uma análise de variância conjunta, obedecendo ao critério de homogeneidade dos quadrados médios residuais, considerando aleatório os efeitos de blocos e ambientes e fixo o efeito de cultivares, conforme modelo abaixo:

$$Y_{ijk} = u + C_i + A_j + CA_{ij} + B/A_{kj} + \varepsilon_{ijk}, \text{ em que:}$$

u: média geral; C<sub>i</sub>: efeito da cultivar i; A<sub>j</sub>: efeito do local j; CA<sub>ij</sub>: efeito da interação da cultivar i com o local j; B/A<sub>kj</sub>: efeito do bloco k dentro do local j; e<sub>ijk</sub>: erro aleatório.

Os parâmetros de adaptabilidade e estabilidade foram estimados utilizando-se a metodologia proposta por Lin e Binns (1988). Esses autores definiram a medida de superioridade (P<sub>i</sub>) da cultivar i, como a distância entre o quadrado médio da cultivar i e a cultivar com resposta máxima. Para os ambientes favoráveis, com índices maiores ou iguais a zero, o parâmetro (P<sub>if</sub>) foi, estimado conforme a seguir:

$$P_{if} = \frac{\sum_{j=1}^f (X_{ij} - M_j)^2}{2f}$$

P<sub>i</sub>: é a estimativa do parâmetro de estabilidade da cultivar i, X<sub>ij</sub>: é a produtividade da i-ésima cultivar no j-ésimo ambiente, M<sub>j</sub>: é a resposta máxima observada entre todas as cultivares no ambiente j, f: é o número de ambientes favoráveis.

Da mesma forma para os ambientes desfavoráveis, cujos índices são negativos,

$$P_{id} = \frac{\sum_{j=1}^d (X_{ij} - M_j)^2}{2d}$$

onde d é o número de ambientes desfavoráveis.

## Resultados e Discussão

Os índices pluviométricos (mm) ocorridos durante o período experimental, apresentaram uma variação de 330,0mm, em Barra do Choça, na Bahia, a 919,8mm, em Teresina, no Piauí (Tabela 1). As coordenadas geográficas de cada município e os tipos de solos das áreas experimentais encontram-se na Tabela 2. Os municípios estão compreendidos entre os paralelos 02°53' e 14° 50', englobando diferentes condições ambientais (Silva et al., 1993) onde foram realizados os experimentos. Na Tabela 3, nota-se que as cultivares necessitaram, em média, 48 dias para atingirem a fase de florescimento masculino, no Estado do Piauí e, 60 dias, 62 dias e 59 dias para atingirem a fase de florescimento feminino nos Estados de Pernambuco, Sergipe e Bahia, respectivamente, destacando-se como mais precoces as populações CMS 47 e CMS 35, seguidas da população CMS 52, da variedade BR 5037-Cruzeta e das populações CMS 59, CMS 453 e da variedade BR 5033-Asa Branca, confirmando resultados obtidos por Carvalho et al. (1998b e 1999d), o que as torna de grande importância para a região, em razão de reduzirem os riscos de cultivo nos anos em que os períodos chuvosos são curtos e favorecem o acesso do produto mais cedo ao mercado.

As cultivares mostraram comportamento diferencial, a 1% de probabilidade, pelo teste F, na análise de variância conjunta, para a altura de planta, altura de espiga, estande de colheita e número de espigas colhidas (Tabela 4). A variação observada para a altura de plantas foi de 160 cm a 215 cm, destacando-se com menor altura as populações CMS 47 e CMS 35. Cultivares de porte mais baixo de plantas, além de apresentarem maior resistência ao acamamento e quebraamento do colmo, favorecem o plantio de um maior número de plantas por área, o que redundará em maiores rendimentos. Para a altura de espigas obteve-se uma oscilação de 70 cm a 107 cm e média de 94 cm, sobressaindo-se com menores alturas de primeira espiga as populações CMS 47 e CMS 35, apesar de serem semelhantes, estatisticamente, a algumas outras.

As cultivares mostraram reduções de plantas na colheita, obtendo-se, na média geral, 33 plantas por



Tabela 1. Índices pluviométricos ocorridos durante o período experimental. Região Nordeste do Brasil, ano agrícola de 1998/1999.

Locais	1998		1999								Total
	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	
Teresina	-	-	200,8*	169,3	373,1	176,6	-	-	-	-	919,8
Parnaíba	-	-	32,3*	229,4	200,9	197	-	-	-	-	659,6
Floriano	-	-	127,5*	232,5	147	14,5	-	-	-	-	521,5
Guadalupe	-	-	156,0*	108,6	226,6	66,8	-	-	-	-	558
Rio Grande do Piauí	-	-	X	X	X	X	-	-	-	-	-
Araripina	-	-	126,0*	113,2	212,2	81,8	-	-	-	-	533,2
Vitória de Sto. Antônio	-	-	-	-	-	-	143,3	63,6	164,1	63,7	434,7
União dos Palmares	-	-	-	-	-	-	X*	X	X	X	-
Neópolis	-	-	-	-	-	-	337	113	278	150	878
N. Sra. das Dores	-	-	-	-	-	-	379	249,5	101	119	848,5
Barra do Choça	-	76,0*	88	85	81	-	-	-	-	-	330
Lapão	174,2*	98	114	104	-	-	-	-	-	-	490,2
Ibititá	172,7	82,4	41,9	42,4	-	-	-	-	-	-	339,4
Barreiras (Faz. Boiadeiro)	X*	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-
Barreiras (Faz. Odisséia)	X*	X	X	X	-	-	-	-	-	-	-
Barreiras (Riacho Grande)	-	92,0*	40,5	182,5	104	-	-	-	-	-	419

\*Mês de plantio, x não foi registrado.

Tabela 2. Coordenadas geográficas dos locais e tipos de solos das áreas experimentais. Região Nordeste do Brasil, 1998/1999.

Estado	Município	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)	Tipo de Solo*
Piauí	Teresina	05°05'	42°49'	72	A
	Parnaíba	02°53'	41°41'	15	AQ
	Floriano	06°46'	43°01'	85	A
	Guadalupe	06°56'	43°50'	180	LVA
	Rio Grande do Piauí	07°56'	43°13'	270	PA
Rio Grande do Norte	Ipanguassu	05°37'	36°50'	70	A
	Cruzeta	-	-	-	-
Pernambuco	Araripina	07°33'	40°34'	620	PVA
	Vitória de Sto. Antônio	08°12'	35°21'	156	LVA
Alagoas	União dos Palmares	09°06'	36°04'	350	LVA
Sergipe	Neópolis	10°16'	36°51'	7	A
	N. Sra. das Dores	10°30'	37°13'	200	LVA
Bahia	Barra do Choça	14°50'	40°35'	860	PVA
	Lapão	11°22'	41°41'	785	A
	Ibititá	11°32'	41°58'	700	A
	Barreiras (Faz. Boiadeiro)	12°21'	45°63'	813	AQ
	Barreiras (Faz. Odisséia)	12°02'	46°03'	800	AQ
	Barreiras (Riacho Grande)	12°10'	45°15'	442	A

\* A: Aluvial; AQ: Areia Quartzosa; LVA: Latossolo Vermelho-Amarelo; PA: Podzólico Amarelo; PVA: Podzólico Vermelho-Amarelo

Tabela 3. Média de floração (dias) masculinas (Piauí) e feminina (demais Estados). Região Nordeste do Brasil, 1998/1999.

Cultivares	Piauí	Pernambuco	Sergipe	Bahia	Média
CMS 47	39	51	55	50	49
CMS 35	41	51	56	51	50
CMS 52-QPM	47	56	57	56	54
BR 5037 – Cruzeta	45	58	59	58	55
CMS 59	48	59	61	58	56
CMS 453-QPM	47	58	60	58	56
BR 5033-Asa Branca	48	59	61	58	56
CMS 22	49	60	61	59	57
CMS 50	50	60	60	59	57
BR 5028-São Francisco	49	61	62	61	58
BR 5039-São Vicente	49	63	66	60	59
Sintético Duro	50	60	66	62	59
AL 25	51	64	62	60	59
BR 5011-Sertanejo	49	63	64	63	60
AL 30	49	62	66	62	60
BRS 3101	50	63	66	62	60
Sintético Dentado	51	60	66	63	60
BR 106	51	65	67	63	61
BR 5004	50	64	66	63	61
Crioulo Caiano	50	65	66	62	61
Média	48	60	62	59	-

Tabela 4. Comportamento das cultivares quanto às alturas (cm) de planta e de espiga, estande de colheita, número de espigas colhidas, coeficientes de variação e valores de F obtidos nas análises de variância conjuntas para essas variáveis. Região Nordeste do Brasil, 1998/1999.

Cultivares	Altura de planta	Altura de espiga	Estande de colheita	Número de espigas
BR 5011-Sertanejo	215	104	31	32
Crioulo Caiano	214	105	31	32
BR 5004	213	104	35	34
AL 25 213	107	34	34	34
BR 5039-São Vicente	211	101	35	37
CMS 50	207	96	31	32
AL 30 207	102	32	33	33
CMS 22	205	101	30	30
BR 106205	101	33	38	38
BR 5037-Cruzeta	202	96	37	36
BR 5028-São Francisco	197	95	30	31
BRS 3101	195	94	35	39
Sintético Duro	194	93	35	35
Sintético Dentado	189	87	34	35
BR 5033-Asa Branca	189	92	32	32
CMS 453-QPM	187	87	33	35
CMS 52-QPM	180	86	31	33
CMS 59	175	83	30	34
CMS 35	169	73	35	36
CMS 47	160	70	35	35
Média	196	94	33	34
C.V. (%)	7,2	11,2	10,5	11,8
F (cultivares)	64,2**	48,7**	17,0**	17,4**
F (local)	140,5**	95,4**	34,4**	35,2**
F(cultivares x local)	1,3ns	1,1ns	2,0*	2,1*
D.M.S. (5%)	12	8	3	4

\* e \*\* Significativas a 5% e 1% de probabilidade, pelo teste F, respectivamente.

parcela, correspondendo a 36.666 plantas/ha, o que corresponde a uma redução de 7.768 plantas/ha, em relação ao estande proposto (44.444 plantas/ha). Ressalta-se que não foi feita a correção para o estande proposto em razão de a variação atribuída à cultivares para essa variável mostrar-se significativa (Vencovsky e Barriga, 1992).

A variação atribuída à cultivares, para o peso de grãos, mostrou-se significativa em todos os ambientes, o que indica diferenças entre as cultivares para essa variável (Tabela 5). Nota-se, nessa Tabela 5, que os municípios de Parnaíba e Teresina, no Estado do Piauí, Araripina e calcário, em Pernambuco, N. Sra. das Dores, em Sergipe e Barra do Choça e Barreiras, na Bahia, mostraram produtividades de grãos superiores a 4.000 kg/ha, caracterizando-se como mais propícios ao cultivo do milho. A variação observada entre os locais foi de 1.977 kg/ha (Ibititá) a 5.377 kg/ha (Teresina), o que mostra a existência de uma ampla faixa de variação entre os ambientes. Os coeficientes de variação oscilaram de 8,9% a 23,6%, o que confere boa precisão aos ensaios, conforme critérios adotados por Scapim et al. (1995).

Na análise de variância conjunta para o peso de grãos houve diferenças significativas entre as cultivares avaliadas e estas apresentaram interação significativa com os ambientes (Tabela 5). Interações significativas tem sido detectadas em diversas ocasiões, em trabalhos de competição de cultivares de milho realizados nos Estados do Paraná (Carneiro, 1998) e do Mato Grosso do Sul (Arias, 1966) e na Região Nordeste do Brasil (Carvalho et al., 1998 a, 1999 b e 1999 c). Em todos esses casos os autores procuraram amenizar os efeitos significativos da interação cultivares x ambientes, através da recomendação de materiais de melhor estabilidade fenotípica (Ramalho et al., 1993).

As estimativas da média da produtividade de grãos, do  $P_i$  geral, do  $P_i$  favorável e do  $P_i$  desfavorável constam na Tabela 6. Nota-se que as cultivares mostraram uma oscilação nos seus rendimentos de 3.134 kg/ha (CMS 47) a 4.941 kg/ha (BRS 3101), com média geral de 3.954 kg/ha, o que mostra boa adaptação das cultivares avaliadas, principalmente, aquelas que expressaram rendimentos médios superiores à média geral. Segundo à metodologia proposta, as cultivares que mostraram menores valores do  $P_i$ , expressaram mais adaptabilidade e estabilidade de comportamento, a exemplo das BRS 3101 (híbrido-testemunha), BR 5039-São Vicente, BR 5004, BR 5037-Cruzeta, Sintético Dentado, AL 30-Tietê, AL 25-Vencedor, BR 5011-Sertanejo e Sintético Duro.

A posição relativa das vinte cultivares com base nas estimativas dos  $P_i$ 's e de suas médias de produtividade está apresentada na Tabela 7, onde se percebe uma maior correspondência entre a classificação com base na média

e no  $P_i$  geral, comparativamente às outras posições. Situação semelhante foi detectada por Arias (1986) e Carneiro (1998). Nota-se que para os ambientes favoráveis destacaram-se as variedades BR 5004, BR 5039-São Vicente, AL 25-Vencedor, dentre outras. Para as condições desfavoráveis, sobressaíram o híbrido (testemunha) BRS 3101 e as variedades BR 5039-São Vicente, BR 5037-Cruzeta, dentre outras. A variedade BR 5039-São Vicente ocupou a segunda posição em todas as situações o que indica boa performance para qualquer tipo de ambiente, favorável ou desfavorável.

Considerando os resultados apresentados nota-se que o método utilizado é eficiente na discriminação das cultivares, mostrando grande facilidade quanto à recomendação das cultivares para os diferentes tipos de ambientes e identificação das melhores cultivares em cada situação. Carneiro (1998) ressaltou a eficiência desse método na discriminação das cultivares para a recomendação quanto aos diferentes tipos de ambientes, bem como maior rapidez na interpretação dos resultados, quando comparado aos outros métodos até então utilizados para a avaliação da performance genotípica.

## Conclusões

1. O método utilizado facilita na discriminação das cultivares quanto aos diferentes tipos de ambientes.
2. A variedade BR 5039-São Vicente mostra ótima performance em qualquer tipo de ambiente.
3. As variedades BR 5039-São Vicente, BR 5004, BR 5037-Cruzeta, Sintético Dentado, AL 30-Tietê, AL 25-Vencedor, BR 5011-Sertanejo e Sintético Duro podem melhorar os sistemas de produção dos pequenos e médios produtores rurais da região.

## Literatura Citada

- ARIAS, E.R.A. 1966. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho avaliadas no Estado do Mato Grosso do Sul e avanço genético obtido no período de 1986/87 a 1993/94. Tese de Doutorado. Lavras, ESAL. 118p.
- CARDOSO, M.J. et al. 1997. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Estado do Piauí no biênio 1993/94. Revista Científica Rural (Brasil) 2(1): 35-44.
- CARNEIRO, P.C.S. 1998. Novas metodologias de análises de adaptabilidade e estabilidade de comportamento. Tese de Doutorado. Viçosa, UFV. 168p.
- CARVALHO, H.W.L. de, et al. 1999a. Adaptabilidade e estabilidade de variedades e híbridos de milho no Nordeste brasileiro. Revista Científica Rural (Brasil) 4(1): 25-34.



Tabela 5. Produtividade média de grãos (kg/ha) das cultivares nos vários ambientes e resumo das análises de variância por local e conjunta. Região Nordeste do Brasil, 1998/1999.

Cultivares	Piauí					Pernambuco		Alagoas	Sergipe	Bahia		Análise conjunta				
	Parnaíba c/ irrig.	Rio Grande	Teresina c/irrig.	Teresina	Florianópolis	Guadalupe	Araripina c/calçário	Araripina s/calçário	Vitória Sto. Antônio	União dos Palmares	N. Sra. Neópolis das Dores		Barra do Choça	Ibititá Lapão Barreiras		
BRS 3101	5073	6003	5457	7317	5800	5107	3973	5434	2031	6342	5775	3043	2115	5120	5558	4941
BR 5039 – São Vicente	5263	4810	4783	5843	5497	6000	4160	4979	3810	4297	3575	5787	1752	2928	4893	4553
BR 5004	4847	5300	4220	5457	5400	4003	3443	5027	3696	4272	4125	6480	1652	2576	5423	4464
BR 5037-Cruzeta	4943	5453	3630	5557	5057	3833	3893	5001	3322	4583	3978	4207	1916	3378	3999	4255
AL 25	5170	4703	3660	6750	4703	3733	3850	5064	1435	4406	4974	6363	2305	1673	4500	4219
Sintético Dentado	4340	5170	4313	5717	5160	3500	303	4913	2237	4642	4840	5117	1817	2049	4887	4205
Al 30	4500	4817	4573	6033	5390	4120	4173	4811	2380	4176	3227	4903	1822	2936	4500	4128
Sintético Duro	4627	4817	4567	5210	5033	3660	2950	5097	3021	4532	4070	5892	2345	2501	4818	4109
BR 5011-Sertanejo	4113	5230	3643	5150	5440	4067	263	4151	2530	4227	2567	5427	1620	3397	4588	3999
BR 106	5033	4100	3917	5643	5283	5483	4087	4554	2519	4378	2823	2680	1986	2240	2611	3951
BR 5033-Asa Branca	3903	4983	3720	5027	5090	4067	3547	4554	2699	3707	2768	3420	1818	3893	4420	3915
BR 5028-São Francisco	4557	5067	3430	5257	5450	3567	3833	5064	3788	2860	1888	4010	1569	2291	4341	3850
Crioulo Caiano	3823	3950	3413	5463	5393	3833	2670	4814	3051	3717	3410	4462	1381	3258	3953	3782
CMS 52-QPM	4047	4070	2967	4900	4930	3800	3110	3505	3454	3146	3630	5113	2337	2956	4094	3724
CMS 453 – QPM	3837	4087	3120	5900	5117	3210	2880	4004	2794	3404	3190	3460	1882	2664	4501	3713
CMS 50	4167	4700	3387	5003	4600	3150	2960	4451	3821	2827	2090	5763	2029	2942	4211	3707
CMS 35	3527	3973	2800	3900	4023	3450	2880	4202	3168	3855	3282	4343	2577	3363	4182	3649
CMS 22	3690	4577	3020	5593	5113	4593	3273	2971	2559	3922	2310	5187	1713	1967	3493	3546
CMS 59	3620	2810	2887	4737	4827	2713	2390	3472	3153	2628	2695	4333	2557	3648	3229	3229
CMS 47	3360	3183	3080	4180	3950	3100	3450	3403	2501	3541	1687	3620	2344	3393	2708	3134
Média	4322	4590	3729	5377	5062	3949	3368	4474	2898	3973	3345	4577	1977	2958	4245	3954
C.V. (%)	8,9	10,7	11,5	9,1	9,2	10,6	11,5	11,3	23,6	11,7	15,1	14,9	16,5	17,3	12,9	12,6
F (cultivares)	7,2	7,3**	8,4**	8,0**	3,0**	11,4**	6,1**	5,5**	2,7*	9,5**	13,4**	7,5**	3,2*	7,0**	6,0**	37,9**
F (local)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	176,4**
F (cultivares x local)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,9**
D.M.S. (5%)	1192	1530	1340	1520	1458	1297	1205	1575	2120	1449	1570	2115	1012	1556	1695	787
Q.M. Residual	147602	243075	186513	240002	220861	174783	150921	257643	466519	217995	255864	464498	106470	264539	298336	-

\*\* e \*Significativo a 1% e 5% de probabilidade, pelo teste F, respectivamente.

Tabela 6. Estimativas das médias de produtividades de grãos, do  $P_i$  geral, do  $P_i$  favorável e do  $P_i$  desfavorável, pelo método de Lin & Bins (1988) com decomposição de parâmetro  $P_i$ , para as cultivares de milho avaliadas no Nordeste brasileiro no ano agrícola de 1998/1999.

Cultivares	Média	$P_i$ geral	$P_i$ favorável	$P_i$ desfavorável
BR 3101	4941	485849,9	677883,6	269812,1
BR 5039 – São Vicente	4553	622818,6	543569,7	711973,7
BR 5004	4464	739895,6	498592,3	1011361,8
BR 5037-Cruzeta	4255	900999,8	854038,7	953831
AL 25	4219	1106258,3	553350,9	17218279
Sintético Dentado	4205	973910,9	623411,8	1368222,3
AL 30	4128	1061669,1	969501,5	1165357,6
Sintético Duro	4109	1239753	1262608,2	1214040,9
BR 5011-Sertanejo	3999	1225191	907125,7	1583014,5
BR 106	3951	1542967,7	1707381,5	1358002,1
BR 5033-Asa Branca	3915	1413833,2	1543630,7	1267811
BR 5028-São Francisco	3850	1803640,4	1429859,8	2224143,5
Crioulo Caiano	3781	1575616,9	1726196,2	1406215,2
CMS 52-QPM	3724	1698364,1	1740215,3	1651281,5
CMS 453-QPM	3713	1757077,4	1684006,6	1839282,1
CMS 50	3707	1937050,3	1487979,6	2442254,8
CMS 35	3649	1869205,3	2101186,2	1608227,1
CMS 22	3572	2007384,4	1682997,1	2372320
CMS 59	3229	2823144,3	3082284,7	2531611,3
CMS 47	3134	2978426,5	3316053,6	2598596
Média	3954			
C.V.(%)	12,6			

Tabela 7. Posição relativa das cultivares de milho avaliadas no ano agrícola de 1999, no Nordeste brasileiro, conforme método de Lin e Binns (1988) com decomposição do estimador  $P_i$ . Região Nordeste do Brasil, 1998/1999.

Produtividade média	$P_i$ geral	$P_i$ favorável	$P_i$ desfavorável
BR 3101	BRS 3101	BR 5004	BRS 3101
BR 5039 – São Vicente	BR 5039	BR 5039	BR 5039
BR 5004	BR 5004	AL 25	BR 5037
BR 5037-Cruzeta	BR 5037	Sintético Dentado	BR 5004
AL 25	Sintético Dentado	BRS 3101	AL 30
Sintético Dentado	AL 30	BR 5037	Sintético Duro
AL 30	AL 25	BR 5011	Br 5033
Sintético Duro	BR 5011	AL 30	BR 106
BR 5011-Sertanejo	Sintético Duro	Sintético Duro	Sintético Dente
BR 106	BR 5033	BR 5028	Crioulo Caiano
BR 5033-Asa Branca	BR 106	CMS 50	BR 5011
BR 5028-São Francisco	Crioulo Caiano	BR 5033	CMS 35
Crioulo Caiano	CMS 52	CMS 22	CMS 52
CMS 52-QPM	CMS 453	CMS 453	AL 25
CMS 453-QPM	BR 5028	BR 106	CMS 453
CMS 50	CMS 35	Crioulo Caiano	BR 5028
CMS 35	CMS 50	CMS 52	CMS 22
CMS 22	CMS 22	CMS 35	CMS 50
CMS 59	CMS 59	CMS 39	CMS 59
CMS 47	CMS 47	CMS 47	CMS 47

- CARVALHO, H.W.L. de, et al. 1999b. Adaptabilidade e estabilidade de comportamento e cultivares de milho em treze ambientes nos Tabuleiros Costeiros do Nordeste brasileiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 34(12): 2225-2234.
- CARVALHO, H.W.L. de, et al. 1999c. Adaptabilidade e estabilidade de produção de cultivares de milho no Nordeste brasileiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 34(9):1581-1591.
- CARVALHO, H.W.L. de, et al. 2000a. Estabilidade de cultivares de milho em três ecossistemas do Nordeste brasileiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35(9):1773-1781.
- CARVALHO, H.W.L. de, et al. 2000b. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Nordeste brasileiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35(6):1115-1123.
- CARVALHO, H.W.L. de, MAGNAVACA, R., LEAL e M. de L. da S. 1992. Estabilidade de cultivares de milho no Estado de Sergipe. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 27(7): 1073-1082.
- LIN, C.S. and BINNS, M.R. 1988. A superiority measure of cultivar performance for cultivar x location data. *Canadian Journal of Plant Science* 68(1): 193-198.
- MARIOTTI, I.A. et al. 1976. Analisis de estabilidad y adaptabilidad de genótipos de cana de azucar. I. Interracciones dentro de una localidad experimental. *Revista Agronomica del Noroeste Argentino* 13(14):105-127.
- MONTEIRO, A.A.T. et al. 1998. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no estado do Ceará. *Revista Científica Rural (Brasil)* 3(2):1-10.
- RAMALHO, M.A.P., SANTOS, J.B. dos e ZIMMERMANN, M.J. de O. 1993. Interação dos genótipos x ambientes. In: Ramalho, M.A.P., Santos, J.B. dos, Zimmermann, M.J. de O. *Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicação no melhoramento do feijoeiro*. Goiânia, Editora UFG. pp 131-169.
- SCAPIM, C.A., CARVALHO, C.G.P. de, CRUZ, C.D. 1995. Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 30(5): 683-686.
- SILVA, F.B.R. de, et al. 1993. Zoneamento Ecológico do Nordeste; Diagnóstico do quadro natural e agrossocioeconômico. Petrolina, Embrapa-CPATSA. Recife, Embrapa-CNPS, v.1.
- TORRES, R.A. de A. 1998. Estudo do controle genético da estabilidade fenotípica de cultivares de milho (*Zea mays* L.) Dissertação de Mestrado. Piracicaba, ESALQ. 133p.
- VENCOVSKY, R. e BARRIGA, P. 1992. Genética biométrica no fitomelhoramento. *Revista Brasileira de Genética*. 496p.

