

Agrotrópica

Volume 12, número 3, setembro a dezembro de 2000



Pau Brasil
500 Anos



Centro de Pesquisas do Cacau

Brasil



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

Ministro: Marcus Vinicius Pratini de Moraes

Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacau - 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: Ebiezal 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

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

v.

Quadrimestral

Substitui "Revista Theobroma"

1. Agropecuária - Periódico.

CDD 630.5

AGROTRÓPICA é indexada em

AGRINDEX; THE BRITISH LIBRARY; CAB (i.e. Horticultural Abstracts, Review of Plant Pathology, Forestry Abstracts); AGROBASE; Agricultural and Environment for Developing regions (TROPAG); ULRICH'S INTERNATIONAL PERIODICALS DIRECTORY (Abstract on Tropical Agriculture, Agricultural Engineering Abstracts, Agroforestry Abstracts, Bibliography of Agriculture, Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Excerpta Medical, Food Science & Technology Abstracts, Indice Agricola de América Latina y el Caribe, Nutrition Abstracts, Protozoology Abstracts, Review of Applied Entomology, Seed Abstracts, Tropical Oil Seeds Abstracts).

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 Agrotrópica.

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,
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

CEPLAC - Comissão Executiva do
Plano da Lavoura Cacaueira

AGROTRÓPICA. Publicação quadrimestral do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC)/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 bibliográficas: Maria Christina de C. Faria e Jurema Correia Santos.

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 -3217

Fax: (73) 214 - 3218

E-mail: agrotrop@cepec.gov.br

Tiragem: 650 exemplares

AGROTRÓPICA

V.12

Setembro - dezembro 2000

N.3

CONTEÚDO

ARTIGOS

- 135 Análise térmica diferencial de folhas da manta orgânica de diferentes coberturas vegetais, submetidas à oxidação com H_2O_2 . **G. A. Sodré, N. F. de Barros, E. de S. Mendonça, R. B. Cantarutti e M. P. F. Fontes.**
- 143 Danos causados por *Hemeroblemma mexicana* (Guenee) (Lepidoptera: Noctuidae) no cultivo do cacaueiro em Tabasco, México (em espanhol). **S. S. Soto e H. C. Madrigal.**
- 147 Trabalhadores do cacau: uma avaliação quantitativa. **S. D. P. Trevizan e H. G. de Moraes.**
- 151 Estabilidade de variedades e híbridos de milho no estado do Piauí no ano agrícola de 1998/1999. **M. J. Cardoso, H. W. L. de Carvalho, M. de L. da S. Leal e M. X. dos Santos.**
- 163 Efeito do uso de antitranspirantes e da redução da umidade na aclimatação de plântulas de Citrus micropropagadas (em inglês). **B. N. Hazarika, V. A. Parthasarathy e V. Nagaraju**
- 167 Efeito do método de inoculação e estádio da plântula de cacaueiro, à reação de *Crinipellis perniciosa*. **M. A. V. Agostini, E. D. M. N. Luz e S. D. V. M. Silva.**
- 173 Crescimento inicial e sobrevivência de mangabeiras (*Hancornia speciosa* Gomes) a nível de campo, em diferentes substratos. **R. D. Vieira Neto e M. F. Fernandes.**
- 181 Bactérias diazotróficas e fungo micorrízico *Glomus clarum* em mudas de pupunheira (*Bactris gasipaes* H.B.K). **A. R. V. de Carvalho, E. M. R. de Souza, V. L. D. Baldani, J. Dobereiner.**
- 189 Influência do Benomyl e Benzilaminopurina (BAP) sobre a proliferação *in vitro* de abacaxi. **A. L. de R. Maciel, A. B. da Silva, A. B. Pereira, M. A. Moreira e M. Pasqual.**

NOTA CIENTÍFICA

- 193 Formação de basidiomas em culturas de *Crinipellis perniciosa* pareadas com *Xylaria consociata*. **J. de C. do B. Costa, J. L. Bezerra e A. R. R. N. Cerqueira.**
- 195 Ocorrência da forma sexuada do teleomorfo de *Trichoderma stromaticum* na Bahia. **J. L. Bezerra, J. de C. do B. Costa, C. N. Bastos e F. G. Faleiro.**



MINISTRY OF AGRICULTURE
LIVESTOCK AND FOOD SUPPLY

CEPLAC - Executive Commission of
the Cacao Agriculture Plan

AGROTRÓPICA. Published every four months by the Cacao Research Center (CEPEC)/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 and Jurema Correia Santos.

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 - 3217

Fax: 55 (73) 214-3218

E-mail: agrotrop@cepec.gov.br

Circulation: 650 copies.

AGROTRÓPICA

V.12

September - December

2000

N.3

CONTENTS

ARTICLES

- 135 Differential thermal analysis of litter leaves from different plant covers submitted to oxidation by H_2O_2 (in Portuguese). **G. A. Sodré, N. F. de Barros, E. de S. Mendonça, R. B. Cantarutti and M. P. F. Fontes.**
- 143 Damage caused by *Hemeroblemma mexicana* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) to cocoa crop in Tabasco, México (in Spanish). **S. S. Soto and H. C. Madrigal.**
- 147 Cocoa workers: a quantitative evaluation (in Portuguese). **S. D. P. Trevizan and H. G. de Moraes.**
- 151 Stability of corn varieties and hybrid corn in Piauí State during agricultural year 1998/1999 (in Portuguese). **M. J. Cardoso, H. W. L. de Carvalho, M. de L. da S. Leal and M. X. dos Santos.**
- 163 Effect of reduced humidity and antitranspirants in acclimatizing micropropagated *Citrus* plantlets. **B.N. Hazarika, V.A. Parthasarathy and V. Nagaraju.**
- 167 Effect of inoculation methods and plants development stage on the reaction of cocoa seedlings to *Crinipellis perniciosa* (in Portuguese). **M. A. V. Agostini, E. D. M. N. Luz and S. D. V. M. Silva.**
- 173 Initial growth and establishment of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) trees in different substrates (in Portuguese). **R. D. Vieira Neto e M. F. Fernandes.**
- 181 Diazotrophic bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi in plantlets of peyjibae (*Bactris gasipaes* H.B.K.) (in Portuguese). **A. R. V. de Carvalho, E. M. R. de Souza, V. L. D. Baldani and J. Dobereiner.**
- 189 Influence of Benomyl and Benzylaminopurine (BAP) on *in vitro* proliferation of pineapple buds (in Portuguese). **A. L. de R. Maciel, A. B. da Silva, A. B. Pereira, M. A. Moreira and M. Pasqual.**

SCIENTIFIC NOTE

- 193 Formation of basidiomata in cultures of *Crinipellis perniciosa* paired with *Xylaria consociate* (in Portuguese). **J. de C. do B. Costa, J. L. Bezerra and A. R. R. N. Cerqueira.**
- 195 Occurrence of the sexual stage of *Trichoderma stromaticum* (in Portuguese). **J. L. Bezerra, J. de C. do B. Costa, C. N. Bastos and F. G. Faleiro.**

ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL DE FOLHAS DA MANTA ORGÂNICA DE DIFERENTES COBERTURAS VEGETAIS, SUBMETIDAS À OXIDAÇÃO COM H_2O_2

George