## COMPORTAMENTO E ESTABILIDADE DE PRODUÇÃO DE CULTIVARES DE MILHO NO ESTADO DA BAHIA, NO TRIÊNIO 1995/96/97

*Benedito Carlos Lemos de Carvalho<sup>1</sup>, Hélio Wilson Lemos de Carvalho<sup>2</sup>, Maria de Lourdes da Silva Leal<sup>2</sup>, Manoel Xavier dos Santos<sup>3</sup>, Hélio da Silva Marques<sup>4</sup>, Ismário Oliveira Silva<sup>4</sup>, Giderval Vieira Sampaio<sup>4</sup>, Elder Manoel de Moura Rocha<sup>4</sup> e Valfredo Vilela Dourado<sup>4</sup>*

<sup>1</sup> Embrapa/EBDA, Av. Dorival Caymmi, 15.649, 41635-150, Salvador, Bahia, Brasil. <sup>2</sup> Embrapa Tabuleiros Costeiros, Av. Beira-Mar, 3250, Caixa Postal 44, 49001-970, Aracaju, Sergipe, Brasil. <sup>3</sup> Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 152, 35701-970, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil. <sup>4</sup> EBDA, Av. Dorival Caymmi, 15.649, 41635-150, Salvador, Bahia, Brasil.

Quatro híbridos e oito variedades de milho foram avaliados em catorze ambientes do Estado da Bahia, no triênio 1995/96/97, em blocos ao acaso, com três repetições, visando conhecer o comportamento e a estabilidade de produção desses materiais, para serem recomendados aos produtores. Os híbridos mostraram melhor adaptação que as variedades, sobressaindo, entre eles, o Agromen 2010 por ser mais responsivo à melhoria ambiental ( $b_1 + b_2 > 1$ ). Entre as variedades, as BR 106, BR 5033-Asa Branca e BR 473 apresentaram boas produtividades médias em ambientes desfavoráveis ( $b_1 < 1$ ). A BR 473 foi o único material a se aproximar da cultivar ideal, proposta pelo modelo bissegmentado. Os híbridos, à exceção do Agromen 2010, mostraram baixa estabilidade de produção nos ambientes considerados ( $R^2 < 80\%$ ). Entre as variedades com alta produtividade, apenas a BR 5033 mostrou baixa estabilidade de produção nos ambientes estudados.

**Palavras-chave:** *Zea mays*, milho, híbrido, variedade.

**Behavior and stability of corn cultivars in Bahia State from 1995 to 1997.** Four hybrids and eight corn varieties were evaluated in fourteen environments in Bahia State from 1995 to 1997. The experimental design was complete randomized blocks with three replications. Hybrids showed more adaptation than varieties, outstanding values for Agromen 2010 (more responsive to environmental adaptation  $b_1 + b_2 > 1$ ). The varieties BR106, BR 5033 – Asa Branca and BR 473 had higher productivity than the others under unfavorable environment requirements ( $b_1 < 1$ ). BR 473 was the unique variety that reach values near the predicted value for a cultivar by the “bisegmented model”. All hybrid except Agromen 2010 showed low stability to the environments variation ( $R^2 < 80\%$ ). Among the varieties with height yield only BR5033 presented low stability environment variation.

**Key words:** *Zea mays*, corn hybrids and corn varieties.



## Introdução

A Bahia apresenta um grande potencial para o desenvolvimento da cultura do milho, destacando-se as regiões de Irecê, Nordeste e Oeste, como principais produtoras. Juntas, contribuem com mais de 75,0% do milho plantado no Estado. A região de Irecê, considerada o celeiro do Nordeste brasileiro, possui solos de excelente qualidade para a produção desse cereal, entretanto as condições climáticas quase sempre limitam sua produção, chegando, em muitos anos, a causar frustração total das safras. O rendimento do milho em Irecê é baixo, em virtude das baixas populações de plantas nos sistemas consorciados, aliadas ao uso de genótipos de baixa capacidade produtiva.

No Nordeste da Bahia, ocorre uma maior regularidade de safras, em consequência da melhor distribuição de chuvas, quando comparada com a região de Irecê. Mesmo assim, nessa região, fatores como solos de baixa fertilidade, baixo índice de mecanização da lavoura e insuficiência de sementes selecionadas de variedades melhoradas limitam o cultivo do milho. Apesar disso, registram-se, nos municípios de Paripiranga e Adustina, produtividades superiores a 1,9 t/ha, decorrentes do melhor nível tecnológico. No Oeste da Bahia, o cultivo do milho encontra-se inserido, principalmente, nas áreas de cerrados, onde o uso de tecnologias modernas de produção de milho já se tornou uma constante.

O Estado da Bahia apresenta, portanto, grande diversidade nas suas condições edafo-climáticas e socioeconômicas, encontrando-se cerca de 600 a 700 mil hectares cultivados com a cultura do milho, nos mais variados sistemas de produção. Apesar da importância do milho para o Estado, a produtividade média estadual é baixa. A adoção de práticas culturais adequadas, sobretudo o uso de variedades melhoradas e híbridos, poderão elevar essa produtividade para níveis mais satisfatórios. Por isso, torna-se necessário o desenvolvimento de um programa intensivo de avaliação de variedades e de híbridos visando substituir as variedades tradicionais por cultivares adaptadas e com melhor estabilidade de produção.

Em se tratando de uma vasta região, a interação genótipo x ambiente assume papel fundamental no processo de recomendação de cultivares, sendo necessário minimizar o seu efeito, o que é possível, através da seleção de cultivares com maior estabilidade fenotípica (Ramalho et al. 1993). A ocorrência dessa interação tem sido detectada em diversos trabalhos com milho no Nordeste brasileiro (Carvalho et al. 1992; Cardoso et al. 1997; Carvalho et al. 1998 a; Carvalho et al. 1998b; Carvalho et al. 1998c; Monteiro et al. 1998), onde ficou demonstrada a necessidade de selecionar

cultivares adaptadas às regiões produtoras e de melhor estabilidade de produção.

Realizou-se o presente trabalho com o objetivo de se avaliar o comportamento e a estabilidade de produção de diversas cultivares de milho, em diferentes localidades do Estado da Bahia, para recomendação aos produtores.

## Material e Métodos

Os ensaios foram conduzidos nos anos agrícolas de 1995, 1996 e 1997, nas regiões de Irecê (João Dourado e Jussara), Nordeste (Adustina e Paripiranga), Oeste (Barreiras), Sudoeste (Barra do Choça) e Leste (Cruz das Almas). Os índices pluviométricos observados durante o ciclo da cultura constam na Tabela 1, e as coordenadas geográficas e os tipos de solos dos locais onde foram instalados os ensaios encontram-se na Tabela 2.

Doze cultivares de milho foram avaliadas em blocos ao acaso, com três repetições. As parcelas foram constituídas de quatro fileiras de 5,0m de comprimento, espaçadas de 0,90m, com 0,50m entre covas. Foram colocadas três sementes por cova, deixando-se duas plantas, após o desbaste. Foram colhidas as duas fileiras centrais de forma integral, correspondendo a uma área útil de 9,0 m<sup>2</sup>. Todos os ensaios receberam uma adubação, de acordo com os resultados das análises de solo.

O peso de grãos foi ajustado para 15,0% de umidade e submetido à análise de variância, obedecendo ao modelo em blocos ao acaso. Após a análise de variância por local, efetuou-se a análise de variância conjunta. Os parâmetros de estabilidade foram estimados, utilizando-se a metodologia proposta por Cruz et al. (1989), a qual se baseia na análise de regressão bissegmentada, tendo como parâmetros de adaptabilidade a média ( $b_{oi}$ ), a resposta linear aos ambientes desfavoráveis ( $b_{2i}$ ) e aos ambientes favoráveis ( $b_{1i} + b_{2i}$ ). A estabilidade dos materiais foi avaliada pelos desvios da regressão  $\delta_{ij}$  de cada cultivar, em função das variações ambientais. O seguinte modelo é utilizado:

$$y_{ij} = b_{oi} + b_{1i}I_j + b_{2i}T(I_j) + \delta_{ij} + \bar{\Sigma}_{ij}, \text{ onde}$$

$y_{ij}$  é a média da cultivar  $i$  no ambiente  $j$ ;  $I_j$  é o índice ambiental, em que  $T(I_j) = 0$  se  $I_j < 0$  e  $T(I_j) = I_j - I_+$  se  $I_j > 0$ , sendo  $I_+$  a média dos índices  $I_j$  positivos;  $b_{oi}$  é a média geral da cultivar  $i$ ;  $b_{1i}$  é o coeficiente de regressão linear associado à variável  $I_j$ ;  $b_{2i}$  é o coeficiente de regressão linear associado à variável  $T(I_j)$ ;  $\delta_{ij}$  é o desvio da regressão linear; e  $\bar{\Sigma}_{ij}$  é o erro médio experimental.

Tabela 1. Índices pluviométricos (mm) ocorridos durante o período experimental. Bahia, 1995, 1996 e 1997.

Locais	Dezembro 1994	Meses – 1995								Total
		Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho	Julho	Agosto	
Barreiras	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Cruz das Almas	x	x	x	x	x	97*	114	130	58	399
Adustina	x	x	x	x	x	x*	x	x	x	x
	Dezembro 1995	Meses – 1996								
Barreiras	x	117*	114	124	43	x	x	x	x	398
Cruz das Almas	x	x	x	x	x	x*	x	x	x	x
Adustina	x	x	x	x	155*	27	61	32	46	321
	Dezembro 1996	Meses – 1997								
Adustina 1	x	x	x	x	x	67*	69	66	40	242
Adustina 2	x	x	x	x	x	70*	70	58	50	248
Barreiras 1	116*	160	115	240	x	x	x	x	x	631
Barreiras 2	148*	73	121	294	x	x	x	x	x	736
Barra do Choça	118*	150	145	18	x	x	x	x	x	431
João Dourado	x*	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Jussara	x*	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Paripiranga	x	x	x	x	x	282*	129	119	70	600

\*Mês de plantio. x não foi registrado

Tabela 2. Coordenadas geográficas dos locais e tipos de solos das áreas experimentais. Bahia, 1995, 1996 e 1997.

Locais	Latitude(S)	Longitude(w)	Altitude(m)	Tipo de Solo
Adustina 1	10°32′	38°07′	250	LVA
Adustina 2	10°32′	38°07′	250	PVA
Paripiranga	10°41′	37°51′	430	PVA
Barreiras 1	12°09′	44°59′	435	A
Barreiras 2	12°14′	45°20′	670	AQ
Barra do Choça	14°51′	40°50′	900	PVA
João Dourado	10°54′	41°35′	450	A
Jussara	11°10′	41°53′	680	A
Cruz das Almas	12°40′	39°06′	220	LVA

A – Aluvial; LVA – Latossolo Vermelho-Amarelo; PVA – Podzólico Vermelho-Amarelo; AQ – Areia Quartzosa.

## Resultados e Discussão

Os ensaios foram conduzidos nos domínios ecológicos dos Tabuleiros (Cruz das Almas, Adustina e Paripiranga), Semi-árido (João Dourado e Jussara), Subúmido (Barra do Choça) e Cerrados (Barreiras), sob diferentes condições de pluviosidade (Tabela 1) e de solo (Tabela 2). Em função disso, as cultivares mostraram comportamento produtivo diferenciado (Tabela 3). As

produtividades médias dos ensaios variaram de 2.489 kg/ha (Paripiranga, 1997) a 5.554 kg/ha (Adustina, 1995). Os resultados das análises de variâncias de cada local mostraram coeficientes de variação que oscilaram de 8,8% a 20,6%, conferindo boa a regular precisão aos ensaios. Esse comportamento diferenciado das cultivares nos diferentes locais (ambientes), gerou uma interação altamente significativa entre cultivar e ambiente, o que dificulta uma recomendação generalizada. Para proceder-se a uma recomendação que atenuie os efeitos dessa interação, foram utilizadas técnicas que possibilitam a identificação de cultivares com maior estabilidade fenotípica para cada local (Ramalho et al., 1993).

Constatou-se que alguns ambientes foram mais propícios ao cultivo de milho, produzindo acima da média geral (3.954 kg/ha), destacando-se, entre esses, os municípios de Cruz das Almas (1995 e 1996), Adustina (1995 e 1996), Barreiras (1996) e João Dourado (Tabela 3). A análise de variância conjunta revelou significância a nível de 1% de probabilidade (teste F), para os efeitos de locais, cultivares e interação cultivares x ambientes, mostrando diferenças entre os locais e as cultivares,

Tabela 3 – Produtividade média de grãos(kg/ha) das cultivares nos vários ambientes e resumo das análises de variância por local e conjunta. Bahia, 1995, 1996 e 1997.

Cultivares	1995			1996			1997								Análise Conjunta
	Cruz das Almas	Barreiras	Adustina	Cruz das Almas	Adust.	Barreir.	Adustina1	Adust.2	Paripiranga	Barreira1	Barreira2	Jussara	Dourado	Barra do Choça	
BR 3123 <sup>b</sup>	5.979	5.350	5.868	5.137	4.659	6.060	3.615	3.131	3.167	3.217	3.800	4.290	6.667	6.003	4.909
Agromen 2010 <sup>c</sup>	5.469	5.000	6.694	6.060	5.048	5.870	3.237	3.039	2.700	3.323	3.650	3.150	6.390	4.944	4.761
BR 2121 <sup>c</sup>	4.309	4.767	6.421	5.625	4.721	4.453	3.294	3.846	3.467	3.067	3.983	1.457	4.923	4.681	4.403
Germinal 600 <sup>c</sup>	7.088	4.900	7.068	5.055	5.432	5.703	2.450	1.688	1.867	4.343	3.883	3.077	5.173	3.620	4.373
BR 106 <sup>a</sup>	4.391	4.535	4.755	4.203	4.205	4.490	2.737	3.467	2.500	4.233	3.517	3.167	5.333	4.427	3.997
BR 5033 <sup>a</sup>	3.844	4.500	5.541	5.452	5.155	3.400	3.062	3.081	2.967	3.483	2.827	3.000	4.583	3.038	3.855
BR 473 <sup>a</sup>	4.047	2.400	5.575	4.582	3.732	4.311	2.809	2.710	2.233	4.100	3.750	2.673	4.300	3.885	3.713
BR 5028 <sup>a</sup>	3.823	3.960	3.842	4.560	5.070	3.990	2.348	2.498	2.100	3.450	3.333	1.840	5.100	3.607	3.558
BR 5004 <sup>a</sup>	4.096	3.950	6.266	4.920	4.386	4.280	967	2.717	1.867	3.100	3.700	2.083	3.993	3.839	3.558
CMS 52 <sup>a</sup>	2.895	2.433	5.086	4.242	4.105	4.207	3.013	2.498	2.800	4.067	2.717	2.540	5.027	3.875	3.480
BR 5011 <sup>a</sup>	4.087	3.994	4.728	3.870	4.369	4.157	1.835	2.920	2.500	2.533	2.717	2.697	5.170	3.124	3.461
BR 5037 <sup>a</sup>	3.095	3.567	4.805	3.728	4.123	3.950	2.095	3.520	1.700	3.450	3.100	2.763	4.067	3.413	3.378
Média	4.427	4.113	5.554	4.794	4.584	4.572	2.622	2.926	2.489	3.531	3.415	2.729	5.060	4.038	3.954
C.V.(%)	14,8	14,1	9,8	15,7	9,6	8,8	14,9	13,8	15,7	16,3	12,2	20,6	12,2	10,2	13,4
F(C)	10,1**	7,9**	9,1**	2,8*	4,1**	13,1**	10,7**	5,9**	6,1**	2,7*	3,7*	5,0**	5,3**	12,6**	42,5**
F(L)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	131,7**
F(CxL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5,3**
D.M.S(5%C)	1939	1728	1617	2237	1308	1192	1159	1202	1161	1713	1244	1673	1839	12329	381

\*\* e \* significativo a 1% e 5% de probabilidade, pelo teste F; **a** variedade, **b** híbrido triplo; **c** híbrido duplo

evidenciando também que o comportamento das cultivares não foi coincidente nos diferentes ambientes, justificando um estudo mais detalhado dessa interação. Interações significativas em trabalhos de avaliação de cultivares na região Nordeste do Brasil têm sido reportadas por Costa (1976), Carvalho et al.(1992), Cardoso et al.(1997), Carvalho et al.(1998) e Monteiro et al.(1998); no Mato Grosso do Sul, Arias (1996) encontrou resultados semelhantes.

A produtividade média de grãos das cultivares variou de 3.378kg/ha (BR 5037) a 4.909kg/ha (BR 3123), com média geral de 3.954kg/ha, evidenciando o potencial da cultura do milho para o Estado (Tabela 4). Os híbridos, com média de 4.611kg/ha, mostraram melhor adaptação que as variedades, as quais produziram em média 3.625 kg/ha, concordando com outros trabalhos realizados no Nordeste brasileiro (Cardoso et al.(1997), Carvalho et al.(1998 a), Carvalho et al.(1998b). Ressalta-se que se considerou como cultivares adaptadas aquelas com melhores rendimentos de grãos (Mariotti et al.,1976). O híbrido triplo BR 3123 e o duplo, Agromen 2010, foram os melhores adaptados, produzindo, respectivamente, 24,0% e 20,0% a mais que a média geral. As cultivares BR 106, BR 5033 – Asa Branca e BR 473 (de alta

qualidade protéica) mostraram melhor adaptação entre as variedades, produzindo, respectivamente, 10,0%, 6,0% e 2,0% a mais que a média das variedades.

A estimativa de  $b_1$  (Tabela 4) que avalia o desempenho das cultivares nas condições desfavoráveis, mostrou que os híbridos BR 3123, Agromen 2010 e Germinal 600 foram muito exigentes nos ambientes desfavoráveis, com estimativas de  $b_1$  superiores à unidade e significativos. Esses resultados concordam com aqueles obtidos por Carvalho et al.(1998 a), Carvalho et al.(1998b), Carvalho et al.(1998c), onde a maioria dos híbridos avaliados mostrou ser exigente nas condições desfavoráveis. As variedades BR 106, BR 5033 e BR 473 foram as mais adaptáveis nas condições desfavoráveis. As cultivares CMS 52 e BR 5037, apesar de apresentarem estimativas de  $b_1 < 1$ , mostraram rendimentos médios abaixo da média geral para variedades, o que compromete os seus desempenhos nas condições desfavoráveis.

A estimativa de  $b_1 + b_2$  (Tabela 4) que avalia a resposta das cultivares nos ambientes favoráveis, mostrou que, entre os híbridos, apenas o Agromen 2010 e a variedade BR 473 responderam à melhoria ambiental ( $b_1 + b_2 > 1$ ).

Com relação à estabilidade (Tabela 4), todos os híbridos avaliados mostraram os desvios da regressão,

Tabela 4. Produtividades médias de grãos(kg/ha) e estimativas dos parâmetros de adaptabilidade e estabilidade de 12 cultivares de milho em 14 ambientes. Estado da Bahia, 1995, 1996 e 1997.

Cultivares	Médias nos ambientes			$b_1$	$b_2$	$b_1+b_2$	Q.M. Desvios	$R^2$
	Geral	Desfavorável	Favorável					
BR 3123	4.909	3.573	5.938	1,25**	-0,57*	0,68ns	2387080,0**	68
Agromen 2010	4.761	3.183	5.943	1,49**	0,11ns	1,60**	1079521,5**	88
BR2121	4.403	3.186	5.316	1,16ns	0,21ns	1,37ns	2015555,6**	72
Germinal 600	4.373	2.885	5.490	1,53**	0,26ns	1,27ns	2271304,0**	78
BR 106	3.997	3.270	4.542	0,77*	0,46ns	0,30**	371890,0ns	83
BR 5033	3.855	3.070	4.444	0,73**	0,14ns	0,88ns	1497416,7**	58
BR 473	3.713	3.047	4.213	0,74**	0,84**	1,58**	770957,0ns	80
BR 5028	3.558	2.595	4.281	0,99ns	-0,67**	0,33ns	706903,0ns	81
BR 5004	3.558	2.406	4.421	1,21*	-0,13ns	1,08ns	1179312,0**	82
CMS 52	3.480	2.939	3.886	0,55**	0,72**	1,27ns	1192963,5**	60
BR 5011	3.461	2.533	4.157	0,87ns	-0,07ns	0,80ns	642701,0ns	81
BR 5037	3.378	2.771	3.833	0,66**	0,14ns	0,81ns	594684,0ns	74

\*\* e \* significativamente diferente da unidade, para  $b_1$  e  $b_1+b_2$  e zero para  $b_2$  a 1% e 5% de probabilidade pelo teste “t” de Student, respectivamente.

\*\* significativamente diferente de zero para o Q.M. Desvios a 1% de probabilidade, pelo teste F.

ns não significativo.

estatisticamente, diferentes de zero, a 1% de probabilidade pelo teste F, indicando comportamento imprevisível nos ambientes estudados, embora, segundo Cruz et al. (1989), aqueles híbridos e variedades que apresentaram valores de  $R^2$  acima de 80%, não devem ter os seus graus de previsibilidade comprometidos. Assim sendo, entre os híbridos, apenas o Agromen 2010 evidenciou uma alta estabilidade nos ambientes considerados. As variedades BR 106, BR 473, BR 5028 – São Francisco, BR 5004 e BR 5011 – Sertanejo apresentaram uma alta estabilidade nos ambientes onde foram testadas.

Os resultados mostraram a potencialidade dos híbridos e das variedades melhoradas para utilização no Estado da Bahia. Considerando, todavia, os diferentes níveis de tecnologias que predominam nas diferentes regiões produtoras de milho do Estado, na recomendação dessas cultivares é aconselhável averiguar as condições prevaletentes para cada sistema de cultivo. Assim sendo, nota-se que os híbridos tiveram os melhores desempenhos produtivos, ou seja, melhor adaptação, destacando-se, entre eles, o Agromen 2010, por ser mais responsivo à melhoria ambiental. Por essa razão, tais materiais devem ser recomendados, principalmente, para aqueles sistemas de produção onde se utilizam melhores tecnologias, a exemplo do domínio ecológico dos cerrados. As variedades BR 106, de porte normal e ciclo semi-tardio, BR 5033 – Asa Branca, de porte baixo e ciclo precoce, e a BR 473, de porte normal e ciclo precoce, de produtividades médias acima da média para variedades e

de pouca exigência nos ambientes desfavoráveis, podem ser recomendadas para todas as regiões produtoras, especialmente a BR 473 que, por responder à melhoria ambiental, pode ser recomendada para os melhores ambientes. Vale ressaltar que a variedade BR 473 foi a cultivar que atendeu a todos os requisitos do modelo ao mesmo tempo, ou seja, apresentou uma boa produtividade média, pouca exigência nos ambientes desfavoráveis ( $b_1 < 1$ ), além de responder à melhoria ambiental ( $b_1+b_2 > 1$ ) e mostrar uma boa estabilidade nos ambientes considerados ( $R^2 = 80\%$ ), ficando próxima da cultivar ideal preconizada pelo modelo.

As variedades BR 5028 – São Francisco, de porte baixo e ciclo precoce, e a BR 5004, de porte normal e ciclo semi-tardio, mostraram produtividades médias semelhantes à média para variedades, e uma boa estabilidade nos ambientes considerados, devendo ser recomendadas para exploração nos domínios ecológicos do Semi-Árido, Tabuleiros e Subúmido. A variedade BR 5011 – Sertanejo, de porte normal e ciclo semi-tardio, apesar de mostrar produtividade média baixa, em razão da redução do número de plantas na colheita, tem mostrado produtividades elevadas nos trabalhos realizados por Cardoso et al.(1997), Carvalho et al.(1998 a), Carvalho et al.(1998b), Carvalho et al.(1998c) e Carvalho et al.(1998d). Esse fato, aliado à boa estabilidade nos ambientes considerados, apresentada em todos esses trabalhos ( $R^2 = 81\%$ ), faz dessa variedade uma alternativa para exploração comercial no Estado da Bahia.



## Conclusões

- Os híbridos mostraram melhor adaptação que as variedades, destacando-se o Agromen 2010 como mais responsivo à melhoria ambiental. São recomendados para cultivo no domínio ecológico dos cerrados.
- As variedades BR 106, BR 5033 e BR 473, por sua vez, mostraram ser pouco exigentes nas condições desfavoráveis, podendo ser recomendadas para cultivo nas regiões de Irecê (semi-árido) e Nordeste do Estado (tabuleiros).
- A variedade BR 473, de alta qualidade protéica, atende aos requisitos da cultivar ideal, proposta pelo modelo, considerando o rendimento médio dessa variedade, em relação à média das variedades.

## Literatura Citada

- ARIAS, E. R.A. 1996. Adaptabilidade e estabilidade das cultivares de milho avaliadas no estado do Mato Grosso do Sul e avanço genético obtido no período de 1986/87 a 1993/94. Tese de Doutorado. Lavras, ESAL.118p.
- CARDOSO, M. J. et al. 1997. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Estado do Piauí no biênio 1993/94. Revista Científica Rural (Brasil) 2(1): 35-44.
- CARVALHO, H.W.L. de; MAGNAVACA, R. e LEAL, M.de L. da S. 1992. Estabilidade de cultivares de milho no Estado de Sergipe. Pesquisa Agropecuária Brasileira 27(7): 1073-1082.
- CARVALHO, H.W.L. de. et al. 1998a. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Nordeste brasileiro no ano de 1995. Revista Científica Rural (Brasil) 3(1): 8-14.
- CARVALHO, H.W.L. de. et al. 1998b. Estabilidade de cultivares de milho no Estado de Sergipe. Revista Científica Rural (Brasil) 3(2): 15-22.
- CARVALHO, H.W.L. de. et al. 1998c. Estabilidade de cultivares de milho no Nordeste brasileiro no ano de 1996. Revista Científica Rural (Brasil) 3(2): 20-26.
- CARVALHO, H.W.L. de. et al. 1998d. Avaliação de cultivares de milho no Nordeste brasileiro. Revista Científica Rural (Brasil) 3(2): 27-36.
- COSTA, S. V. 1976. Interação de cultivares de milho (*Zea mays* L.) x anos x localidades nos Estados do Piauí e do Maranhão-Brasil. Tese de Mestrado. Piracicaba, ESALQ. 82p.
- CRUZ, C.D., TORRES, R.A. de, and VENCOSKY, R. 1989. Alternative approach to the stability analysis proposed by Silva and Barreto. Revista Brasileira de Genética 12(13): 567-582.
- MARIOTTI, I.A. 1976. Analisis de estabilidad y adaptabilidad de genótipos de caña de azucar. I. Interacciones dentro de una localidad experimental. Revista Agronômica del Nordeste Argentino 13(14): 105-127.
- MONTEIRO, A.A.T. et al. 1998. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Estado do Ceará. Revista Científica Rural 3(2): 01-10.
- RAMALHO, M.A.P., SANTOS, J.B. dos, e ZIMERMANN, M.J. de O. 1993. Interação dos genótipos x ambientes. In: \_\_\_\_; Genética quantitativa em plantas antógamas – aplicação no melhoramento do feijoeiro. Goiânia, Editora UFG. pp 131-169. (Publicação, 120).

●

## **TAMANHO DE ÁREA E PRECISÃO DE EXPERIMENTOS DE CAMPO COM CAJUEIRO EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE REPETIÇÕES**

*Adroaldo Guimarães Rossetti*

EMBRAPA Agroindústria Tropical - Rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Pici, Caixa postal 3761, 60511-110, Fortaleza, Ceará,  
Brasil

Os experimentos de campo com cajueiro ocupam, em geral, grandes áreas, devido o porte das plantas que normalmente exigem largos espaçamentos. Em vista disso, observa-se uma tendência ao uso de parcelas grandes, em detrimento do número de repetições, o que acarreta prejuízos na precisão das estimativas dos parâmetros e na aplicação eficiente de testes estatísticos aos dados experimentais. Este trabalho foi realizado com o objetivo de mostrar que o aumento do número de repetições com o uso de parcelas pequenas, diminui a área desses experimentos e aumenta a sua precisão. Desenvolveu-se um procedimento para minimizar a variância da média de cada tratamento, favorecendo o uso de maior número de repetições, para aumentar a precisão dos testes, obter maior uniformidade no experimento e melhorar a qualidade das pesquisas. Os resultados obtidos permitem observar que o uso de parcelas pequenas, com maior número de repetições, proporciona melhor estimativa do erro experimental, dos efeitos de tratamentos e de outros parâmetros, além de dar mais eficiência aos testes estatísticos a serem aplicados aos dados. Observou-se, também, que com essa prática há diminuição substancial do número de plantas necessárias ao experimento e da área experimental utilizada.

**Palavras-chave:** variância da média de cada tratamento, área experimental, coeficiente de correlação intraclass, bordadura

**Influence of the plot and number of replicates on the experimental area size and precision of perennial arboreal plants trials.** Field experiments with perennial arboreal trees usually occupy large areas due to the big plant size and the required spacings. In such situations the use of big plots and the low number of replicates are very common, in an attempt to reduce the experimental area, manpower and costs. This procedure, however, decreases the efficiency of results and difficulties the application of statistical tests. This work was conducted in order to demonstrate that using small plots and higher number of replicates increases the trial precision and decreases the experimental area. The association of plot size and number of replicates, minimizing the mean variance of each treatment, allows the use of high number of replicates, increasing the precision of statistical tests, besides a better trial uniformity. Results obtained showed that the use of smaller plots benefits the increase of replicates number allows a better estimation of the experimental error, of the treatment and parameters effects and higher efficiency of statistical tests. Besides, reduces about 18% the number of plants and the size of experimental area.

**Key words:** treatment mean variance, experimental area, intraclass correlation coefficient, guard rows

## Introdução

A literatura sobre métodos e técnicas experimentais para pesquisas com plantas perenes arbóreas, particularmente com o cajueiro, sobretudo para experimentos de campo, é bastante escassa. Pearce (1975), após levantamento bibliográfico exaustivo, quando constatou essa realidade, certamente para tentar preencher essa lacuna, propôs metodologias para experimentos com frutíferas e outras plantas perenes. Apesar do bom indicativo, não se trata de resultados de pesquisa mas de inferências feitas sobre resultados obtidos com cultivos de ciclo curto, que normalmente não se adaptam bem às perenes arbóreas, onde os experimentos de campo ocupam, em geral, grandes áreas (normalmente superiores a 3,0 ha), devido aos largos espaçamentos que exigem (a partir de 7m x 7m e 8m x 6m para cajueiro anão precoce de sequeiro e irrigado, respectivamente, e a partir de 10m x 10m, para o cajueiro comum), o que tem trazido, segundo Rossetti (1994), alguns problemas, com reflexos nos resultados das pesquisas. Não é rara a existência de experimentos com parcelas grandes (a partir de dez plantas), com poucas repetições (abaixo de quatro), sob a alegação de obter maior “stand” e maior facilidade de manejo. É comum, por outro lado, perguntar-se qual o número mínimo de repetições que devem ter os tratamentos de um experimento de campo, com o cajueiro, justamente devido ao aumento da área experimental e suas conseqüências, para se ter bons resultados. A repetição, que constitui um dos princípios básicos da experimentação científica, tem as finalidades de propiciar estimativas do erro experimental, tão importantes nos testes dos efeitos dos tratamentos e dos parâmetros dos modelos usados nas pesquisas realizadas por experimentos, e de permitir a distribuição dos tratamentos em maior espaço do ambiente, com vistas a adequar a extrapolação dos resultados obtidos. Neste contexto, inúmeros autores, entre eles Dagnelie (1975), demonstram que quanto maior for o número de repetições, mais fidedigna será a estimativa do erro experimental, portanto haverá mais segurança na aplicação dos testes estatísticos e maior confiabilidade nos resultados. Ocorre, porém, que dependendo do número de tratamentos, do delineamento destes, do tamanho da parcela e do delineamento experimental utilizados, o experimento pode crescer tanto que às vezes se torna impraticável. É exatamente por isso que muitos experimentos utilizam parcelas grandes (a partir de dez plantas), em detrimento do número de repetições, o que é bastante grave no que concerne à estimativa do erro experimental e, em última análise, aos resultados obtidos nesses experimentos, uma vez que em geral as parcelas grandes têm maior variância, segundo demonstraram

Rossetti et al. (1996), e conseqüentemente aumentam a variância da média de cada tratamento.

A determinação prévia do número mínimo de repetições necessárias para se obter o melhor resultado é um problema que tem sido bastante estudado e muitas soluções têm sido propostas, mas, segundo Pimentel Gomes (1990), nenhuma é inteiramente satisfatória. Por outro lado, o uso de parcelas de tamanho ótimo, que, conforme Rossetti & Pimentel Gomes (1987), podem ser estimadas com base em dados de experimentos com a cultura de interesse, em condições semelhantes às da pesquisa a ser realizada, contribui para que se ajuste o número de repetições para obter resultados satisfatórios. Essas parcelas, segundo Rossetti & Pimentel Gomes (1983), em geral associadas a delineamentos ou técnicas experimentais apropriados, como blocos incompletos ou fatoriais fracionários, por exemplo, conforme o objetivo da pesquisa, como recomendam vários autores, entre eles Rossetti (1994), contribuem bastante para minimizar a variabilidade normalmente existente nesses cultivos. Tais práticas, entretanto, exigem, quase sempre, genótipos bem definidos em estudos de melhoramento, cujos experimentos iniciais dessa área, onde a interação **genótipo vs ambiente** tem particular importância, e de outras, onde normalmente se têm grande número de tratamentos (a partir de 20), têm sido os mais atingidos. No outro extremo estão os experimentos com poucos tratamentos (dois ou três, por exemplo), que a literatura preconiza que se faça mais de uma repetição no bloco, no caso dos delineamentos de blocos ao acaso, para que se tenha, conforme Banzatto & Kronka (1995), maior número de graus de liberdade para estimar o erro experimental. Esta prática é, sem dúvida, um bom recurso para aumentar o número de graus de liberdade para estimar o erro experimental, mas quando se olha o aspecto da distribuição dos tratamentos em maior espaço do ambiente, para estabelecer a validade de extrapolação dos resultados, esta fica prejudicada, pois a área experimental, normalmente pequena, restringe os resultados àquelas condições.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de mostrar que o aumento do número de repetições com o uso de parcelas pequenas (de três a seis plantas), nos experimentos com cajueiro, além de melhorar as estimativas do erro experimental, dos efeitos dos tratamentos e de outros parâmetros do modelo do delineamento, diminui a área do experimento e o número de plantas necessárias, sem prejuízo da precisão dos resultados obtidos.

## Material e Métodos

Considerando-se um experimento com **c** clones de cajueiro, em **b** blocos casualizados, com **k** plantas úteis

por parcela, cujos dados são obtidos de cada planta, tratada como subparcela, tem-se, segundo Pimentel Gomes (1984), o modelo estatístico a seguir:

$$Y_{ijk} = m + c_i + b_j + e_{ij} + e_{ijk}, \text{ onde:}$$

$m$  é a média,  $c_i$  ( $i = 1, 2, \dots, c$ ) é o efeito do  $i$ -ésimo clone,  $b_j$  ( $j = 1, 2, \dots, b$ ) é o efeito do  $j$ -ésimo bloco,  $e_{ij}$  e  $e_{ijk}$  são aleatórios, com distribuição normal e variâncias  $\sigma_1^2$  e  $\sigma_2^2$ , respectivamente, e  $E(e_{ij} e_{ijk}) = 0$ .

Para esse modelo, tem-se sempre:

$$E(V_1) = \sigma_1^2 + k\sigma_2^2 \geq \sigma_1^2 = E(V_2).$$

Para o modelo mais geral que se segue:

$$Y_{ijk} = m + c_i + b_j + e_{ijk},$$

com  $E(e_{ijk}^2) = \sigma^2$ ,  $E(e_{ijk} e_{i'j'k'}) = 0$  para  $(i,j) \neq (i',j')$ ,  $E(e_{ijk} e_{i'j'k'}) = \rho\sigma^2$ , onde  $\rho$  é o coeficiente de correlação intraclasse.

A análise de variância, então, é a seguinte:

Fonte de variação	GL	QM	E(QM)
Blocos	(b - 1)	-	-
Clones	(c - 1)	-	-
Resíduo (a)	(b-1)(c-1)	$V_1$	$\sigma^2 [1 + (k - 1) \rho]$
Resíduo (b)	b c (k - 1)	$V_2$	$\sigma^2 (1 - \rho)$

Com  $\rho \geq 0$ , os resultados pelos dois modelos, se equivalem. Mas com  $\rho < 0$  tem-se a possibilidade de obter  $E(V_1) < E(V_2)$ , o que é importante, pois deve-se ter sempre:

$$\sigma^2 [1 + (k - 1) \rho] \geq 0, \text{ ou seja: } \rho \geq -\frac{1}{k-1}, \text{ para } (k > 1).$$

Essa expressão indica que, quando aumenta o valor de  $k$ , o valor de  $\rho$ , se inicialmente negativo, estará cada vez mais próximo de zero, isto é, para  $\rho < 0$ , tem-se:

$$\lim \rho = 0 \quad \forall \quad k \rightarrow \infty$$

Em qualquer caso tem-se sempre,  $-\frac{1}{k-1} \leq \rho \leq 1, (k > 1)$

Da análise de variância antes exposta, obtém-se um estimador de  $\rho$ , pela expressão:

$$\hat{\rho} = \frac{V_1 - V_2}{V_1 + (k - 1) V_2}, \quad (k > 1).$$

Conclui-se daí que:

$$V_1 \geq V_2 \Rightarrow \hat{\rho} > 0 \quad V_1 < V_2 \Rightarrow \hat{\rho} < 0$$

Por outro lado, sendo  $V_1$  e  $V_2$  ambos positivos, tem-se necessariamente:

$$-\frac{1}{k-1} < \hat{\rho} < 1, \text{ para } k > 1$$

Note-se que, para  $0 \leq \rho < 1$ , tem-se:

$$\frac{\rho}{1 - \rho} = \left( \frac{\sigma_1}{\sigma_2} \right)^2$$

A estimativa do coeficiente de variação será obtida pela variância relativa de cada parcela que tem a expressão:

$$V_1 = \sigma^2 [1 + (k - 1) \hat{\rho}]$$

Conclui-se, portanto, que sendo  $m$  a estimativa da média geral das subparcelas, a estimativa do coeficiente de variação, relativo ao resíduo (a), referente a parcelas, é obtido pela expressão:

$$CV = (100/km) \sqrt{\sigma^2 [1 + (k - 1) \hat{\rho}]} \quad CV = (100 \sigma/m) \sqrt{\frac{(1 - \hat{\rho}) + k\hat{\rho}}{k^2}}$$

$$CV = (100 \sigma/m) \sqrt{\frac{1 - \hat{\rho}}{k^2} + \frac{\hat{\rho}}{k}}, \quad k > 0, \text{ para } 1 + (k - 1) \hat{\rho} \geq 0$$

A média de plantas  $m$  é uma função decrescente de  $k$ .

Com  $\hat{\rho} \geq 0$ , o máximo do CV se dá para  $k = 1$ , pois ambos os termos do radicando

$$\frac{1 - \hat{\rho}}{k^2} + \frac{\hat{\rho}}{k} \text{ são funções decrescentes de } k. \text{ Com } \hat{\rho} = 1,$$

o primeiro termo é nulo, mas isso não altera o resultado.

Com  $\hat{\rho} < 0$ , o numerador do radicando  $(1 - \hat{\rho}) + k\hat{\rho}$  decresce quando  $k$  cresce, mas seu valor é restringido pela condição necessária de que se tenha  $(1 - \hat{\rho}) + k\hat{\rho} \geq 0$ .

Ao mesmo tempo, cresce o denominador  $k^2$ , de modo que o radicando é monotonicamente decrescente, para  $k \geq 1$ .

Isso indica, que o coeficiente de variação é função decrescente do número  $k$  de plantas úteis por parcela, o que favorecerá o uso de parcelas grandes (muito acima de seis plantas), contribuindo para o aumento da variância da média de cada tratamento, dificultando, quando existissem, a detecção de diferenças significativas entre eles. Nesse caso, o mais importante é reduzir a variância da média de cada tratamento, sem aumentar o número de plantas do experimento, isto é, para uma área fixa ou um número fixo de plantas, tornar mínima a variância da média de cada tratamento.

Considerando o segundo modelo, por ser mais geral, a variância da média de  $r$  repetições de um tratamento é obtida pela expressão:

$$V(\hat{m}) = \left( \frac{\sigma^2}{kr} \right) [1 + (k - 1) \hat{\rho}] \text{ para } k, r > 1 \text{ e } \hat{\rho} > 0.$$

Não havendo bordadura entre as parcelas e sendo  $N$  o número total de plantas por tratamento, tem-se  $N = kr$ , logo:

$$V(\hat{m}) = \left( \frac{\sigma^2}{N} \right) [1 + (k - 1) \hat{\rho}].$$



Com  $\hat{\rho} > 0$ , essa variância é mínima para  $k = 1$ , isto é, para parcelas formadas de uma única planta. Para  $\hat{\rho} < 0$ , essa variância é função decrescente de  $k$ , ou seja:

$$f(k) = V(\hat{m}) = \left( \frac{\sigma^2}{N} \right) [1 + (k-1) \hat{\rho}].$$

Havendo bordadura entre as parcelas de  $k$  plantas úteis, em  $n$  fileiras, sendo  $N$  o número total de plantas por tratamento,  $N = Kr$  ( $N$  constante) e  $r$  o número de repetições, o número total de plantas por parcela,  $K$ , será então:

$$K = (n + 2b) \left( \frac{k}{n} + 2b \right) = \left( 1 + \frac{2b}{n} \right) (k + 2bn), n > 1$$

Como  $N$  é o número total de plantas por tratamento e  $r$  o número de repetições:

$$N = Kr = \left( 1 + \frac{2b}{n} \right) (k + 2bn) r,$$

e a variância da média do tratamento será então:

$$V(\hat{m}) = \frac{\sigma^2}{Kr} = \left( 1 + \frac{2b}{n} \right) (k + 2bn) r, \text{ isto é:}$$

$$V(\hat{m}) = \frac{\sigma^2}{N} \left( 1 + \frac{2b}{n} \right) \left( 1 + \frac{2bn}{k} \right) [1 + (k-1) \hat{\rho}],$$

$$k > 1 \text{ e } \hat{\rho} > 0,$$

onde  $b$  é o tipo de bordadura ( $b = 1/2, b = 1, b = 2$ ), conforme se usar meia bordadura, bordadura completa ou simples, ou bordadura dupla, e  $n$  é o número de fileiras de plantio que constitui a área útil da parcela.

O mínimo dessa função, para  $0 < \hat{\rho} < 1$ , será obtido igualando-se a zero as derivadas parciais  $\partial V/\partial k$  e  $\partial V/\partial n$ , respectivamente, para o número  $k$ , de plantas úteis e o número  $n$ , de fileiras, da área útil da parcela. Portanto, calculando-se as derivadas, igualando-as a zero e resolvendo-se as equações,

$$k^2 \hat{\rho} - 2bn(1 - \hat{\rho}) = 0 \text{ e } -k + n^2 = 0, \text{ obtêm-se:}$$

$$n = \sqrt[3]{\frac{2b(1-\hat{\rho})}{\hat{\rho}}}, \hat{\rho} > 0 \text{ e } k = \sqrt{\frac{2bn(1-\hat{\rho})}{\hat{\rho}}}, \hat{\rho} > 0, \text{ pois } k = n^2$$

ou seja,  $f(n,k)$  são as coordenadas do ponto mínimo da variância  $V(\hat{m})$ , isto é:

$$f(n,k) = V(\hat{m}) = \frac{\sigma^2}{N} \left( 1 + \frac{2b}{n} \right) \left( 1 + \frac{2bn}{k} \right) [1 + (k-1) \hat{\rho}]$$

Como a área dos experimentos de campo com o cajueiro e outras plantas perenes arbóreas é uma função de  $N = rK$ , considere-se dois experimentos com parcelas de, respectivamente,  $k$  e  $k'$  plantas úteis, em  $n$  e  $n'$  fileiras. As variâncias correspondentes serão:

$$V(\hat{m}) = \frac{\sigma^2}{N} \left( 1 + \frac{2b}{n} \right) \left( 1 + \frac{2bn}{k} \right) [1 + (k-1) \hat{\rho}],$$

$$k > 1 \text{ e } \hat{\rho} > 0,$$

$$V'(\hat{m}) = \frac{\sigma^2}{N'} \left( 1 + \frac{2b'}{n'} \right) \left( 1 + \frac{2b'n'}{k'} \right) [1 + (k'-1) \hat{\rho}],$$

$$k' > 1 \text{ e } \hat{\rho} > 0, \text{ onde,}$$

$N = rK$ ,  $N' = r'K'$ , sendo  $K$  e  $K'$  os números totais de plantas por parcela, e,  $N$  e  $N'$  os números totais de plantas de cada tratamento nos experimentos. Dessa forma tem-se:

$$\frac{N'}{N} = \frac{\left( 1 + \frac{2b'}{n'} \right) \left( 1 + \frac{2b'n'}{k'} \right) [1 + (k'-1) \hat{\rho}]}{\left( 1 + \frac{2b}{n} \right) \left( 1 + \frac{2bn}{k} \right) [1 + (k-1) \hat{\rho}]}$$

Como as áreas de cada um dos experimentos são proporcionais aos números totais de plantas, tem-se também:

$$\frac{A'}{A} = \frac{\left( 1 + \frac{2b'}{n'} \right) \left( 1 + \frac{2b'n'}{k'} \right) [1 + (k'-1) \hat{\rho}]}{\left( 1 + \frac{2b}{n} \right) \left( 1 + \frac{2bn}{k} \right) [1 + (k-1) \hat{\rho}]}$$

Sendo, respectivamente,  $r$  e  $r'$  o número de repetições para cada experimento, tem-se que:

$$\frac{A'}{A} = \frac{N'}{N} = \frac{r'K'}{rK}$$

## Resultados e Discussão

$$\text{Como } f(k) = V(\hat{m}) = \left( \frac{\sigma^2}{N} \right) [1 + (k-1) \hat{\rho}],$$

considere-se, por exemplo,  $N = 10$  plantas e  $\hat{\rho} = \pm 0,050$ . É simples verificar que o mínimo da variância se dá para  $k = 1$ , independente do sinal de  $\hat{\rho}$ . Se porém,  $k > 1$  e  $\hat{\rho} > 0$  essa variância é função crescente de  $k$ . Mas se  $k > 1$  e  $\hat{\rho} < 0$  ela é função decrescente de  $k$ , ou seja:

**Tomando  $\hat{\rho} = 0,050$** Para k = 1,  $f(1) = (\sigma^2/10)$ Para k = 2,  $f(2) = (\sigma^2/10) 1,05$ Para k = 5,  $f(5) = (\sigma^2/10) 1,20$ Para k = 10,  $f(10) = (\sigma^2/10) 1,45$ **Tomando  $\hat{\rho} = -0,050$** Para k = 1,  $f(1) = (\sigma^2/10)$ Para k = 2,  $f(2) = (\sigma^2/10) 0,95$ Para k = 5,  $f(5) = (\sigma^2/10) 0,80$ Para k = 10,  $f(10) = (\sigma^2/10) 0,55$ 

De modo geral, o mínimo se daria para k = N ou r = 1, mas com duas restrições:

a) Deve-se ter  $[1 + (k - 1) \hat{\rho}] \geq 0$ .

b) Deve haver um número considerável de repetições  $r \geq 2$ , que permita obter um número razoável de graus de liberdade para o resíduo, pelo menos dez, para que se tenha bons resultados.

Rossetti et al. (1991) e Rossetti et al. (1996) mostraram que o coeficiente de correlação intraclasse  $\hat{\rho}$ , em experimentos de campo com cajueiro varia entre 0,0883 e 0,1361.

Tomando-se, por exemplo,  $\hat{\rho} = 0,0983$ , num experimento com bordadura simples ou completa (b = 1) entre as parcelas. É possível passar-se de um experimento com k = 20 plantas úteis em n = 4 fileiras, para outro com k' = 6 plantas úteis em n' = 2 fileiras, sem mudar a variância da média de cada tratamento, cuja relação entre as áreas será:

$$\frac{A'}{A} = \frac{4,97167}{6,02217} = 0,82 = 82\%. \text{ Isto é : } A' = 82\% A.$$

O segundo experimento, de área (A') ocuparia 82% da área (A), do primeiro.

Há, portanto, uma economia de 18% da área, sem perda de precisão para o experimento.

No caso vertente, os número K e K' de plantas por parcela serão, respectivamente:

$$K = (n + 2) \left( \frac{k}{n} + 2 \right) = (4 + 2) \left( \frac{20}{4} + 2 \right) \quad K = 42$$

$$K' = (2 + 2) \left( \frac{6}{2} + 2 \right) \quad K' = 20$$

Portanto:

$$\frac{r'}{r} = \frac{K}{K'} \times \frac{A'}{A} = \frac{42}{20} \times 0,82 = 1,722.$$

Logo  $r' = 1,722r$ . Se o experimento com k = 20 plantas úteis tiver cinco repetições (r = 5), o experimento com k' = 6 plantas úteis por parcela deverá ter  $r' = 1,722 \times 5 = 8,61$ , isto é, oito ou nove repetições.

Note-se que mesmo aumentando-se o número de

repetições, o total de plantas no tratamento será reduzido de  $N = 5 \times 42 = 210$  para  $N' = 8 \times 20 = 160$ , com redução efetiva de 23,8% ou 14,3% no número de plantas necessárias, para o novo experimento, conforme se utilize r = 8 ou r = 9 repetições. Verifica-se que, com o aumento do número de repetições usando parcelas pequenas houve diminuição da área do experimento, do número de plantas necessárias, portanto dos custos operacionais. Além disso, obteve-se maior precisão experimental, pois, no segundo

caso, o coeficiente de variação  $CV_2 = \frac{\sigma}{m} 8,47\%$

e no primeiro,  $CV_1 = \frac{\sigma}{m} 20,35\%$ .

Na prática, entretanto, há, às vezes, restrições que impedem o uso do número desejável de repetições, sendo a mais comum relativa à área total do experimento. Assim sendo, a alternativa sugerida neste trabalho, para aumentar o número de repetições e a eficiência dos experimentos, reduzindo, ao mesmo tempo, a quantidade de plantas necessárias e a área experimental, permite maior precisão à pesquisa agrônômica de campo, com o cajueiro e outras plantas perenes arbóreas, com custos mais reduzidos.

## Conclusões

1. Nos experimentos de campo com cajueiro ou qualquer outra perene arbórea, a diminuição da variância da média de cada tratamento é obtida pelo uso de parcelas pequenas.
2. Maior número de repetições com parcelas pequenas possibilita diminuir o tamanho da área experimental e o número de plantas necessárias no experimento, reduzindo os custos da pesquisa.
3. Maior número de repetições com parcelas pequenas permite aumentar a precisão do experimento, das estimativas do erro experimental, dos parâmetros e dos efeitos de tratamentos, propiciando maior confiabilidade aos resultados da pesquisa.

## Literatura Citada

- BANZATTO, D. A. e KRONKA, S. do N. 1995. Experimentação agrícola. 3. ed. Jaboticabal, FUNEP/ FCAV/ UNESP.
- DAGNELIE, P. 1975. Théorie et méthodes statistiques. Paris, Press Agronomiques de Gembloux. v.2.
- PEARCE, S. C. 1971. Field experimentation with fruit trees and other perennial plants. England East

- Malling CAB. Technical Communication 23. 183p.
- PIMENTEL GOMES, F. 1990. Curso de estatística experimental. Piracicaba, Nobel. 468p.
- PIMENTEL GOMES, F. 1984. O problema do tamanho das parcelas em experimentos com plantas arbóreas. Pesquisa Agropecuária Brasileira 19(12):1507-1512.
- ROSSETTI, A. G. 1994. Planejamento de experimentos de nutrição e adubação com plantas perenes arbóreas. Fortaleza, Embrapa-CNPAT. Documentos, 13. 50p.
- ROSSETTI, A. G. e PIMENTEL GOMES, F. 1983. Determinação do tamanho ótimo de parcelas em ensaios agrícolas. Pesquisa Agropecuária Brasileira 18(5): 477-487.
- ROSSETTI, A. G. and PIMENTEL GOMES, F. 1987. A method for the determination of optimum plot size in experiments with rubber tree (*Hevea*). Journal of Natural Rubber Research 2(3):135-141.
- ROSSETTI, A. G. et al. 1991. Tamanho ótimo de parcela para experimentos com cajueiro comum. Revista Brasileira de Fruticultura 13(2): 117-122.
- ROSSETTI, A. G., BARROS, L. de M. e ALMEIDA, J. I. L. de. 1996. Tamanho ótimo de parcelas para experimentos de campo com cajueiro anão precoce. Pesquisa Agropecuária Brasileira 31(12): 843-852.
-

## AVALIAÇÃO PRELIMINAR DE CLONES DE COPA DE SERINGUEIRA

*Vicente H. de F. Moraes*

Embrapa Amazônia Ocidental, Km 29 da AM-010, Caixa Postal 319, 69011-970, Manaus, Amazonas, Brasil.

Vinte clones de copa foram testados sobre o clone de painel CNS AM 7905. Esses clones foram obtidos de *Hevea pauciflora* e de híbridos dessa espécie com *H. rigidifolia* ou *H. guianensis* var. *marginata*, visando à seleção de copas menos volumosas, com maior aptidão ao pegamento na enxertia e menor efeito depressivo sobre a produção de borracha. Aos doze meses após a enxertia de copa foi avaliado o efeito dessas copas sobre o crescimento do tronco e a duração do escoamento do látex. Nas mesmas plantas, aos três anos e meio de idade, foi realizado um teste precoce de produção de borracha, durante seis meses. A correlação entre a duração do escoamento e a produção de borracha foi baixa ( $r = 0,46$ ), devido à prolongação do escoamento pela estimulação da sangria. Porém os resultados permitiram destacar que os valores mais altos de escoamento e produção foram observados em quatro clones de copa híbridos *H. pauciflora* x *H. rigidifolia* e três híbridos *H. pauciflora* x *H. guianensis* var. *marginata*, indicando a possibilidade de maiores produções no futuro. Por outro lado, o maior incremento do caule sobre CPAA C 14 e CPAA C 16 sugere também a possibilidade de redução do período de imaturidade. A sangria durante seis meses permitiu evidenciar secamento total do painel sob as copas CPAA C 11 e CPAA C 17.

**Palavras-chave:** *Hevea* spp., híbridos interespecíficos, enxertia de copa, mal-das-folhas.

**Preliminary evaluation of crown clones of rubber tree.** Twenty crown clones were tested on the panel clone CNS AM 7905. These clones were obtained from *Hevea pauciflora* and from crosses of this species with *H. rigidifolia* or *H. guianensis* var. *marginata*, to select crown clones with less bulky crowns, higher buddability, higher trunk girthing and lower depressive effect on rubber yield. The effect of the budded crowns on initial girthing and duration of latex flow was evaluated at twelve months after the crown budding. At three and a half years of age the same plants were, used in an early tapping test. The correlation between duration of flow and rubber yield was low ( $r = 0,46$ ) due to the prolongation of latex flow with stimulation in the tapping test. The results however, highlighted higher values of duration of flow and yield in four hybrids *H. pauciflora* x *H. rigidifolia* and three *H. pauciflora* x *H. guianensis* var. *marginata*, which suggests the possibility of higher yields. The higher girthing under CPAA C 14 and CPAA C 16 suggests, moreover, the possibility of reduction of the immaturity period. Tapping during six months induced total tapping panel dryness under the crowns CPAA C 11 and CPAA C 17.

**Key words:** *Hevea* spp., interspecific hybrids, crown budding, South America Leaf Blight.



## Introdução

Do cruzamento entre clones de *Hevea pauciflora* com clones de *H. rigidifolia* e *H. guianensis* var. *marginata*, foram obtidos 737 ortets, em 1993 e 1994, na Embrapa Amazônia Ocidental, visando à obtenção de copas menos volumosas que as de *H. pauciflora*, de maior aptidão ao pegamento da enxertia e com o mesmo grau de resistência ao mal-das-folhas (*Microcyclus ulei*) dos clones de *H. pauciflora*. Nessa mesma época, foram também obtidos 60 ortets do cruzamento entre os clones de *H. pauciflora*, CNS AM 7745, que se destaca pelo grande número de anéis de laticíferos do caule, e CBA 1, pela alta aptidão ao pegamento da enxertia.

A escolha dessas duas espécies, para hibridação com *H. pauciflora*, foi baseada no menor volume e no formato elíptico das copas, observados no material da coleção da Embrapa Amazônia Ocidental, no alto grau de resistência ao *M. ulei* e na alta percentagem de pegamento da enxertia, verificada durante a sua propagação. Trata-se de espécies que ocorrem em solos extremamente pobres de nutrientes, devendo, segundo Janzen (1974), apresentar alto grau de resistência a patógenos e insetos predadores.

*H. rigidifolia* é encontrada nas chamadas “caatingas” ou “campinaranas” do alto rio Negro e *H. guianensis* var. *marginata* ocorre em áreas de pequena extensão de podzol hidromórfico. O material da coleção de Manaus foi obtido de pequena área com esse tipo de solo, à altura do km 350 da rodovia BR 174 (Manaus-Boa Vista).

O objetivo do presente trabalho foi o de avaliar o efeito de 15 desses clones interespecíficos, comparados a 5 clones de *H. pauciflora*, como copas enxertadas, sobre crescimento do caule, a produção precoce e a duração do escoamento do látex, tendo em vista a pré-seleção de copas resistentes mais promissora em termos de produção de borracha e incremento em perímetro do caule.

## Material e Métodos

### 1. Teste precoce do efeito das copas enxertadas sobre a duração do escoamento do látex

Foram adotados os procedimentos propostos por Moraes e Moraes (1996), porém com um só clone de painel, o CNS AM 7905, em ensaio com delineamento em blocos ao acaso, com 5 plantas por parcela e 3 repetições.

A enxertia de base foi feita no local definitivo, em porta-enxertos de *H. brasiliensis*, no espaçamento de 2,0 x 1,5 m, em janeiro de 1995. A enxertia de copa foi feita aos 10 meses após, a 75 cm da união do enxerto de base, sendo feita, à mesma época, a medição do diâmetro do caule, a 50 cm da união do enxerto de base.

Em novembro de 1996, aos 12 meses após a enxertia

de copa, foi determinada a duração de escoamento do látex e feita nova medição do diâmetro do caule, de acordo com Moraes e Moraes (1996). Os contrastes entre as médias dessas variáveis foram avaliados pelo teste de Tuckey.

Foram testados os clones CPAA C 14, 16 e 20, híbridos *H. pauciflora* x *H. guianensis* var. *marginata*; CPAA C 11, 12, 17, 26, 27, 29, 31, 32, 33, 34, 36 e 37, híbridos *H. pauciflora* x *H. rigidifolia* e CPAA C 23 e 24, do cruzamento entre os clones de *H. pauciflora* CNS AM 7745 e CBA 1.

Foram também incluídos 2 clones primários de *H. pauciflora* (CNS G 120 e 121) ainda não testados como copas enxertadas em plantas adultas, e o CNS G 118, também de *H. pauciflora*, que combinado ao Fx 4098, atingiu a produção de 1.600 kg/ha de borracha seca, no 4º ano de sangria.

### 2. Produção de borracha seca em sangria precoce

As mesmas plantas, utilizadas para avaliação da duração do escoamento do látex, foram mantidas no campo e aos três anos e meio de idade avaliou-se a produção de borracha seca. A sangria em meia espiral foi realizada na frequência de duas vezes semanais, durante seis meses consecutivos, à altura de 60 cm do ponto de união do enxerto de base. Foram feitas, bimestralmente, estimulações com etefon 2,5%. O perímetro do caule foi medido à altura inicial do painel de sangria. Os contrastes entre as médias dos seis meses de produção de borracha e do perímetro do caule foram avaliados pelo teste de Tuckey.

Ao final dos seis meses de sangria, foi determinada a percentagem do comprimento de corte seco, de acordo com Ditinger, Nicolas et Nouy (1981).

Como as aplicações de fungicidas no CNS AM 7905 com copa própria haviam sido suspensas desde a medição da duração do escoamento, as plantas tiveram crescimento muito lento e não foram sangradas.

### 3. Correlação linear

A correlação linear entre os dados de duração do escoamento do látex e os de produção de borracha na sangria precoce foi determinada com a exclusão dos clones de copa CPAA C 11 e 17, que apresentaram secamento total do painel de sangria.

## Resultados e Discussão

### 1. Efeito das copas sobre a duração do escoamento do látex e incremento do caule

Os clones de copa CPAA C 26 e 27 destacaram-se pela maior duração do escoamento, não diferindo significativamente do clone de painel com copa própria (Quadro 1). Os clones CPAA 36, 17 e 24 não diferiram

Quadro 1 – Duração do escoamento do látex e incremento em diâmetro do caule, do painel CNS AM 7905, aos 12 meses após a enxertia com diferentes clones de copa.

Clones de copa	Duração de escoamento (minutos)	Incremento do caule (mm)	Cruzamentos
CNS AM 7905	9,35 a	5,7 c	(painel com copa própria)
CPAA C 26	8,48 a	8,1 bc	CNS AM 7745 <sup>(1)</sup> x CNS AM 8105 <sup>(2)</sup>
CPAA C 27	8,17 a	5,9 c	CNS AM 7745 x CNS AM 8105
CPAA C 36	6,92 ab	7,1 bc	CNS G 124 <sup>(1)</sup> x CNS AM 8105
CPAA C 17	6,86 ab	6,8 bc	H. pauc. Col. esp. <sup>(3)</sup> x CNS AM 8105
CPAA C 24	6,25 ab	10,9 ab	CNS AM 7745 x CBA a <sup>(1)</sup>
CPAA C 20	6,08 b	9,8 ab	Hgm 1 <sup>(4)</sup> x CNS G 112 <sup>(1)</sup>
CPAA C 16	6,08 b	10,8 ab	CNS G 112 <sup>(1)</sup> x Hgm 1
CPAA C 14	6,04 b	13,0 a	Hgm a x CNS G 112
CPAA C 33	6,00 bc	6,1 c	CNS G 124 <sup>(1)</sup> x CNS AM 8105
CPAA C 34	5,35 bc	7,0 bc	CNS AM 7745 x AM 8105
CPAA C 11	5,35 bc	5,7 c	H. pauc. Col. esp. x CNS 8105
CPAA C 23	5,09 bc	6,1 c	CNS AM 7745 x CBA 1
CPAA C 32	5,09 bc	5,9 c	CBA 1 x CNS AM 8105
CPAA C 29	4,95 bc	7,9 bc	CNS AM 7745 x CNS AM 8105
CPAA C 31	4,58 c	5,8 c	CBA 1 x CNS AM 8105
CNS G 120	4,33 c	7,7 bc	Seleção primária <i>H. pauciflora</i>
CNS G 121	4,33 c	9,2 b	Seleção primária <i>H. pauciflora</i>
CPAA C 12	4,23 c	5,6 c	CNS AM 8105 x <i>H. pauc.</i> Col. esp.
CPAA C 37	4,14 c	9,2 b	CNS G 124 x CNS AM 8105
CNS G 118	4,02 c	7,7 bc	Seleção primária <i>H. pauciflora</i>

<sup>(1)</sup> = *H. pauciflora*; <sup>(2)</sup> = *H. rigidifolia*; <sup>(3)</sup> = *H. pauciflora* da coleção Baldwin, do antigo IAN, propagada por enxertia e introdução na coleção de espécie de Hevea do antigo CNPSD; <sup>(4)</sup> = *H. guianensis* var. *marginata*.

Valores das colunas “Duração do escoamento” e “Incremento do caule” seguidos por mesmas letras, não diferem significativamente pelo teste de Tuckey a 5%

significativamente do painel com copa própria, nem dos clones CPAA C 20, 16, 14, 34, 11, 23, 32 e 29. Os clones primários de *H. pauciflora* CNS G 118, 120 e 121 situaram-se entre os de menor duração do escoamento.

Os maiores incrementos do caule foram sob as copas CPAA C 14, 16 e 20, híbridos *H. pauciflora* x *H. guianensis* var. *marginata*, e CPAA C 24, obtido do cruzamento entre clones de *H. pauciflora*.

Os dados de escoamento confirmam que o efeito das copas enxertadas pode ser detectado 12 meses após a enxertia, conforme descrito por Moraes e Moraes (1996).

## 2. Resultados do teste de sangria precoce

As médias mais altas de produção foram obtidas sob as copas CPAA C 20, 27, 36, 33, 26, 16 e 14 (Quadro 2). As testemunhas de *H. pauciflora*, CNS G 118, 120 e 121 situaram-se entre as copas de produção intermediária. As produções mais baixas foram sob as copas CPAA C 11 e 17, em que ocorreu secamento completo do painel de sangria. Ocorreu secamento parcial do painel de sangria sob as copas CPAA C 33, 14, 12, 32 e 34.

Nos clones CPAA C 12, 14, 32, 33 e 34, em que houve secamento parcial do painel, os desvios das percentagens de secamento entre as repetições foram muito grandes, inviabilizando a análise estatística, que exigiria parcelas com maior número de plantas.

Nos testes precoces de produção, em seringueiras de cerca de 3 anos, tem sido utilizado normalmente o teste HMM, cuja correlação com a produção de plantas adultas tem sido demonstrada em várias condições (Dijkman, 1939; Clément-Demange e Nicolas, 1987; Marques e Gonçalves, 1990). Entretanto, a aplicação desse teste, nas combinações copa/painel; em estudo, não teria revelado a particularidade importante do secamento total do painel de sangria sob as copas CPAA C 11 e 17, uma vez que, com os intervalos de repouso entre períodos curtos de sangria, do teste HMM, não é feita grande solicitação de esforço metabólico dos

laticíferos. Para provocar maior demanda dos laticíferos, foi adotado teste com 6 meses de sangria contínua, na frequência d/3, semelhante ao proposto por Dintinger, Nicolas e Nouy (1981), porém com aplicação bimensal de etefon a 2,5%.

Os clones CPAA C 11 e 17 são os únicos oriundos do cruzamento do clone de *H. pauciflora* da coleção Baldwin, com pólen de *H. rigidifolia*, o que sugere que a indução ao secamento do painel de sangria está associado à sua constituição genética, provavelmente herdada da *H. pauciflora* da coleção Baldwin. A determinação das características dessas copas associadas à indução do secamento deverá fornecer informações de interesse para esclarecimento das próprias causas do secamento. Merece destaque o fato de o secamento total do painel ter ocorrido com apenas dois meses de sangria sob o CPAA C 17 e com três meses sob o CPAA C 11. Esse fato indica ser pouco provável que o esgotamento fisiológico tenha sido a causa do secamento.

As copas sob as quais houve maior incremento do caule no teste de escoamento (Quadro 1) correspondem

Quadro 2 – Perímetro do caule mensal, produção média de 6 meses de sangria e percentagem de comprimento de corte seco, ao final do 6º mês. Paineis CNS AM 7905, com diferentes copas enxertadas a 75 cm de altura. Sangria em 1/2S, 6d/7 com aplicação de etefon 2,5% a cada 2 meses, a partir do 1º mês.

Clone de copa	Perímetro do caule (cm)	Produção em grama/árvore/sangria						Prod. média	% de corte seco
		1998			1999				
		Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar		
CPAA C 20	25,0 ab	4,87	4,73	7,89	5,83	7,37	6,14	6,14a	0
CPAA C 27	21,3 c	4,01	4,05	6,22	5,11	8,80	7,12	5,89 a	0
CPAA C 36	21,0 c	4,13	7,67	5,33	6,12	4,80	4,96	5,50 a	0
CPAA C 33	22,4 bc	4,50	5,10	6,30	5,15	6,10	5,83	5,50 a	15
CPAA C 26	20,9 c	4,25	4,50	6,93	6,48	5,45	5,10	5,45 a	0
CPAA C 16	27,1 a	4,01	4,05	6,22	5,11	5,27	6,08	5,12 a	0
CPAA C 14	27,5 a	3,16	4,86	6,67	5,33	5,23	5,36	5,19 a	25
CPAA C 23	24,5 ab	3,75	4,00	6,83	4,95	5,20	4,78	5,08 b	0
CNS G 121	23,0 bc	3,75	3,00	4,67	5,33	7,20	6,15	5,02 b	0
CNS G 118	22,7 bc	3,12	6,00	4,17	5,75	5,60	4,85	4,92 b	0
CPAA C 12	20,7 c	3,00	4,78	5,42	4,18	6,10	5,43	4,82 b	35
CPAA C 37	22,8 bc	2,62	5,50	6,17	5,30	4,20	4,21	4,67 b	0
CPAA C 24	25,2 ab	2,56	3,50	5,33	7,92	6,20	5,25	4,25 bc	0
CNS G 120	21,4 c	2,31	2,47	5,20	4,08	5,75	4,82	4,10 bc	0
CPAA C 31	22,3 bc	2,25	5,33	3,17	2,85	3,80	3,75	3,53 c	0
CPAA C 32	22,1 bc	1,62	2,33	3,33	3,15	3,40	2,87	2,78 c	10
CPAA C 34	20,0 c	2,37	2,36	3,17	2,85	2,20	3,14	2,68 c	10
CPAA C 29	23,3 bc	1,50	1,29	1,67	2,17	1,00	0,85	1,41 d	0
CPAA C 11	22,8 bc	1,12	0,70	1,70	0,0	0,0	0,0	0,59 d	100
CPAA C 17	23,2 bc	1,27	0,57	0,0	0,0	0,0	0,0	0,31 d	100

Valores das colunas “Produção média” e Perímetro do caule” seguidos por mesmas letras, não diferem significativamente pelo teste de Tuckey a 5%. Os dados de % de corte seco representam as médias dos tratamentos, sem análise de variância.

## Conclusões

1. Como nos procedimentos usuais para a seleção de clones de seringueira, os testes precoces em seringueiras com copas enxertadas também permitem identificar as combinações copa/painel mais promissoras quanto ao crescimento do caule e a produtividade de borracha.
2. A sangria sem intervalos de repouso, em testes precoces de produtividade, pode por em evidência as combinações copa/painel mais suscetíveis ao secamento do painel. O mesmo deve ser aplicável aos testes de clones com copa própria
3. Os dados de crescimento do tronco sob diferentes copas indicam a possibilidade de redução do período de imaturidade, com o uso de copas que proporcionem crescimento mais rápido.

## Literatura Citada

em geral, as de maior perímetro do caule aos três anos e meio (Quadro 2).

### 3. Correlação entre os dados de escoamento e de produção em sangria precoce

O coeficiente de correlação foi baixo ( $r = 0,463$ ), significativo a 5%. A baixa correlação deve ser atribuída em grande parte ao efeito da estimulação na sangria precoce, que causou aumento da produção sob copas, como CPAA C 14, 16, 20 e 33, que apresentaram valores médios de duração do escoamento, sem estimulação. Deve, porém, ser ressaltado que a seleção, feita apenas com base no efeito sobre o escoamento, incluiria os clones CPAA C 14, 16, 20, 26, 27 e 33, postos em destaque na sangria precoce mas não descartaria os clones CPAA C 17 e 24, com baixa classificação nesse teste.

A associação desses dois testes apresenta a vantagem de identificação em curto prazo das combinações copa/painel com maior duração do escoamento e que devem exigir menor intensidade de estimulação em sangria comercial, bem como das combinações com maior potencial de produção e menor suscetibilidade ao secamento do painel

- CLÉMENT-DEMANGE, A. et NICOLAS, D. 1987. Amélioration génétique de l'Hevea. *Révue Générale des Caoutchoucs et Plastiques* 668: 119-116.
- DIJKMAN, M. J. 1939. Verdere resultaten den Heveaselectie in Weste Java. *Der Bergcultures* 13: 492-503.
- DINTINGER, J., NICOLAS, D. et NOUY, B. 1981. Nouveau Criteres de selection precoce de l'Hevea: Definition et premiers resultats. *Révue Générale des Caoutchoucs et Plastiques* 58 (609): 85-91.
- JANZEN, O. H. 1974. Tropical blackwater, rivers, animals and mast fruiting by the dipterocarpaceae. *Biotropica* (Brasil) 6(1): 49-103.
- MARQUES, J. R. B. e GONÇALVES, P. de S. 1990. Testes precoces de produção na seleção de plantas de seringueira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 25 (2): 1065-1077.
- MORAES, V. H. de F. e MORAES, L. A. C. 1996. Seleção precoce de clones de copa e de painel de seringueira para experimentos de avaliação de clones com copas enxertadas. *Agrotrópica* (Brasil) 8(1): 23-26. ●

## **POLIPLOIDIA EM SERINGUEIRA: III - ESTUDO COMPARATIVO ENTRE CLONES DIPLÓIDES E NOVOS POLIPLÓIDES PUTATIVOS EM CONDIÇÕES DE JARDIM CLONAL**

*José Raimundo Bonadie Marques<sup>1</sup>, Wilson Reis Monteiro<sup>1</sup> e Vicente H. de F. Moraes<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>CEPLAC/Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), Caixa Postal 7, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil.

<sup>2</sup>Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/Centro de pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental (EMBRAPA/CPAA), Caixa Postal 319, 69011-970, Manaus, Amazonas, Brasil.

Produção de borracha e o vigor das plantas foram avaliadas em clones putativos de *Hevea brasiliensis* (Fx 3864 pl e Fx 985 pl). A primeira delas aconteceu ainda em fase juvenil, aos 30 meses de idade de campo, empregando-se o teste HMM-modificado. Foi constatada a superioridade dos clones poliploidizados em relação aos diplóides para todas as características avaliadas. Na segunda avaliação, os clones poliploides não mantiveram o mesmo comportamento observado na primeira avaliação, mostrando-se no mesmo nível dos clones diplóides. Estes resultados, associados aos obtidos nas análises citogenéticas, evidenciam a dificuldade em obter poliplóides estáveis em seringueira, independentemente da técnica de poliploidização utilizada. Há, ainda, indícios de ocorrência de mixoploidia seguida de uma provável reversão à condição diplóide, fato este que pode ser atribuído à velocidade de multiplicação das células de tecidos com nível menor de ploidia.

**Palavras-chave:** *Hevea brasiliensis*, clones poliploides, poliploidia induzida, anfidiplóide natural

**Polyploidy in rubber tree: III - comparative study among diploid and the new putative polyploids clones under the conditions of clonal garden.** Rubber production and vigour of the plants were measured in putative clones of *Hevea brasiliensis* (Fx 3864 pl and Fx 985 pl). The first evaluation of production occurred in the juvenile phase (30 months of field age) by using the HMM-modified test. A superiority of the polyploid clones in relation to the diploids was observed for all the appraised characteristics. In the second evaluation, the polyploids did not keep the superiority observed in the first evaluation, presenting similar performance as the diploid clones. These results, associated to those of cytogenetics analysis, give evidence of the difficulty in obtaining stable poliploids in rubber trees, independently of the polyploidization technique utilised. There is, still, indications of mixoploidy occurrence followed by a probable reversion of the diploid condition, fact this that can be attributed to the speed of multiplication of the cells in the tissues with smaller level of ploidy.

**Key words:** *Hevea brasiliensis*, clones polyploids, induced polyploidy, natural amphidiploid



## Introdução

A poliploidia induzida tem sido utilizada em seringueira [*Hevea brasiliensis* (Willd. ex. adr. de Juss.) Muell. Arg.] no sentido de desenvolver clones com maior produtividade. Esta linha de pesquisa há muito tempo já vem sendo explorada (Mendes e Mendes, 1963), dado o potencial desta técnica em aumentar o diâmetro dos tubos crivados e o número de anéis dos vasos laticíferos e a constatação de alta correlação entre estes caracteres e a produção de látex (Gunnery, 1935).

Os primeiros clones poliploidizados, série IAC, apresentaram alterações morfológicas e de ordem arquitetural que levaram à suspeita de possíveis efeitos advindos de mixoploidia (Santos et al., 1987; Marques e Monteiro, 1997). Em estudos mais recentes ficou comprovado que a mixoploidia realmente ocorreu, sendo portanto responsável pelas anomalias mencionadas (Pagliarini et al., 1992). Por essa razão, Moraes (1982) percebeu a necessidade do refinamento da técnica de indução de poliploidia inicialmente adotada, visando assim a obtenção de poliplóides normais. Com isso, novos clones comerciais de seringueira da série Fx foram poliploidizados no Centro de Pesquisa Agroflorestral da Amazônia (CPAA). Alguns exemplares desses clones estão em processo de avaliação em nível de campo e em laboratório quanto à precocidade, produção em condições de árvores adultas, qualidade da borracha, regeneração de casca, reação à doenças, entre outros.

Dando continuidade às avaliações desses poliplóides, no presente trabalho procurou-se analisar os dados de produção de borracha em duas fases de desenvolvimento dos clones (juvenil e adulta), bem como dos caracteres relacionados ao vigor, no sentido de buscar subsídios que justifiquem o prosseguimento de ações dentro desta mesma linha de pesquisa.

## Materiais e Métodos

Em condições de jardim clonal foi desenvolvido um ensaio exploratório envolvendo os clones diplóides comerciais Fx 985 e Fx 3864 e aqueles obtidos por poliploidização, ou sejam, o Fx 985 pl e o Fx 3864 pl (Moraes, 1982). As plantas poliploidizadas foram propagadas vegetativamente e, posteriormente, introduzidas na coleção de germoplasma da Estação Experimental Djalma Bahia (EDJAB), Una, BA, que se localiza entre os paralelos 15°17'34" e 30°04'38", a 14 m de altura acima do mar, temperatura média anual de 23,6°, umidade relativa média anual de 84% e precipitação média anual entre 1990 a 2100 mm.

O plantio foi realizado a partir de mudas enxertadas

de raízes nuas, em linhas, no espaçamento de 1,5 m x 1,5 m entre plantas. Trinta meses após o plantio fez-se a primeira avaliação do comportamento destes materiais, considerando-se os caracteres de vigor - expresso pela circunferência do caule (CC) e espessura de casca (EC) - e produção precoce de borracha, mediante à aplicação do teste HMM-modificado (Tan & Subramanian, 1976). As médias destes caracteres foram comparadas entre diplóides e poliplóides do mesmo clone pelo teste *t*. Na segunda avaliação, iniciada seis anos após à realização do teste precoce, além da mensuração da circunferência do caule, medida a 0,80 cm do solo, essas plantas foram submetidas a sangria, no sistema ½ S, D/2, 6D/7, por um período de 15 meses.

## Resultados e Discussão

### Primeira Avaliação

Os resultados preliminares de avaliação (Quadro 1) mostram o comportamento dos clones em termos de produção de borracha seca. Entre os clones poliploidizados, o Fx 3864 pl apresentou, nos três ciclos do teste HMM-modificado, uma produção média de 9,88 g, superando em muito a produção do Fx 985 pl, cuja média registrada foi de 1,90 g. Estes valores representam acréscimos da ordem de 33,37 e 1,18 vezes em relação aos clones diplóides que obtiveram, respectivamente, produções de 2,62 e 1,16 g. Comparando-se os poliploides putativos com os respectivos clones diplóides verifica-se que apenas o Fx 3864 pl mostrou-se significativamente mais produtivo. Esta mesma tendência de superioridade dos clones poliploidizados, em relação aos respectivos diplóides, foi também comprovada por outros autores, através da aplicação do miniteste de produção (Mendes, 1971; Pinheiro, Pinheiro e Conceição, 1982).

A análise dos resultados sobre a circunferência do caule e de espessura da casca (Quadro 1), mostra também que estas características foram superiores nos clones poliploidizados. Com relação aos respectivos diplóides verifica-se que houve apenas aumentos significativos em espessura de casca para o Fx 985 pl e em circunferência do caule para o Fx 3864 pl. Analisando-se os valores dos coeficientes de variação (C.V.%) dentro de clone, nota-se que os menores percentuais foram observados para os caracteres relacionados com o vigor. Por sua vez, a produção de borracha é um caráter mais influenciado por fatores ambientais, o que é comprovado pelo alto valor de CV.

### Segunda Avaliação

Procurando-se conhecer um pouco mais sobre o comportamento produtivo desses clones, avaliou-se,

Quadro 1. Médias e coeficientes de variação de circunferência do caule, espessura da casca e produção de borracha seca, coletados a altura de 20 cm do solo, de clones de seringueira diplóides (d) e poliplóides (p1). EDJAB, Una, Ba. 2000.

Clones	Plantas n°	Circunferência do caule (cm)		Espessura de casca (mm)		Produção de borracha (g/planta)	
		Média	CV%	Média	CV %	Média	CV %
Fx 3864 p1	10	22,00 a	12,86	3,55 a	13,62	9,88 a	24,42
Fx 3864 d	5	18,66 b	7,10	3,16 a	13,16	2,62 b	31,47
Fx 985 p1	5	19,20 a	8,14	3,14 a	8,60	1,90 a	33,41
Fx 985 d	6	18,00 a	7,03	2,67 b	14,94	1,61 a	25,50

Obs: Na vertical, as comparações foram feitas entre diplóides e poliplóides no mesmo clone. As médias acompanhadas com mesma letra não diferem entre si pelo teste *t* a 5%.

também, a produção de látex, seguindo os mesmos critérios adotados para entrada em sangria de árvores adultas. O espaçamento reduzido (1,5 m x 1,5 m) certamente deve ter influenciado no desenvolvimento vegetativo das plantas, em razão dos efeitos de competição, conforme ficou evidenciado pelos resultados de circunferência do caule nos clones Fx 3864 p1 (35,67 cm) e Fx 985 p1 (33,71 cm), que foram medidos por ocasião da abertura dos painéis. Para fins de comparação, tomou-se os resultados de produção observados para estes mesmos clones diplóides cultivados experimental e comercialmente em diferentes condições edafo-climáticas da faixa litorânea do Estado da Bahia. Nota-se que as produções dos clones poliploidizados foram, de modo geral, inferiores às dos clones diplóides (Quadro 2). Isto se justifica pelo fato deles não representarem verdadeiros poliplóides, conforme demonstrado através de análise citogenética (Forli, Pagliarini e Marques, 1998). Além disso, há que se considerar as diferenças na densidade de plantio e os efeitos ambientais, desde que as produções foram obtidas em locais e em anos diferentes. Comportamento similar já havia sido anteriormente observado e relatado para outros clones poliploidizados (Marques e Monteiro, 1997), em que a produção na fase juvenil desses clones foi significativamente superior à dos diplóides, enquanto que na fase adulta essa tendência não foi mantida.

## Considerações Gerais

As mudanças no comportamento produtivo dos clones submetidos à poliploidização podem ser cientificamente explicadas. Uma das prováveis explicações seria a ocorrência de mixoploidia nos tecidos desses clones, associado ao fato que células normais diplóides se duplicarem mais rapidamente que as outras com maior nível de ploidia. Isso justifica as produções maiores na fase

juvenil, em razão da existência de tecidos com diferentes níveis de ploidia, mas com o desenvolvimento da planta há uma prevalência dos tecidos diplóides normais. Assim essa reversão progressiva ao estado diplóide fica bem evidenciada pelas produções obtidas na fase adulta, bem como através dos estudos citogenéticos realizados por Forli, Pagliarini e Marques (1998). A outra explicação pode estar associada às sucessivas induções de brotações, por ocasião do tratamento com colchicina, que teriam provocado também formação de calos e uma reprodução acelerada de células. Esse comportamento, relatado por Bandel (1980) em árvores de sibipiruna, mostrou que esta espécie, quando podadas, davam origem à produção de calos e, conseqüentemente, a brotações poliplóides que posteriormente se revertiam à condição diplóide.

Existem evidências que mostram ser a seringueira um anfidiplóide natural com  $2n=36$ , resultante do

Quadro 2. Produção (g) de borracha seca de clones de seringueira poliploidizados e diploides em diferentes localidades da faixa litorânea do Estado da Bahia. 2000

Localidades	Ano de plantio	Início de sangria	Produção (g) dos clones poliploidizados				Produção (g) dos clones diploides			
			Fx 985 p1		Fx 3864		Fx 3864 d		Fx 985 d	
			Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano	Ano
			1	2	1	2	1	2	1	2
EDJAB <sup>(2)</sup>	1988	1994	5,46	5,62	19,82	19,25	-	-	-	-
EDJAB <sup>(3)</sup>	1972	1982	-	-	-	-	10,81	21,24	24,31	26,66
Fazenda Ondulada <sup>(4)</sup>	1965	1972	-	-	-	-	26,00	22,80	-	-
Fazenda 3 Pancadas <sup>(5)</sup>	1956	1964	-	-	-	-	8,70	14,90	15,40	23,10
Fazenda Batalha <sup>(6)</sup>	1982	1989	-	-	-	-	14,58	20,83	11,11	17,36

(1) Nota: todas as produções foram obtidas através do sistema de sangria S/2, D/2, 6/7 D.

(2) As produções dos anos 1 e 2 foram baseadas em nove e seis meses, respectivamente.

(3) Fonte: Marques et al. (1988)

(4) Fonte: Sena Gomes et al. (1983)

(5) Fonte: Dunham et al. (1983)

(6) Fonte: Virgens Filho et al. (1996)

cruzamento entre duas espécies afins com  $n=9$  cromossomos. Cheng (1983) mostrou a ocorrência de células com  $n = 9$  cromossomos o que vem suportar esta origem. Há também outros relatos publicados sobre estudos meióticos em poliplóides em que se observou células com número  $2n$  de cromossomos variando de 36 a 72 (Ong, 1980; Gonçalves et al. 1983). Mais recentemente extraiu-se o DNA de alguns clones normais (diplóides) das séries SIAL e Fx e a quantidade de DNA por célula tem sido observada ser muito grande para um clone diplóide (Araújo et al., 2000; Marques et al., 2000), o que reforça a condição estável de alotetraplóides. Assim sendo, a poliploidização desses indivíduos poderia ser um procedimento contrário ao da evolução natural, pois seria muito difícil alcançar uma estabilidade genética e adaptativa.

### Conclusões

O desempenho produtivo dos clones poliplóides putativos Fx 3864 p1 e Fx 985 p1 não está sendo mantido através do tempo. A princípio isto indica que a técnica de poliploidização utilizada necessita de maior refinamento para a obtenção poliplóides mais uniformes. Todavia, há também que se considerar que dada a possível natureza anfidiplóide da seringueira uma grande instabilidade genética é esperada em qualquer poliplóide induzido. Isto reforça ainda mais que a obtenção de poliploides em seringueira é muito difícil, independentemente dos procedimentos técnicos que venham ser empregados. Por outro lado, a reversão para a condição diplóide é possível, pois na análise citogenética desses clones adultos não se verificou a presença de células poliploidizadas.

### Literatura Citada

- ARAUJO, I. S. et al. 2000. Diversidade genética entre clones de seringueira (*Hevea brasiliensis*) das séries Fx e SIAL com base em marcadores moleculares RAPD. *Genetics and Molecular Biology* 23(3 suppl.).
- BANDEL, G. 1980. Aberrações numéricas; poliploidia. In Aguiar-Perecin, M. L. R. de e Bandel, G. Textos de citologia. Piracicaba, ESALQ. Instituto de Genética. pp. 101 - 123.
- CHENG, Z. H. 1983. Microscopic observation of *Hevea brasiliensis* cultures. In *Cell and tissue culture techniques for annual crop improvement*. s.l. Science Press. pp 47-54.
- DUNHAN, R. J., SILVA, E. R. da e SANTOS, A. G. 1983. Comportamento dos clones de seringueira e novos materiais recomendados para futuros plantios na Fazenda Três Pancadas, Ituberá, Ba. In *Seminário Brasileiro sobre Recomendações de Clones de Seringueira*, 1º, Brasília, 1982. Anais. Brasília, EMBRAPA/DDT. pp. 65-87.
- FORLI, F., PAGLIARINI, S. e MARQUES, J. R. B. 1998. Determinação do número de cromossomos em clones de seringueira (*Hevea brasiliensis*) submetidos a poliploidização. In *Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência* 6, Maringá. 1998. Anais. Maringá, SBPC.
- GONÇALVES, P. S., VALOIS, A.C.C. and PAIVA, J. R. 1983. Induction and investigation of polyploidy in IAN 717 rubber tree clone. A preliminary study. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 18:789-796.
- GUNNERY, H. 1935. Yield prediction in *Hevea*, a study of sieve tube structure in relation to latex yield. *Journal of the Rubber Research Institute of Malaysia*. 6:8-20.
- MARQUES, J. R. M. et al. 1988. Informações preliminares sobre germoplasma de seringueira (*Hevea* spp) na Estação Experimental Djalma Bahia. Ilhéus. CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico nº 157. 24p.
- MARQUES, J. R. B. et al. 2000. Caracterização fenotípica e molecular do clone SIAL 893 de seringueira (*Hevea brasiliensis*) recomendado para o cultivo no Estado da Bahia. *Genetics and Molecular Biology* 23 (3suppl.): 520-521.
- MARQUES, J. R. B. e MONTEIRO, W. R. 1997. Poliploidia em seringueira. II Avaliação do comportamento dos poliplóides putativos IAC 206 e IAC 232. *Agrotrópica (Brasil)* 9(2):75- 82.
- MENDES, L. O. T., MENDES, A. J. T. 1963. Poliploidia artificial em seringueira. *Bragantia (Brasil)* 22(3):383-392.
- MENDES, L. O. T. 1971. Poliploidização da seringueira: um novo teste para determinação da capacidade de produção de seringueiras jovens. *Polímeros (Brasil)* 1:22-30.
- MORAES, V. H. F. 1982. Organogênese em meristema apical do caule da seringueira. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 17(6):893-897.
- ONG, S.H. 1980. Mutation and polyploid. In *Rubber Research Institute of Malaysia. Hevea Breeding Course, lecture notes* 1980. Kuala Lumpur, Malaysia. pp. 271-276.
- PAGLIARINI, M. S. et al. 1992. Poliploidia em seringueira. I. Análise do comportamento meiótico de alguns clones de *Hevea brasiliensis*. *Revista UNIMAR (Brasil)* 14(2):25-35.
- PINHEIRO, F. S. V., PINHEIRO, E. e CONCEIÇÃO H. E. da. 1982. Avaliação de clones poliplóides de seringueira (*Hevea sp.*) da série IAC. In *Seminário Nacional da Seringueira*, 3, 1980, Manaus. Anais Brasília, SUDHEVEA. v.1. pp. 349-364.
- SANTOS, P. M. et al. 1987. Desempenho de clones diplóides e poliplóides de seringueira (*Hevea* spp.) no Sul da Bahia. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico nº 154. pp.1-13.
- SENA GOMES, A. R. et al. 1983. Avaliação de clones de seringueira (*Hevea* sp.) no Sul da Bahia. In *Anais do Seminário Brasileiro sobre Recomendações de clones de seringueira*, 1º, Brasília, 1982. Anais. Brasília, EMBRAPA/DDT. pp. 139-58.
- TAN, H. and SUBRAMANIAN, S. 1978. A five parent diallel cross analysis for certain characters of young *Hevea* seedlings. In *International Rubber Conference*, Kuala Lumpur, 1975. Proceedings. Kuala Lumpur RRIM. v. 2. pp. 13-16.
- VIRGENS FILHO, A. de C., SANTOS, C. I. dos e SANTOS, C. A. dos. 1996. Relatório do projeto Técnicas de Sangria. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC. 1v.



## PARTICIPAÇÃO E PARCERIA NO TRABALHO COM AGRICULTORES E SUAS ORGANIZAÇÕES

*Heribert Schmitz<sup>1</sup>, Dalva Maria da Mota<sup>2</sup> e Luiz Edmundo Leite Magalhães<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Núcleo de Estudos Integrados sobre Agricultura Familiar (NEAF), Centro Agropecuário (CAP) da UFPA, heri@amazon.com.br.

<sup>2</sup>Embrapa Tabuleiros Costeiros, dalva@elogica.com.br. <sup>3</sup>Superintendência Regional do INCRA, Belém, Pará, Brasil.

O objetivo deste artigo é refletir sobre os métodos participativos de inovação na agricultura, a partir da experiência profissional dos autores nos Estados do Pará e de Sergipe, no Norte e Nordeste do Brasil, respectivamente, através da pesquisa-ação com grupos de agricultores em parceria entre pesquisadores, agricultores e suas organizações desde 1994, na Região da Transamazônica; a construção, gestão e orientação de um novo serviço de assistência técnica, o Projeto Lumiar, a partir de 1997; e uma experiência de ação comunitária no Litoral Sul Sergipano no período de 1984/87. A discussão sobre o conceito de participação, suas dimensões e níveis, chamando a atenção para sua abrangência e complexidade; os elementos da parceria entre organizações e a introdução do objeto fronteira enquanto conceito agregador dos interesses dos diferentes parceiros, são outros pontos fundamentais tratados no artigo.

**Palavras-chave:** participação, pesquisa participativa, objeto fronteira, extensão rural.

**Participation and partnership in the work with growers and their organizations.** The aim of this article is to reflect about the participatory methods of innovation in agriculture from the authors professional experience in the states of Pará and Sergipe, in the North and Northeast of Brazil respectively: The action research with farmers groups working with researchers, farmers and its organizations since 1994, in the Transamazonia region, the creation, administration and orientation of a new service of technical assistance, the Lumiar Project, since 1997, and a community action experience in the south coast of Sergipe between 1984 and 1987. It discuss the concept of participation, its dimensions and level, calling the attention to the achievement and complexity of it, the partnership elements between the organizations and introduces the boundary object as the linking concept of interests of the different partners.

**Key words:** participation, participatory research, boundary object, rural extension



## Introdução

Participação de agricultores é um dos conceitos exageradamente usados nos discursos de desenvolvimento da década passada (Veldhuizen et al., 1997:41). Biggs (1995:1) critica como “nova ortodoxia participativa” o fato de que as novas abordagens participativas se apresentam rapidamente como solução geral para os problemas de desenvolvimento. Enfatizando muito os métodos e técnicas de gerenciamento, falta nestas abordagens uma visão crítica e reflexiva, o que pode levar, como no caso de outras abordagens predominantes anteriormente, à necessidade de desenvolver uma série de “saídas de emergência” para explicar porque os resultados prometidos não estão sendo alcançados. Precisa-se de uma compreensão melhor dos determinantes da mudança técnica e social, das estruturas de poder e de controle de recursos como a informação.

O objetivo deste artigo é refletir sobre os métodos participativos de inovação na agricultura, a partir da experiência dos seus autores, no duplo papel de profissionais e atores, nos Estados do Pará e de Sergipe, no Norte e Nordeste do Brasil, respectivamente. São enfocados três diferentes estudos de caso, que constituem um tipo de pesquisa qualitativa e enfocam um sistema bem delimitado, tal como um programa, uma instituição ou um grupo social (André, 1995:31). A idéia central do artigo não é o detalhamento comparativo dos casos, mas a extração de elementos teóricos e metodológicos que permitam aprofundar a discussão sobre temas cruciais às práticas no meio rural. Os estudos de caso são luzes para a reflexão aqui efetuada. Os três casos em análise são:

1- A pesquisa-ação com grupos de agricultores em parceria entre pesquisadores, agricultores e suas organizações desde 1994, na Região da Transamazônica; mais especificamente no município de Uruará;

2- A construção, gestão e orientação de um novo serviço de assistência técnica, o Projeto Lumiar, a partir de 1997, no Estado do Pará; e

3- Uma experiência de ação comunitária no Litoral Sul Sergipano, no município de Santa Luzia do Itanh, na comunidade Cajazeiras, no período de 1984/87.

A seleção dos três casos se deu segundo os critérios : abrangência espacial (local, regional e estadual); pelas semelhanças quanto aos objetivos de produção de conhecimento, paralelo ao desenvolvimento de ações em que os autores eram também atores; e pela definição a priori, dos casos enquanto experiências que tinham como pressuposto elementar a participação em diferentes conjunturas históricas (anos 80 e 90).

A metodologia de trabalho para os três casos tem em comum a mescla de elementos da etnografia e da pesquisa-ação. Da etnografia, pelo uso de técnicas como a observação participante, entrevistas em profundidade, análise de documentos, interação entre pesquisador e objeto pesquisado, ênfase nos processos e trabalho de campo por um longo período. Da pesquisa-ação, pela observação, análise, coleta de dados, identificação e definição de problemas em conjunto, planejamento de ações, execução, avaliação (André, 1995:27,30).

No detalhamento dos estudos dos três casos podem ser observados elementos das duas abordagens, sem no entanto, pretender-se apresentar modelos puros.

Dentre as principais categorias teóricas abordadas, discute-se o conceito de participação, suas dimensões e níveis, chamando a atenção para a abrangência e complexidade do mesmo; os elementos da parceria entre organizações; e introduz-se o conceito de objeto fronteira enquanto agregador dos interesses dos diferentes parceiros.

### 1. Pressupostos teóricos para o trabalho participativo

Existem muitos motivos para justificar a participação do grupo alvo nos trabalhos de inovação na agricultura, destacando-se, muitas vezes, a operacionalidade, como mostram os exemplos: “Ela contribui para taxas maiores de adoção de tecnologias desenvolvidas por pesquisadores (...) e reduz os custos da pesquisa e extensão através do aumento da contribuição financeira dos agricultores” (Veldhuizen et al., 1997:43). “A identificação e priorização de demandas tecnológicas, definidas como necessidades e/ou aspirações de segmentos da clientela de P&D, é fato relativamente recente na pesquisa agropecuária e tem se mostrado relevante na gestão de P&D, na medida em que escasseiam os recursos disponíveis” (Portugal, 1998:12). Resumimos os motivos para a participação de agricultores ou de populações locais aos seguintes pontos:

1- Aproveitar o conhecimento do agricultor: relacionar desenvolvimento (de tecnologias) com o conhecimento íntimo do agricultor da situação local; só o agricultor conhece bem a interação entre os subsistemas da sua unidade de produção e consumo; o agricultor é, muitas vezes, experimentador, observando e testando alternativas no dia-a-dia; apenas após compreender o complexo sistema de produção do agricultor, agentes externos podem fazer propostas de inovação adaptadas;

2- Reconhecer a responsabilidade do agricultor: é o próprio agricultor que toma a decisão no seu estabelecimento e sobre o destino da produção; tem prioridades diferentes dos técnicos; algumas propostas dos técnicos podem ser contraditórias em relação à valorização de inovações favorecidas pelos agricultores;

3- Capacitar o agricultor (empowerment): deve-se capacitar o agricultor a identificar as tecnologias externas apropriadas para seu contexto, a conduzir experimentos, a combinar elementos de conhecimento externo com o saber autóctone, a influenciar e administrar os processos de mudança e a aumentar seu poder de negociação.

Existem contradições nestes argumentos, especialmente em relação à capacidade do agricultor experimentar. Em relação aos custos as opiniões divergem: alguns autores acreditam que os métodos participativos e o envolvimento do conhecimento do agricultor podem tornar um projeto mais barato e eficiente; enquanto outros os consideram caros e restritos à escala local.

O termo participação pode ser interpretado de diferentes maneiras como mostram Kamp e Schuthof (1991). Na forma mais simples, a participação se refere ao envolvimento dos agricultores na pesquisa e extensão agrícola, embora não seja explícita a maneira ou o nível de envolvimento. Existem diferenças entre as opiniões e as práticas de como os agricultores deveriam participar, com que objetivo, em que momento, em qual tipo de projeto e com que tipo de parceiro (Okali et al., 1994). A definição do Banco Mundial (World Bank, 1996) é suficiente para iniciar a discussão: “Participação é um processo no qual os envolvidos influenciam e compartilham o controle sobre iniciativas de desenvolvimento e as decisões e os recursos que os afetam”. A princípio, caracteriza-se por uma relação desigual: alguém é convidado a fazer parte de um processo. Na definição citada não é explícito quem toma esta iniciativa. O banco afirma ainda que está a favor de consultar e ouvir, especialmente no caso dos pobres e desfavorecidos, mas não confunde isso com o processo denominado “participação”.

Existem vários níveis de participação, por exemplo, da população rural em relação aos técnicos (Pretty, 1994, citado por Veldhuizen et al., 1997:41,42); quais sejam:

1- Participação passiva: a população é apenas informada do que está acontecendo ou do que aconteceu.

2- Participação dando informações: a população participa respondendo às perguntas dos técnicos. Não pode influenciar no procedimento, nem é consultada sobre os resultados.

3- Participação sendo consultado: os técnicos estão interessados em ouvir a opinião e conhecer a visão dos agricultores, mas continuam definindo os problemas que serão tratados e as soluções; só eles tomam decisões, que podem ser modificadas em função das respostas da população.

4- Participação por incentivos materiais: a população participa fornecendo recursos, p.ex.: mão-de-obra, em troca de alimentos ou incentivos materiais. Muitos casos

de experimentação no meio camponês (on-farm research) ingressam nesta categoria.

5- Participação funcional: a população participa formando grupos para alcançar objetivos no âmbito de um projeto pré-formulado, normalmente em etapas avançadas. Os grupos ou organizações sociais formadas tendem a ficar dependentes de iniciadores externos, mas podem se tornar também independentes.

6- Participação interativa: os agricultores participam em análises conjuntas, que levam a planos de ação, e à formação de instituições locais e processos de aprendizagem estruturados. Os grupos assumem o controle sobre decisões locais.

7- Mobilização própria: a população toma a iniciativa independente de instituições externas, consegue mobilizar recursos e aconselhamento técnico externos, mantendo o controle sobre o uso deles.

Os níveis de participação apresentados se chocam com a definição do Banco Mundial, entrando em coerência apenas a partir do ponto “participação funcional”. Isso demonstra a dificuldade de elaborar um conceito de participação e também de adoção dos seus pressupostos na prática. A última categoria ultrapassa o conceito da participação (entendido como convite de alguém) e destaca ainda a relação desigual nos outros casos. Pode-se pensar, também, em participação dos pesquisadores nos projetos dos agricultores e suas organizações. Distinguímos entre participação em projetos que partem da base, por exemplo, ao nível do estabelecimento; e a participação em projetos que partem de cima, por exemplo, de educação de saúde ou ambiental ou de gestão de recursos naturais numa microbacia.

“A participação sempre tem que ser explicitada e referida à situação e ao método empregado” (Kamp e Schuthof 1991:82), pois ela pode ser diferente nas etapas de um projeto. Podemos distinguir, quando se trata da realização de um programa, nas diferentes modalidades de trabalho entre técnico e agricultor, sejam elas extensão, aconselhamento, pesquisa-desenvolvimento, uma sequência de etapas que podem ser todos ou apenas em parte executadas. Deve ser considerado que a partir do primeiro contato surgem efeitos como o mobilizador. Na prática, as etapas não são necessariamente separadas como neste esquema e elas podem ser superpostas com feed back entre elas.

- Percepção da demanda;
- Definição da ação;
- Análise da situação (diagnóstico);
- Identificação de problemas;
- Discussão de alternativas;
- Definição de objetivos, propostas e prioridades;
- Planejamento de atividades;

- Execução de atividades: aconselhamento, transferência de tecnologia, experimentação, pesquisa adaptada, pesquisa em meio camponês, validação, avaliação da atividade;

- Acompanhamento;
- Avaliação da ação;
- Divulgação dos resultados;
- Estabilização

Podemos constatar que a participação de envolvidos pode alcançar níveis diferentes em cada etapa: os técnicos podem participar ou não das decisões do movimento social organizado; o agricultor pode participar na identificação de problemas num determinado projeto; os técnicos podem participar na experimentação do agricultor; e os órgãos da prefeitura podem participar na divulgação dos resultados. Quem participa e em que nível; depende da visão e da decisão dos principais atores.

A participação não se realiza apenas entre indivíduos ou pequenos grupos de maneira informal; ela se estende, também, à parceria entre as instituições de pesquisa e às organizações dos agricultores. Os resultados do trabalho podem atingir, através desta parceria, um maior número de agricultores, permitindo a divulgação de propostas para um público maior, de forma planejada e sistemática, fortalecendo assim a organização da população local, e capacitando-a para influenciar e administrar os processos de mudanças. Além disso, a parceria permite trabalhar assuntos que ultrapassam a escala do sistema de produção ou da localidade, como, por exemplo, a gestão de recursos naturais ou o remanejamento das populações assentadas em áreas de reforma agrária.

Os elementos mais importantes da parceria são (Schmitz et al., 1996): a criação de uma linguagem comum, que em geral só pode evoluir numa interação. Os parceiros devem concordar sobre o andamento das atividades conjuntas, a interpretação dos resultados, a restituição e a avaliação, para terem uma base comum no planejamento de futuras atividades. Uma condição fundamental da parceria é a transparência nas decisões e atividades de ambas as partes. Os elementos-chave para estabelecer uma situação de transparência são a circulação de informação, a disposição dos parceiros de não dominar ou manipular o processo de definição e a execução de atividades comuns. O grau de confiança entre as partes envolvidas influencia muito na qualidade da parceria. A concepção dialética da parceria destaca o reconhecimento das diferenças entre os parceiros como componentes importantes na construção da pesquisa participativa. Um outro problema é a questão da representação. Normalmente, os agricultores articulam os seus interesses

mediados por organizações representativas. Existe uma determinada discrepância entre estes dois níveis de democracia: o nível da base e o nível da representação. Entre os agricultores e seus representantes, nas organizações, podem existir, também, divergências na visão sobre o desenvolvimento da agricultura. Não há uma representação perfeita dos agricultores nas organizações. A dialética entre curto e longo prazo se refere ao fato de que a parceria com os agricultores e suas organizações exige a aceitação das propostas e das necessidades, incluindo, também, problemas imediatos. A restituição, quer dizer, a divulgação dos resultados do trabalho, tem como objetivo apresentá-los para uma discussão crítica, avaliando, assim, a correspondência com a realidade, a representatividade e confiabilidade dos entrevistados e a pertinência da interpretação das informações pelos pesquisadores. Os pontos mais problemáticos são a transparência e a confiança e, no caso de uma parceria com uma organização representativa, o contato direto dos técnicos com a base sem ser articulado pela organização.

Porém, a cooperação pode se realizar de forma mais conflituosa devido a interesses divergentes que podem ser parcialmente antagônicos ou que superam, por causa da sua complexidade, a capacidade dos atores de gerenciá-los. Falta de habilidade de reconhecer as divergências e lidar com conflitos, como também a tendência de confundir negociação entre parceiros com barganha (Fisher et al., 1996:21,35), podem levar ao fracasso da cooperação e dos objetivos a serem alcançados. Isto acontece ainda mais quando se trata de atores de diferentes mundos sociais com socialização e necessidades de legitimação diferentes (como pesquisadores e agricultores sindicalizados), dificultando a identificação das concepções e o reconhecimento das estratégias e dos campos críticos de interesse de cada categoria social" (Guerra e Castellanet, 1998:1).

Já Paulo Freire (1992:69,70), afirma que: "a comunicação se verifica entre sujeitos sobre algo que mediatiza ..." e que este objeto, "... que mediatiza os sujeitos interlocutores, pode ser tanto um fato concreto (uma semente e suas técnicas, por exemplo) como um teorema matemático". Destaca ainda: "Reconhecemos que a simples presença de objetos novos, de uma técnica, de uma forma diferente de proceder, em uma comunidade, provoca atitudes que podem ser de desconfiança, de recusa, total ou parcial, como de aceitação também." (Freire, 1992:32).

Este objeto pode ser denominado de objeto fronteira e constitui um elemento de mediação entre vários atores, que reúnem-se em torno do objeto, estabelecendo uma relação (e a barreira) entre os dois (ou mais) lados,

permitindo um tempo comum de co-aprendizagem (ver: Akrich, 1993, citado por Sainte Marie e Casabianca, 1995). Existe um conceito mais amplo do objeto fronteira que, segundo Star e Griesemer (1989), pode ser um meio para analisar tanto situações com envolvimento de vários atores com interesses diferentes, como o desenho de computadores complexos. Trata-se de um conceito que deixa uma parte da área de sobreposição de interesses dos diferentes atores numa situação não exatamente definida.

O objeto fronteira é um conceito para analisar objetos que se estendem por vários mundos sociais, que possuam uma intersecção e que satisfaçam requerimentos de cada um deles. Objetos fronteira têm diferentes significados de acordo com os mundos sociais, mas a estrutura deles é suficientemente comum para poder ser identificada em mais de um mundo. O objeto fronteira transita por pontos de passagem obrigatórios e negociados (Star e Griesemer, 1989).

Interesses comuns poderiam ser encontrados e problemas criados por visões conflitivas administrados ou resolvidos de várias maneiras através do conceito do objeto fronteira. Sainte Marie e Casabianca (1995) e Star e Griesemer (1989) descrevem o uso do conceito via estandardização: no primeiro caso, a comercialização de produtos agrícolas (salsicha e presunto de porco na Córsega) mantendo a característica e qualidade caseira regional mesmo com o aumento da produção; no segundo caso, as estratégias de gestão do Museu de Zoologia de Vertebrados em Berkeley (Califórnia), criando uma base de cooperação entre ambientalistas, colecionadores querendo preservar amostras da flora e fauna, caçadores fornecendo espécies, pesquisadores e administração universitária em torno dos métodos de coleção de animais. O objeto pode ser um fio condutor que possibilita aproveitar de um tema e permite ter um tempo comum para um processo de co-aprendizagem.

## 2. Estudos de Casos

### 2.1 Pesquisa-ação sobre intensificação de culturas anuais na Transamazônica, Estado do Pará

Esta pesquisa começou como uma das prioridades do Programa Agroecológico da Transamazônica em 1994, negociada entre os principais parceiros deste programa, o Movimento pela Sobrevivência na Transamazônica (MPST) e o Laboratório Agroecológico da Transamazônica (LAET) e está em andamento há seis anos (Schmitz et al, 1996, 1997). O objetivo é desenvolver tecnologias para a intensificação de culturas anuais, com o uso da terra por mais tempo que no sistema de

derrubada-queima, utilizando métodos adequados de gestão da fertilidade do meio e de mecanização. Os pesquisadores do LAET reagiram com cautela às demandas de mecanização dos agricultores, por temerem o impacto negativo sobre a fertilidade do solo, mas por causa da abordagem participativa assumiram o trabalho. Depois de um levantamento das experiências existentes com mecanização na região, em que os pesquisadores visitaram e entrevistaram os agricultores, aprendendo com eles. Neste processo, houve duas restituições dos resultados. Os agricultores, não satisfeitos com os resultados que apontaram a não viabilidade da intensificação, insistiram numa pesquisa mais profunda. Foram discutidos, junto a um grupo de 27 agricultores, os termos iniciais de uma pesquisa-ação no Município de Uruará. Durante esta ação foi desencadeado um diálogo crítico sobre o objeto comum, realizado um treinamento, negociado um termo de compromisso com todos os envolvidos, iniciado o trabalho nos estabelecimentos e realizada uma primeira avaliação em torno de um dia de campo sobre o projeto. A primeira grande crise ocorreu quando o crédito previsto para a compra dos equipamentos e animais não foi liberado. Percebeu-se que tinha ocorrido um processo de desarticulação pelos parceiros do projeto, as organizações dos agricultores e os órgãos de pesquisa e extensão rural locais. Os motivos foram coligações eleitorais e processos hegemônicos respectivos, que excluíram o LAET como ator neste município. Um ponto de discordância foi um projeto de gestão comunitária de recursos naturais que não agradou aos madeireiros.

Mesmo assim, a pesquisa-ação continuou, porém com um número reduzido de agricultores. Durante a ação se revelaram os motivos dos participantes, muitos selecionados pela organização dos agricultores por motivos políticos, para mostrar a viabilidade da proposta do movimento social antes das eleições municipais em estabelecimentos, que na sua maioria eram bem visíveis na rodovia Transamazônica. A saída dos agricultores não surpreendeu os pesquisadores, pois a hipótese central da pesquisa apontou a difícil manutenção da fertilidade do meio para poder estabelecer o nível da produtividade das culturas anuais. No ano 2000, o projeto teve áreas de seis anos de uso consecutivo, fez experiências com a mecanização e práticas de manejo de fertilidade e alternativas à destoca prejudicial com trator de esteira e teve como um dos resultados a introdução de leguminosas entre os participantes e em outros estabelecimentos da região.

Existe uma forma de “distribuição de trabalho” entre os parceiros. O MPST toma suas decisões políticas sem a presença dos pesquisadores que, para as lideranças dos agricultores, têm mais a função de assistência na “área técnica”. Os pesquisadores podem “escorregar” nas re-



lações políticas, e as organizações não querem a sua participação nesse campo (D'Incao, comunicação pessoal, 1996). O LAET pretende que os resultados do trabalho atinjam o maior número de agricultores, independente da sua condição partidária ou religiosa. O LAET, tampouco, quer se envolver na política partidária.

Enquanto no nível local o trabalho continuou, houve vários momentos de ruptura no nível da parceria entre MPST e LAET. Resumindo, tratou-se de um conflito de poder em que as organizações dos agricultores apostaram em uma maior participação, também nos recursos do projeto. Com certeza houve também dificuldades de diálogo e de negociação entre os parceiros. Porém, no princípio, ocorreu uma evolução, que em outras regiões do Brasil aconteceu no início dos anos 90, em que organizações de luta perderam a função de reivindicação política - neste caso transferida do MPST para a Federação dos Trabalhadores na Agricultura do Estado do Pará e Amapá (Fetagri) - sentindo a necessidade de se reestruturarem para se transformarem em organizações de desenvolvimento, o que requer métodos de trabalho e perfil de liderança diferentes. Como na desarticulação no nível local em 1996, as rupturas dos anos seguintes não acabaram com a parceria, sendo o objeto comum um mediador mais forte.

## 2.2 Projeto Lumiar no Estado do Pará

O Projeto Lumiar do Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA) foi implementado no início de 1997 em função das reivindicações das organizações dos trabalhadores rurais, especialmente do Movimento dos Trabalhadores Rurais Sem Terra (MST), e é resultante de negociações entre o Governo Federal, o MST e a Confederação Nacional dos Trabalhadores na Agricultura (CONTAG). A idéia do projeto é que os assentados em projetos da reforma agrária contratem a assistência técnica que será paga pelo INCRA, na medida em que os assentados aproveitem os serviços prestados. A estrutura do projeto, no nível estadual, prevê como principal órgão de decisão a comissão estadual, presidida pelo Chefe da Divisão de Assentamentos do INCRA e assessorada pela equipe dos supervisores, tomando suas decisões com 2 votos dos órgãos governamentais, 2 votos dos bancos e 2 votos dos trabalhadores rurais (no contexto deste artigo os trabalhadores rurais são agricultores familiares). O serviço das equipes locais é oferecido por uma instituição prestadora de serviço que pode ser uma cooperativa de trabalho ou uma outra instituição (empresa pública, ONG, etc.).

Os supervisores externos (indicados por universidades e organizações dos trabalhadores rurais) e os supervisores internos, funcionários do INCRA, selecionam os candidatos, capacitam, orientam, acompanham e avaliam

as equipes locais na elaboração e execução dos planos de desenvolvimento e de trabalho e, na prática, apoiam na gestão do projeto. As equipes locais devem atuar como facilitadoras de processos com compromisso com os resultados, medidos por indicadores, com dedicação e engajamento, estabelecendo uma relação de confiança, respeitando a cultura, os desejos e as decisões dos assentados e de suas organizações (INCRA, 1997:37, 38).

O projeto tem uma abordagem participativa, oferecendo um serviço orientado aos clientes, considerados como elementos importantes na execução do projeto a nível local e estadual, e as organizações dos trabalhadores, o que constitui um aspecto novo na assistência técnica. Em vez de criar uma estrutura hierárquica para controlar o trabalho dos técnicos, o projeto aposta na avaliação dos supervisores junto à Divisão de Assentamentos e à Comissão Estadual, pelo lado da oferta; e pelos assentados, pelo lado da demanda.

O INCRA, como instituição, não assumiu o Projeto Lumiar. Mesmo assim, a cooperação institucional entre a Divisão de Assentamento do INCRA, os supervisores e a Comissão Estadual, funcionou a nível regional, permitindo resolver situações críticas e mostrando a capacidade de negociar dos responsáveis pela gestão do projeto.

O Projeto Lumiar foi implementado como “descentralização de forma centralizada” (Oliveira, 1997:51), apenas negociado no nível nacional com as organizações dos trabalhadores rurais, sem ser conhecido a nível local pelos assentados que não estavam preparados para recebê-lo. A seleção dos projetos de assentamento e a escolha das associações fugiu, por causa disso, em alguns casos, do controle das organizações. Na prática, as atividades iniciaram-se por um diagnóstico, em que os agricultores apenas foram consultados. Na fase da elaboração das propostas foram realizadas reuniões com homens, mulheres, jovens e adolescentes, para discutir com cada segmento dos assentados. Uma das equipes locais desistiu de considerar o diagnóstico e o próprio conhecimento técnico, aceitando simplesmente uma “lista” de propostas dos assentados para a utilização do crédito. Somente depois da intervenção do supervisor realizou-se na equipe uma discussão sobre cada subsistema e cada atividade do agricultor para poder elaborar propostas, que representassem o resultado de um diálogo entre agricultor e técnico. Um dos momentos mais importantes foi o debate sobre o plano de trabalho anual da equipe local e a definição de prioridades junto aos assentados, em trabalho de grupo, que revelou os conhecimentos e as estratégias dos agricultores como a visão dos técnicos.

O Projeto Lumiar exige muito em termos de habilidades, como mostra o quadro das expectativas em relação à postura dos técnicos e das atribuições, que

inclui, entre outras, apoiar a organização dos assentados em processos de aprendizagem coletiva, promover processos de decisões coletivas e avaliações sistemáticas, desenvolver programas de treinamento e apoiar a comunidade nas relações com agentes externos, governamentais ou privados (INCRA, 1997:9). Em geral, as equipes conseguiram estabelecer uma boa relação com os assentados. Houve algumas dificuldades iniciais devido à inexperiência de alguns técnicos de mediar, por exemplo, entre a avaliação rígida da viabilidade de projetos e os anseios dos agricultores em relação ao financiamento. Precisa-se também de um processo de aprendizagem para o técnico poder assumir, frente ao agricultor, que sabe ainda pouco sobre um determinado assunto. Como os agricultores sempre costumam testar os técnicos, uma postura arrogante do técnico pode dificultar a relação. Falta, ainda, habilidade dos técnicos para articular e moderar um diálogo crítico com os agricultores para desencadear um processo de construção de conhecimento. Isso, junto à falta de experiência prática e de conhecimento técnico, leva uma parte dos profissionais a recorrer a formas mais tradicionais da extensão rural, evitando, assim, os constrangimentos das dúvidas e incertezas.

Hoje, o trabalho junto a grupos de interesse pode ser identificado como “carro-chefe” possibilitando a criação de uma relação de confiança que permite discutir também questões sensíveis, como a diferença entre as práticas do agricultor e as recomendações apresentadas pelos técnicos, abrindo um espaço para conhecer as razões e aprender com os agricultores. É importante compreender melhor as dinâmicas dos processos organizativos dos assentados, especialmente se consideramos o grande número de grupos de interesse e de projetos coletivos através do crédito de fomento, com dificuldades imensas de administrar os bens comuns, como caminhão, máquina para beneficiar arroz, etc.

O Projeto Lumiar tem uma estrutura mais ágil que a assistência técnica estatal, correspondendo melhor às necessidades da participação dos agricultores e diminuindo o envolvimento com o poder político local. Os principais fatores para o funcionamento do projeto são o compromisso de todos os envolvidos e a boa articulação entre os responsáveis para a gestão e execução. Os supervisores são peças-chave para a qualidade do serviço, se eles são comprometidos com o trabalho e com a abordagem participativa. A organização dos assentados aumentou consideravelmente depois da implementação do Projeto Lumiar. Faltam ainda parâmetros para avaliar o trabalho do projeto pelo lado dos assentados, que, muitas vezes, não conhecem ainda uma assistência técnica eficiente. Em suma, onde antes não tinha nada, qualquer coisa agrada e é melhor.

### **2.3. A experiência de agricultores e técnicos na implantação de projetos comunitários para o desenvolvimento rural no Estado de Sergipe**

A experiência surgiu como uma iniciativa do Governo Estadual para capacitar técnicos de diferentes instituições para atuarem no programa de desenvolvimento de áreas integradas do Nordeste (POLONORDESTE), financiado com recursos do Banco Mundial. Uma equipe de 9 técnicos de diferentes formações e filiações institucionais foi formada para participar do Treinamento em Serviço em Ação Comunitária no povoado Cajazeiras no Litoral Sul-Sergipano, a partir do ano de 1984. A primeira atividade foi a capacitação na metodologia pesquisa-ação e em conhecimentos gerais sobre o mundo rural. A partir daí foi montada uma estratégia de ação, que previu a apresentação e discussão com a população da idéia do treinamento, a realização de um diagnóstico participativo com a sua respectiva restituição, a execução de um programa de círculos de pesquisa e estudos para aprofundamento dos principais temas evidenciados no diagnóstico, a elaboração de um plano de ação prevendo as atividades prioritárias a serem realizadas, os grupos de interesse, os meios e a execução.

Todas as etapas foram permeadas pela presença contínua dos técnicos na localidade, assim como nas atividades produtivas e recreativas da população. Até a conclusão dos círculos de pesquisa, havia um interesse geral dos agricultores nas atividades desenvolvidas, especialmente diante da parceria estabelecida pelos técnicos e agricultores para instalação da energia elétrica no povoado. Diante do insucesso da iniciativa, houve também um arrefecimento do interesse nas ações posteriores. Assim, os círculos de estudo sobre os temas priorizados pela população contaram com um número limitado de participantes. Como resultado desse processo foram definidos três alvos prioritários: terra, transformação da mandioca e pesca. As estratégias de atuação foram elaboradas e as iniciativas colocadas em prática para a viabilização. A possibilidade de acesso à terra foi excluída pela constatação da inexistência de áreas para a venda na própria localidade. Este resultado terminou por desestimular os agricultores para continuarem no processo de discussão. Por outro lado, passada a ênfase do processo de treinamento dos técnicos, as instituições começaram a demandá-los, dificultando a presença dos mesmos na área. Juntou-se a isso, a pouca credibilidade dos técnicos (na sua maioria habituados à prática da transferência de tecnologia) em uma experiência considerada por demais longa e desenvolvida em condições especiais que não eram condizentes com o seu trabalho normal. Mesmo assim, 3 técnicos e 7 agricultores encaminharam os dois outros projetos que

culminaram com o financiamento, a fundo perdido, de uma casa de farinha comunitária e de equipamentos de pesca (canoas, redes de pesca) para 4 grupos. Nos dois casos, houve mobilização para obtenção de um terreno, organização da construção e do funcionamento da casa de farinha e da compra dos equipamentos mais apropriados. Estas ações atraíram pessoas que não tinham passado por nenhuma das etapas de mobilização, o que terminou por gerar uma certa rivalidade entre o grupo dos agricultores participantes e os demais. Os primeiros se sentiam praticamente “donos” das conquistas e também das idéias para gerenciá-las. Nesse processo, os técnicos se mantiveram sempre como mediadores dos conflitos, não havendo naquele momento uma compreensão com o desdobramento desta situação por ocasião da saída dos mesmos da área. Por outro lado, a valorização das iniciativas individuais dos agricultores terminaram por disfarçar a necessidade de também se formar parcerias com as suas representações, no sentido do grupo como um todo exercitar a democracia e a solução dos conflitos.

O ano de 1987 foi o limite para a finalização do trabalho e, a partir daí, os grupos gerenciariam suas atividades. Na realidade, o que se observou é que os conflitos pela liderança da casa de farinha terminaram subdividindo o grupo, a ponto de ter agricultores que não a utilizavam, apesar de terem participado da sua conquista. Mesmo assim, adotando os procedimentos tradicionais, a casa de farinha funciona e consegue prestar um serviço mais acessível do que aquelas de terceiros. No caso do grupo da pesca, a situação foi mais delicada, especialmente porque a imposição da forma coletiva para acesso ao financiamento rompeu com a tradição destes pescadores que é a atividade individual. Assim, os grupos perduraram até enquanto os equipamentos estiveram em pleno funcionamento. Outro ponto crítico foi não ter havido preocupação com a comercialização dos peixes, considerada uma consequência natural da disponibilidade dos produtos.

Podemos afirmar que uma experiência tão cuidadosamente construída terminou por alcançar praticamente os mesmos resultados daquelas desenvolvidas pela assistência técnica tradicional. O que constatamos é que a mesma repercutiu individualmente em participantes dos dois grupos, sem no entanto, provocar parcerias que conduzissem à produção de conhecimentos ou ações que influenciassem na relação de poder dos técnicos com os agricultores e destes com seus grupos.

### 3. Perspectivas de participação e parceria e conclusões

Entre os problemas relacionados às abordagens participativas, constam (ver, entre outros: Pillot, 1987;

Okali et al., 1994; Schmitz et al., 1996; Netzwerk, 1998; Veldhuizen et al., 1997):

- Necessidade de mudanças institucionais para facilitar os processos de participação;
- Dificuldade de monitoramento e avaliação de impactos da abordagem participativa;
- Adaptação dos métodos utilizados para desenvolver soluções locais a uma escala maior;
- Muito trabalho para os envolvidos, sendo pouco o benefício em relação ao tempo gasto;
- Os parceiros muitas vezes não são preparados para o processo participativo em termos de habilidades;
- Descontinuação do trabalho participativo depois de ter sido realizado o diagnóstico;
- A mediação por organizações representativas entre técnicos e agricultores pode atrapalhar.

Alguns destes problemas verificaram-se, também, nos estudos de caso, com repercussões nos seus desdobramentos. Os níveis de participação e parceria alcançados variaram segundo os objetivos e o processo de construção de uma proposta comum.

No primeiro caso, a construção da parceria se deu num processo negociado que começou com a criação do LAET e do programa comum, PAET. A demanda, ainda apenas aparente, partiu dos agricultores que se reuniram em torno de um objeto comum, a intensificação, produzindo por mais tempo na mesma área, utilizando a mecanização, reduzindo o desmatamento e oferecendo uma perspectiva para os filhos continuarem como agricultores. O objeto fronteira permitia experimentar, também, outras tecnologias de manejo da fertilidade do meio como leguminosas e uso de esterco. A discussão em torno do objeto fronteira valorizou o conhecimento do agricultor, por exemplo, na adaptação e invenção de sementeiras manuais para facilitar plantar feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) para adubação verde. Os resultados do projeto podem ser facilmente divulgados junto às organizações dos agricultores e podem ser multiplicados por grupos de agricultores acompanhados por técnicos. Como na pesquisa temática, precisa-se uma etapa mais profunda no início que não precisa ser repetida na mesma região. Não é necessário passar por todo o processo de co-construção de novos conhecimentos com outros grupos, sendo suficiente começar o trabalho na base dos resultados com os itinerários técnicos elaborados. Os próprios agricultores poderiam ser multiplicadores iniciais, apresentando os resultados na sua linguagem.

A mediação por organizações representativas dos agricultores complicou o trabalho pelos critérios políticos na seleção dos participantes e levou à crise do projeto no momento da desarticulação, porém sem inviabilizar a pesquisa-ação. Apesar disso, a parceria foi fundamental

para a evolução de pesquisa e desenvolvimento na região, deixando, além de resultados concretos e da volta da pesquisa temática inserida nas ações do PAET, técnicos, lideranças e agricultores melhor preparados para uma nova etapa do desenvolvimento. Outros problemas surgiram com a instituição financeira, a Comunidade Européia, que exigiu explicações sobre porque a programação não seguiu exatamente o que foi previsto no projeto, planejado antes da criação efetiva do LAET, pois a construção da parceria e as negociações com os agricultores levaram a mudanças parciais dos objetivos e das ações em decorrência da abordagem participativa adotada.

No segundo caso, o Projeto Lumiar é um exemplo de implantação de um serviço de assistência técnica com uma abordagem participativa pelos órgãos governamentais, como resultado de fortes pressões pelo movimento social. O projeto enfrentou dificuldades institucionais nos níveis intermediários não sendo assumido pela própria instituição promotora, o INCRA, e por uma parte das prestadoras de serviço, mas por causa da estrutura relativamente independente, conseguiu evoluir, sendo os principais fatores para o funcionamento o compromisso de todos envolvidos e a boa articulação entre os responsáveis para a gestão e execução. Em termos de escala não existem limitações, porque se trata de um projeto de aconselhamento aos agricultores lançado a nível nacional. O objeto fronteira se constituiu neste caso ao nível dos grupos de interesse, por exemplo, em torno de manejo das culturas perenes.

No terceiro caso, a proposição da experiência partiu de instituições de desenvolvimento rural, iniciando-se assim por uma relação desigual entre pessoas, em que as representações dos agricultores ficavam quase que excluídas da experiência. A consequência é que os agricultores não desenvolveram uma sociabilidade no sentido de solucionar os seus conflitos, comprometendo totalmente os desdobramentos do trabalho quando os técnicos retornaram às suas instituições. Pode-se mesmo afirmar que a liderança do trabalho não foi partilhada, sendo os técnicos e pesquisadores responsáveis por quase todo o encaminhamento, o que influenciou negativamente no prosseguimento do trabalho. Pensamos que, apesar da cordialidade existente para o desenvolvimento da experiência, não se chegou realmente a constituir um objeto fronteira capaz de condensar interesses, mas, apenas, um pacto através do qual os técnicos se capacitavam e os agricultores obtinham bens. Nestes termos, concluímos que, a despeito do grande investimento para a realização do treinamento, os resultados caminharam praticamente da mesma forma que nas ações tradicionais da assistência técnica; ou seja: a mobilização foi concluída com a obtenção dos bens. A administração destes bens foi o ponto de esgarçamento do grupo.

Quando se pensa em participação, as exigências em termos de habilidades dos envolvidos são muito elevadas. Na pesquisa-ação, na Transamazônica, os pesquisadores desempenharam um papel quádruplo como moderadores, consultores, executores, mediadores e desafiadores. Okali et al. (1994) constatarem que o pesquisador, por ser normalmente o iniciador de uma cooperação, é responsável para criar uma situação que permita realizar uma pesquisa realmente participativa. Assim, o esforço por iniciar e manter o diálogo num clima de confiança e transparência, qualidades altamente sensíveis, fica com ele. O pesquisador normalmente não é preparado para manejar tarefas difíceis, como a moderação de um processo de participação num espaço altamente político e com várias organizações atuando. O Projeto Lumiar exige habilidades dos técnicos, na maioria recém-formados, a que eles ainda não correspondem. Porém, como mostra este trabalho, a parceria não parte sempre dos técnicos e suas instituições e pode ter êxito somente se os principais envolvidos, técnicos, agricultores e suas lideranças souberam dialogar, mediar, negociar e gerenciar conflitos.

Como conclusão geral, afirmamos com Bunch (1995) que “Na maioria das culturas, a participação é uma arte que se aprende.” Técnicos e agricultores, muitas vezes, foram socializados numa cultura de dominação e, por isso, tendem a reproduzi-la. No processo de aprendizado do exercício de democracia, a capacitação continuada dos técnicos e dos agricultores é um elemento importante. Muitas lideranças passaram por uma etapa de formação, nos anos 70 e 80, muitas vezes assumida pela igreja católica. Atualmente existe um certo vácuo em relação a esta tarefa. Precisa-se, além de cursos com temas técnicos e da contratação de especialistas, cursos em comunicação interpessoal, dinâmica de grupo, cooperação em equipe, organização dos agricultores, conflito e negociação e métodos de assistência técnica.

Muitos pontos críticos atribuídos à abordagem participativa são relacionados ao planejamento e à execução do projeto, que tem que ser observado independentemente da questão da participação e parceria. Por falhas neste processo, muitas vezes os resultados parecem os mesmos que na pesquisa ou extensão tradicional, somente o esforço em termos de recursos humanos e financeiros é maior. A participação não é apropriada em todas as situações e seu nível pode diferir em função das “etapas”; não precisa ser sempre “interativo”. Importante é analisar e acompanhar todo o processo sobre como chegar juntos do diagnóstico à ação. A passagem do levantamento de dados para o planejamento de atividades, em geral, é complicada, como mostra o Projeto Lumiar, até para profissionais com muita experiência, e, muitas vezes, não tem nenhuma relação



entre os fatos levantados no diagnóstico e as propostas. A discontinuidade depois da etapa do planejamento pode comprometer o projeto, como no caso de Sergipe. Precisa-se de um tempo comum para evoluir da demanda aparente e formulada inicialmente, até conhecer a demanda real como mostra a pesquisa-ação sobre intensificação, que revelou no decorrer do projeto os verdadeiros motivos dos agricultores. Um objeto fronteira pode permitir ter um tempo comum para um processo de co-aprendizagem. A expectativa superestimada de que os métodos participativos possam influenciar e mudar as relações de poder existentes (empowerment) tem a ver também com a questão do planejamento. Como este objetivo não faz parte do planejamento formal, mas é esperado mais como um resultado colateral, não existem indicadores e o monitoramento e a avaliação do impacto do projeto neste sentido é difícil, sem entrar na problemática geral dos indicadores de impacto. Precisa-se analisar melhor a trajetória de outros projetos para confirmar esta hipótese. Também neste caso, é necessário um tempo maior para observar os efeitos, como, por exemplo, na parceria LAET-MPST que começou há seis anos.

Pode-se observar uma evolução das organizações dos agricultores, de modo que se eles inicialmente participaram nas atividades dos técnicos, hoje a relação está se invertendo. O exemplo do LAET e do MPST mostra que mantem-se a idéia da parceria. No caso de outras organizações, os técnicos são subordinados, como se constata numa avaliação do Projeto Lumiar (Ministério Extraordinário de Política Fundiária, 1999:35-39) criticando a absorção e o controle no caso de movimentos sociais de grande penetração. Os movimentos sociais descobriram as possibilidades de influenciar mais na pesquisa e extensão, assumindo o Projeto Lumiar (como a Fundação Sócio-Ambiental do Nordeste Paraense - FANEP ou o MST) ou criando um corpo técnico próprio, como está tentando o MPST.

## Literatura Citada

- ANDRÉ, M. E. D. A. 1995. Etnografia da prática escolar. 4.ed. Campinas, Editora Papirus. 128p.
- BIGGS, S. D. 1995. Participatory Technology Development: reflections on current advocacy and past technology development. In Participatory Technology Development Workshop "The limits of participation". London, ITDG. (mimeografado).
- BUNCH, R. 1995. Duas espigas de milho: uma proposta de desenvolvimento agrícola participativo. Rio de Janeiro, AS-PTA. 220p.
- D'INCAO, M. C. 1996. Comunicação ao Seminário Livre do Curso de Mestrado em Agriculturas Amazônicas sobre "O pesquisador e a questão do desenvolvimento rural". Belém, NEAF/CAP/UFPA.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. 1993. O enfoque de pesquisa e desenvolvimento (P&D) e sua implementação na Embrapa. Brasília, EMBRAPA-DPD. 29p.
- FISHER, R. URY, W.; PATTON, B. 1996. Das Harvard-Konzepte. Sachgerecht Verhandeln-erfolgreich Verhandeln. Frankfurt, New York, Campus-Verlag. 271p.
- FREIRE, P. 1992. Extensão ou comunicação? Rio de Janeiro, Editora Paz e Terra. 93p.
- GUERRA, G. e CASTELLANET, C. 1998. As relações entre pesquisadores e sindicalistas nos programas de pesquisa-ação: reflexões sobre as experiências do Pará. In Seminário sobre Métodos e experiências de Pesquisa-Formação-Desenvolvimento em agricultura Familiar. Belém, NEAF/CAP/UFPA. 20p. (mimeografado).
- INSTITUTO NACIONAL DE COLONIZAÇÃO E REFORMA AGRÁRIA. 1997. Projeto LUMIAR: assistência técnica nos assentamentos. Brasília. 69 p.
- KAMP, J.V.D. e SCHUTHOF, P. 1991. Geração participativa de tecnologias. Rio de Janeiro, AS-PTA. 94p.
- MINISTÉRIO EXTRAORDINÁRIO DE POLÍTICA FUNDIÁRIA. 1999. Projeto Lumiar: avaliação exploratória. Brasília, MEPF/INCRA. 59 p.
- NETZWERK ENTWICKLUNGSPOLITISCHER FACHLEUTE E.V. 1999. 20 Jahre Partizipation - what comes next? Berlin. 54p. (mimeografado).
- OKALI, C., SUMBERG, J. and FARRINGTON, J. 1993. Farmer Participatory Research. Rhetoric and Reality. London, Intermediate Technology Publications. 159p.
- OLIVEIRA, M. M. 1997. Avaliação ex ante do Projeto Lumiar. Versão preliminar. Brasília, INCRA/IICA. 56p. (mimeografado).
- PILLOT, D. 1987. Recherche développement et farming system research. Concept, approches et méthodes. Paris, GRET, 40p. (Réseau Recherche-développement).
- PORTUGAL, A.D. 1998. A importância estratégica da prospecção tecnológica para o SNPA. In Castro, A. M. G. de et al. (eds.). Cadeias produtivas e sistemas naturais. Prospecção tecnológica. Brasília, EMBRAPA-SPI, pp. 9-20.
- SAINTE MARIE, C. DE et CASABIANCA, F. 1995. Innover dans des produits patrimoniaux. Communication à l'École Chercheurs INRA-ESR/CNRS-BETA, Grenoble 6-8 avril 1995. Corte, INRA, 23p. (mimeografado).
- SCHMITZ, H., CASTELLANET, C. e SIMÕES, A. 1996. Participação dos agricultores e de suas organizações no processo de desenvolvimento de tecnologias na região da Transamazônica. Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Antropologia (Brasil) 12 (2):201-246.
- SCHMITZ, H., SIMÕES, A. and CASTELLANET, C. 1997. Why do farmers experiment with animal traction in Amazonia? In Veldhuizen, L.V. et al. (eds.). Farmers' Research in Practice. Lessons from the field. London, Intermediate Technology Publications. pp.177-197.
- STAR, S.L. and GRIESEMER, J.R. 1989. Institutional Ecology, Translations' and Boundary Objects: Amateurs and Professionals in Berkeley's Museum of Vertebrate Zoology, 1907-39. In: Social Studies of Science v.19, pp. 387- 420.
- VELDHUIZEN, L.V., WATERS-BAYER, A. and ZEEUW, H. 1997. Developing Technology with Farmers. A Trainer's Guide for Participatory Learning. New York, Zed Books/ETC. 230p.
- WORLD BANK. 1996. The World Bank Participation Sourcebook. Washington, World Bank. 259p.

***Trichoderma stromaticum* sp. nov. NA PRODUÇÃO DE BASIDIOMAS E  
INFECÇÕES DE RAMOS E ALMOFADAS FLORAIS DO CACAUEIRO POR  
*Crinipellis perniciosa***

***Cleber Novais Bastos***

CEPLAC/SUPOR, Caixa Postal 5150, 66635-110, Belém, Pará, Brasil.

Possível medida de controle da vassoura-de-bruxa do cacaueiro, causada por *Crinipellis perniciosa*, foi verificada em condições de campo, no município de Marituba, PA, através do método biológico, aplicando-se o antagonista *Trichoderma stromaticum* em vassouras penduradas no interior da copa do cacaueiro e em vassouras deixadas sobre a serrapilheira dos cacaueiros. As aplicações da suspensão de conídios ( $6 \times 10^6$  conídios/ml) em número de quatro, foram feitas com pulverizador costal manual, sendo uma em dezembro, duas em janeiro e uma em fevereiro. As avaliações foram realizadas através da quantificação da frutificação do patógeno e da produção de lançamentos vegetativos e almofadas florais infectadas. Os resultados indicaram que a produção de basidiomas nas vassouras tratadas foi de 3,9% em relação ao total produzido e de 96,1% nas não tratadas. Quanto à produção de ramos e almofadas florais infectadas foi, respectivamente, de 25,6% e 12,2% no tratamento com *Trichoderma* e de 74,4% e 87,8% na testemunha.

**Palavras-chave:** Controle biológico, vassoura-de-bruxa, *Crinipellis perniciosa*, *Theobroma cacao*, antagonista

***Trichoderma stromaticum* sp. nov. on the production of basidiomatas and on infections of shoots and cushion flowers of cocoa by *Crinipellis perniciosa*.** A possible measure to control cocoa witches' broom, caused by *Crinipellis perniciosa*, was verified in field conditions by applying the antagonist *Trichoderma stromaticum* on dead brooms hung up into cocoa canopy and in brooms on the ground under cocoa trees. The applications of the conidia suspension ( $6 \times 10^6$  conidia/ml) was made four times with a hand knapsack sprayer, being one in December, two in January and one in February. The evaluations were made by quantification of the fruit bodies of the fungus and the production of shoots and cushion flowers infected. The results showed that the production of basidiomatas on brooms treated with the antagonist was 3,9% in relation to the total production of basidiomatas, and 96,1% on untreated brooms. The production of shoots and cushion flowers infected was respectively 25,6% and 12,2% in the treatment of *Trichoderma* and of 74,4% and 87,8% in the control.

**Key words:** Biological control, witches' broom, *Crinipellis perniciosa*, *Theobroma cacao*, antagonist

## Introdução

A vassoura-de-bruxa do cacau (Theobroma cacao L.), causada pelo fungo *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer, é um dos mais sérios problemas da cacauicultura, sendo responsável por grandes prejuízos nas áreas onde ocorre (Almeida e Andebrhan, 1987). Devido a alta incidência e ausência de medidas mais efetivas no controle desta doença, muitos agricultores nas regiões produtoras de cacau da Amazônia e Bahia, já tiveram suas lavouras completamente dizimadas.

Um dos métodos mais utilizados no controle da vassoura-de-bruxa consiste na remoção, nas épocas certas, das partes afetadas pelo fungo (vassouras vegetativas, frutos e almofadas florais infectadas) (Bastos e Silva, 1980). A importância econômica da doença, portanto, constitui-se no maior estímulo à busca de métodos alternativos de controle, a fim de evitar-se ou, pelo menos, minimizar os prejuízos que a vassoura-de-bruxa tem ocasionado. O controle biológico tem-se mostrado promissor (Bastos, 1988; Bastos, 1996a), podendo ser mais uma opção para o manejo integrado, com a vantagem do baixo custo e da redução da poluição do ambiente, em relação ao controle químico.

Dentre os agentes com potencialidade para reduzir a produção de inóculo de *C. pernicioso*, destaca-se o antagonista *Trichoderma stromaticum* sp. nov. (Samuels *et al.*, 2000), isolado a partir de vassouras secas de cacau-eiros e, identificado inicialmente como *T. viride* (Bastos, 1988), que tem recebido maior atenção devido as suas características de antagonismo em condições controladas e naturais (Bastos, 1996a; Bastos, 1996b).

Este trabalho objetivou avaliar a potencialidade de *T. stromaticum* na redução da esporulação de *C. pernicioso* e a infecção de lançamentos foliares e almofadas florais de cacau-eiros, sob condição de campo.

## Material e Métodos

### Produção e preparação do inóculo de *Trichoderma*

Para produção de inóculo, *T. stromaticum* foi cultivado em frascos Erlenmeyer de 1000 ml contendo 200 ml do meio líquido de batata (200 g) - mel de cana de açúcar (25 g) - água (1 l), durante 10 - 12 dias, sem agitação, em condições de laboratório (25 - 27°C). Obteve-se a suspensão homogeneizando por cerca de 3 minutos, em liquidificador, a massa fúngica e o meio de cultivo. Preparou-se a suspensão de inóculo, adicionando-se em sete litros de água três litros de suspensão de conídios e fragmentos de micélio, 0,05% de Tween 80 e 1,0% de açúcar-de-cana, e a seguir agitou-se até homogeneização completa, obtendo-se uma suspensão de  $6 \times 10^6$  conídios/ml.

## Experimento de campo

O experimento foi conduzido numa área com plantio formado por uma mistura de híbridos com aproximadamente 12 anos de idade, nos quais foi realizada uma poda fitossanitária em outubro/1997 (estação seca), que consistiu na remoção das vassouras vegetativas e frutos infectados.

O ensaio constou de quatro parcelas de cacau-eiros, contendo cada uma 50 plantas úteis separadas por uma bordadura de seis fileiras de cacau-eiros com os seguintes tratamentos: A) Aplicação de *Trichoderma* em 200 vassouras subdivididas em 4 repetições de 50 vassouras, penduradas ao acaso na copa de cacau-eiros distribuídos numa parcela; B) Idêntico a A, sem aplicação de *Trichoderma* (Testemunha 1); C) Aplicação de *Trichoderma* em 200 vassouras subdivididas em 4 repetições de 50 vassouras, deixadas sobre serrapilheiras, debaixo dos cacau-eiros dentro de uma parcela; D) Idêntico a C, sem aplicação de *Trichoderma* (Testemunha 2).

As vassouras penduradas ou deixadas sobre a serrapilheira foram pulverizadas com a suspensão, utilizando-se um pulverizador costal manual. As aplicações do agente biológico foram feitas durante o período chuvoso, sendo uma aplicação em dezembro, duas em janeiro e uma em fevereiro. A quantificação da frutificação (basidiomas produzidos) foi feita uma vez por semana, e a da produção de ramos (vassouras verdes e necróticas) e almofadas florais infectados foi feita em outubro/1998, oito meses após a última aplicação do antagonista.

Calculou-se o número médio de basidiomas e o número médio de ramos e almofadas florais infectados para avaliar o efeito dos diferentes tratamentos na produção de inóculo no chão e na copa e a incidência da doença na copa do cacau-eiro, respectivamente.

## Resultados e Discussão

O fungo *T. stromaticum* demonstrou ser um potencial agente de controle biológico ao reduzir a produção de basidiomas de *C. pernicioso*. De acordo com a Figura 1, verifica-se a atuação do *Trichoderma* como um antagonista capaz de reduzir o inóculo de *Crinipellis* tanto nas vassouras penduradas como nas deixadas sobre a serrapilheira. Tal ação foi evidenciada pela colonização das vassouras pelo hiperparasita, formando na superfície das mesmas massas esporógenas brancas (Figura 2). Os resultados indicaram que a produção de basidiomas nas vassouras tratadas com o antagonista foram de 3,9% em relação ao total produzido e nas não tratadas (testemunhas) de 96,1%.

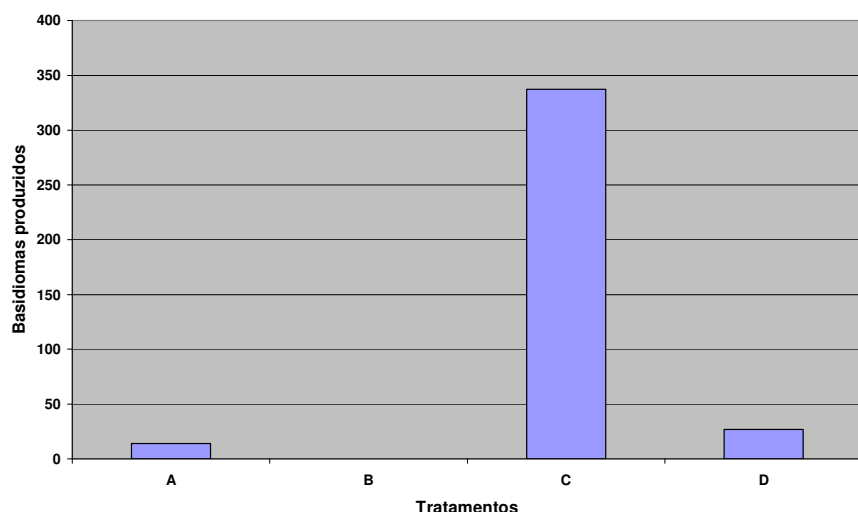


Figura 1. *Trichoderma stromaticum* na produção de basidiomas de *Crinipellis pernicioso* em vassouras de cacaueiros: *Trichoderma* aplicado em vassouras penduradas (A); *Trichoderma* aplicado em vassouras sobre a serrapilheira (B); Testemunha 1 – vassouras penduradas (C); Testemunha 2 – vassouras sobre a serrapilheira (D). As colunas representam médias de 4 repetições de 50 vassouras.



Figura 2. Vassouras de cacaueiros sobre a serrapilheira e colonizadas por propágulos de *Trichoderma stromaticum*.

As avaliações referentes à formação de basidiomas foram feitas durante oito meses e observou-se que as vassouras tratadas com *Trichoderma* paralisaram definitivamente a esporulação de *Crinipellis*, após poucas semanas do início do experimento, em contraste com as vassouras não tratadas (testemunhas), que continuaram a produzir basidiomas normalmente.

As vassouras são as principais fontes de inóculo, sendo na Amazônia, as vassouras da copa responsáveis por 70 a 80% dos basidiomas produzidos (Andebrhan, 1984). Além disso, a frutificação das vassouras na copa pode ocorrer por dois ou mais anos, ao contrário do

verificado nas vassouras deixadas no solo, dentro das plantações, cujo período produtivo foi no máximo de sete meses (Andebrhan *et al.*, 1983; Tovar e Ortiz, 1991). A produção de basidiomas nas vassouras sobre o solo (Figura 1) foi mais baixa do que na copa, contrariamente o que ocorre na Bahia (Luz *et al.*, 1997). Estes resultados corroboram com os de outros pesquisadores que relatam que a produção de basidiomas de *C. pernicioso* na Amazônia brasileira é maior nas vassouras suspensas (Almeida *et al.*, 1995; Rudgard, 1987; Costa *et al.*, 1997). Contudo, essas condições não afetaram a ação antagonista do *Trichoderma*, o qual foi capaz de reduzir e/ou inibir a formação de basidiomas nos dois sistemas.

Resultados semelhantes foram obtidos com experimentos realizados na região cacaueira da Bahia, onde o isolado de *T. stromaticum* denominado de TVC, reduziu 99,7% o número de basidiomas formados nas vassouras deixadas na serrapilheira em contato com o solo e 56,6% nas vassouras penduradas na copa de cacaueiros (Costa *et al.*, 1998).

Quanto à eficiência de *Trichoderma* na redução de infecções em ramos e de almofadas florais observou-se ação ativa do fungo, reduzindo acentuadamente o número de vassouras formadas e de almofadas florais infectadas (Figura 3). A produção de ramos e almofadas florais infectados foi, respectivamente, de 25,6% e 12,2% nos tratamentos com *Trichoderma* e de 74,4% e 87,8% nas testemunhas. Apesar da total inibição na produção de basidiomas nas vassouras sobre o solo e tratadas com o agente biológico, verificou-se que nos cacaueiros das parcelas desse tratamento, ocorreu a formação de vassouras vegetativas e de almofadas florais infectadas. Certamente isso se deve ao inóculo vindo de parcelas vizinhas, que produziram maiores quantidades de basidiomas. Não foi avaliada a ação quanto à redução da infecção de frutos, face a baixa produtividade, possivelmente devido ao efeito da drástica poda fitossanitária, realizada no início do experimento. Todavia, dados de trabalhos anteriores demonstraram que o antagonista promoveu uma redução significativa de frutos infectados por *C. pernicioso* (Bastos, 1996a).

Pelo exposto, constatou-se que a tendência dos resultados obtidos confirmam o potencial do agente



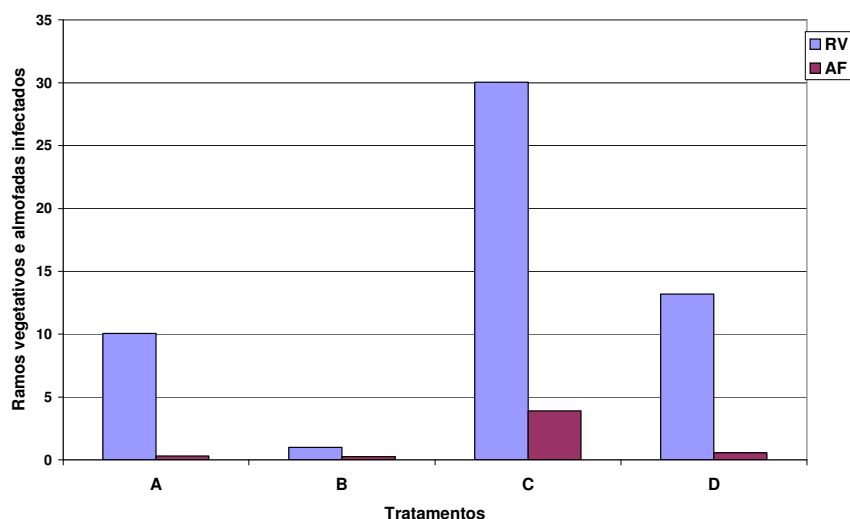


Figura 3- *Trichoderma stromaticum* na infecção de ramos vegetativos (RV) e almofadas florais (AF) de cacaueiros: *Trichoderma* aplicado em vassouras penduradas (A); *Trichoderma* aplicado em vassouras sobre a serrapilheira (B); Testemunha 1 – vassouras penduradas (C); Testemunha 2 – vassouras sobre a serrapilheira (D). As colunas representam médias de 50 cacaueiros.

biólogo *T. stromaticum* na capacidade de reduzir e/ou impedir a formação de basidiomas de *C. pernicioso* e como consequência, reduzir e/ou evitar infecções de cacaueiros.

### Literatura Citada

- ALMEIDA, L. C. de e ANDEBRHAN, T. 1987. Recuperação de plantações de cacau altamente atacadas por vassoura-de-bruxa na Amazônia brasileira. *Agrotrópica* (Brasil) 1(2):133 - 136.
- ALMEIDA, L. C. de, BASTOS, C. N. e FERREIRA, N. P. 1995. Produção de basidiocarpos de *Crinipellis pernicioso* em dois sistemas de cultivo do cacaueiro. *Fitopatologia Brasileira* 20(1): 60 - 64.
- ANDEBRHAN, T. et al. 1983. Produção de basidiocarpos nas vassouras deixadas no solo em diferentes meses do ano. Belém, CEPLAC/DEPEA. Informe Técnico 1983. pp. 42 - 44.
- ANDEBRHAN, T. 1984. Produção de basidiocarpos em relação ao controle fitossanitário da vassoura-de-bruxa. Belém, CEPLAC/DEPEA. Informe Técnico 1989. pp. 59 - 63.
- BASTOS, C. N. e SILVA, H. M. 1980. Doenças do cacaueiro na Amazônia Brasileira. Belém. CEPLAC/DEPEA/COPEs. Comunicado Técnico nº 2. 42p.
- BASTOS, C. N. 1988. Resultados preliminares sobre a eficácia de *Trichoderma viride* no controle da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso*) do cacaueiro. *Fitopatologia Brasileira* 13(4): 340 - 342.
- BASTOS, C. N. e DIAS, J. C. 1992. Redução na produção de basidiocarpos de *Crinipellis pernicioso* por *Trichoderma viride*. *Summa Phytopathologica* (Brasil) 18(3/4): 235 - 238.
- BASTOS, C. N. 1996a. Mycoparasitic nature of the antagonism between *Trichoderma viride* and *Crinipellis pernicioso*. *Fitopatologia Brasileira* 21(1):50 - 54.
- BASTOS, C. N. 1996b. Potencial de *Trichoderma viride* no controle da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso*) do cacaueiro. *Fitopatologia Brasileira* 21(4): 509 - 512.
- COSTA, J. C. B. et al. 1997. Produção de basidiomas de *Crinipellis pernicioso* em diferentes fontes de inóculo na região Amazônica. *Fitopatologia Brasileira* 22(4): 507 - 512.
- COSTA, J. C. B. et al. 1998. Ação antagonica de *Trichoderma* sp. sobre a produção de *Crinipellis pernicioso* no Estado da Bahia. In *Simpósio de Controle Biológico*, 1998. Anais. Brasília, EMBRAPA/CENARGEN. pp. 8.
- LUZ, E. D. M. N. et al. 1997. Cacau (*Theobroma cacao* L.) Controle de Doenças: In: Vale, F. X. R. e Zambolim, L., eds. *Controle de Doenças de Plantas. Gênes culturas*. Viçosa, MG, UFV/Departamento de Fitopatologia. Vol. 2. pp. 611 - 656.
- SAMUELS, G. J. et al. 2000. *Trichoderma stromaticum* sp. nov., a parasite of the cacao witches' broom pathogen. *Mycological Research* (no prelo).
- RUDGARD, S. A. 1987. Interpreting the epidemiology of cocoa witches' broom for the better disease management in Rondonia, Brazil. *Cocoa Growers Bulletin* nº 28. pp. 28 - 38.
- TOVAR, G. y ORTIZ, M. 1991. La escoba de bruja del cacao *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer en la región del Piedemonte Llanero de Colombia: Estudio de la fructificación del hongo. *Agronomía Colombiana* 8(1):139 - 151.

## SCIENTIFIC NOTE

### **YAM STEM CANKER, A NEW DISEASE OCCURRING IN BRAZIL CAUSED BY *Rhizoctonia solani***

*Denise Wanderlei Silva*<sup>1</sup>, *Sayonara P. M. Assis*<sup>2</sup>, *André L. Galvão*<sup>2</sup>, *Eduardo Ramalho Neto*<sup>1</sup>, *Maria Menezes*<sup>2</sup> and *Romero M. Moura*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Alagoas, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade, 57100-000, Rio Largo, Alagoas, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade, 52171-900, Recife, Pernambuco, Brasil.

*Rhizoctonia solani* is reported for the first time infecting yam (*Dioscorea cayennensis*) plants in Brazil. Morphological and cultural characteristics of the pathogen are described and the pathogenicity in stems established. Reports on *R. solani* on this Dioscoreaceae were not found in the literature.

**Key words:** *Rhizoctonia solani*, *Dioscorea* spp., yam stem canker

**Cancro do caule do inhame, uma nova doença ocorrendo no Brasil, causada por *Rhizoctonia solani*.** *Rhizoctonia solani* é relatada pela primeira vez infectando caule de plantas de inhame (*Dioscorea cayennensis*) no Brasil. Características morfológicas e culturais do patógeno são descritas e a patogenicidade em caules comprovada. Na literatura disponível não foi encontrado relatos de *R. solani* nesta Dioscoreaceae.

**Palavras-chave:** *Rhizoctonia solani*, *Dioscorea* spp., cancro do caule do inhame

In July 1997 stems of yam “cará-da-costa” (*Dioscorea cayennensis* Lam. var. *rotundata* Poir) showing symptoms of dark rot and canker (Figure 1a) were collected in Aldeia and São José do Belmonte counties, both localized in the State of Pernambuco, Brazil. Small pieces of decayed stems observed at the soil line were aseptically removed from diseased plants, considering the area of transition between healthy and infected tissue, following surface-desinfestation with 50% ethanol for 30 sec, in 1% NaOCl for 90 sec, rinsed twice in sterile water and implanted in potato-dextrose agar medium (PDA). The plates were incubated at  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  in a environment with  $55 \pm 2\%$  relative humidity. The fungus mycelium was at the begin colorless, turning brownish with age.

Pathogenicity of this isolate was investigated through wounding stems and tubers of two yam species, “cará-da-costa” and “cará-São Tomé” (*Dioscorea alata* L.), and inoculating with 4mm diameter plugs of 3 days-old mycelium from PDA. Stems and tubers used as controls were wounded but the fungus was omitted. Nine days after inoculation, typical symptoms of the disease were observed on stems, characterized by dark necrotic lesions and canker (Figure 1b). No symptoms were observed on non inoculated tubers. The pathogen was reisolated from necrotic tissues and subcultured in PDA, fulfilling Koch's Postulates.

The typical presence of hyphae in branches forming right angles, which are constricted at their junctions, match with the descriptions of the genus *Rhizoctonia* D.C. The species was further identified as *R. solani* Kühn., due to the presence of cells with several nuclei (Parmeter and Whitney, 1970). These were visualized using blue anilin stain. The teleomorph, the basidiomycete *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk (Ogoshi, 1987), was detected as loose and white mycelial strands or rhizomorphs on the surface of the tuber (Figure 1a).

*Rhizoctonia solani* has been previously described as the causal agent of leaf blights on *D. alata* in India (Choudhury, 1946). Ikotun (1983) isolated the genus *Rhizoctonia* from tubers of *Dioscorea* spp. in Nigeria. However, the species of the fungus was not specified. Consequently, this is the first report of *R. solani* causing stem rot on *D. cayennensis* and *D. alata* in Brazil. This pathogen has the potential to cause severe losses to plants in the field, which can be intensified in storage, if control measures were not taken. The isolate of *R. solani* from yam is deposited at the fungi collection of the Mycology Laboratory of the Plant Pathology Department of the Federal Rural University of Pernambuco.

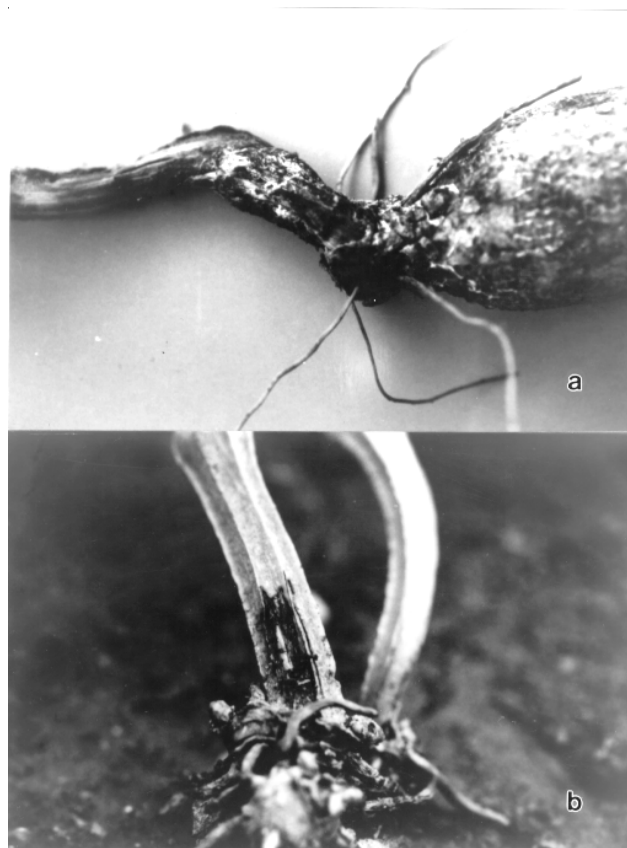


Figure 1- *Rhizoctonia solani* on *Dioscorea* spp. (a) Natural symptoms of stem rot on *D. cayennensis* and white rhizomorphs of the teleomorph *Thanatephorus cucumeris*; (b) Stem rot of inoculated *D. alata*.

## Literature Cited

- CHOUDHURY, S. A. 1946. *Rhizoctonia* leaf blight of *Dioscorea*. Current Science 15(3):81-82.
- IKOTUN, T. 1983. Post-harvest microbial rot of yam tubers in Nigeria. Fitopatologia Brasileira 8 (1):1-8.
- OGOSHI, A. 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. Annual Review of Phytopathology 25:125-143.
- PARMETER Jr., J. R. and WHITNEY, H. S. 1970. Taxonomy and nomenclature of the imperfect state. In Parmeter Jr, J. R., ed. *Rhizoctonia solani*, biology and pathology. Berkeley. University California Press. pp. 7-19.

## NOVA OCORRÊNCIA DE *Callistomys pictus* (RODENTIA; ECHIMYIDAE) E ASPECTOS DE SUA HISTÓRIA NATURAL NA BAHIA

Antonia Marli V. da Encarnação<sup>1</sup>, Elbano P. de Figueiredo Moraes<sup>2</sup> e Marco Antônio de Freitas<sup>3</sup>

<sup>1</sup>CEPLAC/CEPEC/ Seção de Zoologia, Caixa Postal 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil. marli@cepec.gov.br

<sup>2</sup>Grupo Ambientalista da Bahia (GAMBA), Av. Juracy Magalhães Jr., 766, 41940-060, Salvador, BA, Brasil. pasch@svn.com.br

<sup>3</sup>UEFS/Dep. de Ciências Humanas e Filosofia, Km 4,5, BR 116 Norte, Feira de Santana, BA, Brasil. sapirang@lognet.com.br

Neste trabalho, registra-se a nova ocorrência de *Callistomys pictus*, em Elisio Medrado no Recôncavo baiano. Este roedor raro era antes conhecido apenas por exemplares do Sul da Bahia. São descritos também, seus hábitos e habitats.

**Palavras-chave:** roedor, habitat, hábitos, ecologia animal.

**New occurrence of *Callistomys pictus* (Rodentia; Echimyidae) in Bahia and aspects of its natural history.** In this paper, we relate a new occurrence of *Callistomys pictus*, a rare rodent, known before only in southern Bahia, Brazil. It is presently reported in Elisio Medrado, eastern Bahia. We describe its habits and habitats too.

**Key words:** rodent, habitats, habits, animal ecology.

*Callistomys pictus* é um roedor bastante raro (Fonseca et al., 1994), conhecido por poucos exemplares, dado até recentemente como endêmico do Sul da Bahia, nos arredores de Ilhéus (Pictet, 1841, Moojen, 1952, Marcovan, comunicação pessoal, 1994 e Emmons, 1990).

A espécie foi incluída por Pictet (1841) no gênero *Echimyis*, porém, atualmente, transferiram-na para o gênero *Callistomys*.

O animal é de fácil reconhecimento. Possui pelagem aristiforme, densa, nem sempre longa. A coloração varia de branca a cinza-clara, com largas manchas negras e brilhantes, marcando a cabeça no alto do crânio e estão presentes também entre as narinas, formam um colar ao redor do pescoço e estendem-se pelo dorso até dois terços iniciais da cauda. O ventre é de cor branca a cinza, podendo apresentar pequenas manchas escuras dispersas. A cauda é muito mais longa que o comprimento da cabeça e corpo juntos, densamente coberta de pêlos, com o terço terminal branco. As patas são largas e medianamente carnudas, esbranquiçadas ou amareladas por cima, solas negras até a base dos dedos. As orelhas são curtas não se projetando muito acima do crânio. As vibrissas são muito finas e de comprimento médio (figura 1).

Alves (1990), Pinto (1993) e Moura (1999) realizaram inventário da fauna de mamíferos da Mata Atlântica do

Sul da Bahia, mas não obtiveram exemplares de *C. pictus* em suas capturas. Pinto (1993) examinou um exemplar na Coleção Zoológica do CEPEC, identificando-o como *Isothrix pictus*. O local de captura do exemplar é duvidosa, mas, com certeza é do Sul da Bahia.

Fonseca et al. (1996) assinalam a existência de *C. pictus* no Estado do Maranhão, apontando-a como frugívora-granívora e de hábito arborícola. A ocorrência da espécie nessa área pode ser justificada porque no passado a Floresta Atlântica e a Amazônica estavam unidas por um contínuo florestal, o que veio se modificar em função de prováveis mudanças climáticas bruscas.

Em nossas observações, em cativeiro, comprovamos o hábito frugífero do animal, sendo milho, mamão e banana seus alimentos preferenciais. Sobe com facilidade em árvores, possui movimentos lentos e é extremamente manso, habituando-se facilmente aos tratadores. Caçadores apontam seu hábito noturno e é raramente avistado durante o dia, mesmo em locais onde existe em maior número.

Trabalhos mais recentes (Encarnação, Argolo e Santos, 1997 e Encarnação, Monteiro-Filho e Terra, 1999 a e b) reafirmam a ocorrência de *C. pictus* no sul da Bahia, registrando capturas nos municípios de Ilhéus, Itabuna e Lomanto Junior. Esses autores avistaram uma fêmea grávida no Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), em





Figura 1. *Callistomys pictus* exemplar fotografado na Serra da Jibóia por E.P. Moraes (2000).

1997 e outro exemplar em 2000. Em entrevistas realizadas com trabalhadores rurais nesse Centro, obtiveram-se informações de que a espécie era abundante na vegetação nativa, na década de 60, fazendo seus ninhos no alto das árvores, de preferência naquelas com grandes bromeliáceas, e que muito desses animais desapareceram após a implantação dos cacauais, apesar de ainda estarem presentes em pequeno número nessa área.

No presente trabalho, registra-se a ocorrência da espécie (01/01/1997), na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Jequitibá (12° 51'Sul e 39° 28'WG.), em Serra da Jibóia, no município de Elísio Medrado. Segundo o Grupo GAMBÁ (1999), a serra da Jibóia foi mapeada, sendo delimitados 22.500 ha de matas contínuas, com nascentes importantes das bacias do rio Dona e Jequiriçá, além de possuírem espécies da flora e fauna endêmicas, ameaçadas de extinção e espécies novas. A área possui mata ombrófila densa, semidecidual estacional, campos rupestres e na porção norte da Serra, ocorre transição para a caatinga, e a caatinga propriamente dita. O solo é latossolo, de média profundidade, com afloramentos rochosos (figura 2).

O exemplar, uma fêmea grávida, foi encontrado em um depósito da Reserva, fotografado e liberado (Moraes e Freitas, 1999).



Figura 2. Serra da Jibóia município de Elísio Medrado por M. A. de Freitas.

Conclui-se que muitos aspectos da história natural e da bioecologia de *C. pictus* ainda estão para serem descobertos, exigindo maiores esforços dos pesquisadores no sentido de conhecer mais sobre sua distribuição, hábitos de vida, estrutura de população, comportamento reprodutivo, variabilidade genética, que são informações básicas para a proteção da espécie. Finalmente, fica então ampliada a distribuição de *C. pictus*, no Estado da Bahia. Recomenda-se que a Serra da Jibóia seja tombada como área de proteção da espécie e que no CEPEC, nos locais próximos à seu avistamento, utilizem-se práticas agrícolas de baixo impacto ambiental.

## Agradecimentos

Agradecemos aos Srs. José Reis, de Lomanto Júnior, José Rabelo e Antônio S. Argolo (CEPEC) pela doação dos animais do Sul da Bahia; a Zacarias Alves da Rocha (CEPEC) pelas taxidermias, e ao Dr. Paulo dos Santos Terra, Pesquisador (CEPEC/UESC) pela revisão deste texto.

## Literatura Citada

- ALVES, M. C. 1990. The role of cacao plantations in the conservation of the atlantic forest of Southern Bahia, Brazil. Thesis Master of Arts. Gainesville, University Florida. 166 p.
- ALVES, M. C. 1999. Mamíferos de los bosques húmedos de América Tropical, una guía de campo. Santa Cruz de la Sierra, Fan Bolívia Editorial. Bolívia. pp. 243-244.
- ENCARNAÇÃO, A.M.V. da, ARGÔLO, A.J.S. e SANTOS, B.S. 1997. Roedor em risco de extinção. *Ciência Hoje (Brasil)* 22 (130): 54.
- ENCARNAÇÃO, A.M.V. da, MONTEIRO-FILHO, E.L. e TERRA, P. dos S. 1999a. Pequenos mamíferos do Centro de Pesquisas do Cacau no sul da Bahia. In: Encontro Nordestino de Zoologia, 12, Feira de Santana. Resumos. Feira de Santana, Universidade Estadual de Feira de Santana. p. 450.
- ENCARNAÇÃO, A. M.V. da, MONTEIRO-FILHO, E. L. e TERRA, P. dos S. 1999b. Sobre uma coleção de pequenos mamíferos (Mammalia) do Sul da Bahia. In: Encontro Nordestino de Zoologia, 12, Feira de Santana. Resumos. Feira de Santana, Universidade Estadual de Feira de Santana. p. 503.
- EMMONS, L. 1990. Neotropical rainforest mammals: a field guide. Chicago, University of Chicago Press. 281p.
- FONSECA, G.A.B. et al. 1994. Livro vermelho dos mamíferos ameaçados de extinção. Fundação Biodiversistas, Belo Horizonte. 479 p.
- FONSECA, G.A.B. et al. 1996. Lista anotada dos mamíferos do Brasil. Occasional Papers in Conservation Biology n° 4 (april): 32.
- PINTO, O. M. 1993. Inventário faunístico e conservação da Mata Atlântica do Sul da Bahia, Brasil: Relatório Técnico Projeto SUD - 002/93. Belo Horizonte, Fundação Biodiversistas. 73p.
- MOOJEN, J. 1952. Os roedores do Brasil. Instituto Nacional do Livro, Rio de Janeiro. Museu Nacional do Rio de Janeiro. 462 pp.
- MORAES, E.P.F. e FREITAS, M.A. 1999. Levantamento da ornitofauna e mastofauna da Serra da Jibóia, Municípios de Santa Terezinha e Elísio Medrado, Bahia. In: Encontro de Zoologia do Nordeste, 12º. Resumos. Feira de Santana, Universidade Estadual de Feira de Santana. p.453.
- MOURA, R. T. 1999. Inventário e diversidade de espécies de mamíferos na região da reserva biológica de Una, Una-Bahia: Relatório de atividades de Pesquisa na reserva Biológica de Una/Fazenda Jueirana. Belo Horizonte. 1998. 8p.
- PICTET. 1841. Notice sur les animaux nouveaux ou peu connus du Musée de Genève, ser. 1, Mammifères, (livr. 2); 29 fls. 7 e 8.



## Pau Brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.)

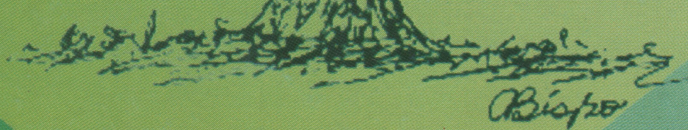
**D**a árvore do pau Brasil originou-se o nome do nosso país: BRASIL. Usava-se a madeira para extrair um corante vermelho, chamado brasilina, utilizado para tingir tecidos e produzir tinta para escrever. Inicialmente, eram chamados de brasileiros os negociantes da madeira vermelha e, depois, estendeu-se esta denominação a todos os habitantes da colônia. A exportação do pau Brasil constituiu-se no primeiro ciclo da economia brasileira de 1500 a 1850.

Isoladamente, atinge a altura de 8 a 12 m. na mata onde ocorre naturalmente pode alcançar até 30 m. A flor é amarelada com pétala central vermelho escuro que floresce normalmente no período de setembro a outubro.

Apesar de raro ainda é encontrado em algumas áreas remanescentes da Mata Atlântica do Rio Grande do Norte ao Rio de Janeiro. No entanto, seu plantio poderá ser feito em todo o país, tendo-se o cuidado nos primeiros dois anos de proteger as plantas das geadas, em regiões frias, e irrigá-las nas regiões mais secas.

Além da extração do corante, em função de sua durabilidade, resistência e flexibilidade, o pau Brasil foi muito usado na construção civil e naval, na carpintaria, na fabricação de móveis e de objetos torneados. Atualmente, embora em menor escala, também é usado em paisagismo de praças e vias públicas devido à beleza de sua copa e floração. Suas flores são utilizadas pelas abelhas para a produção de mel.

Ceplac. Cepec. s.d. Pau Brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.). Ilhéus. 1f. (Texto).



Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira  
Órgão Vinculado ao Ministério da Agricultura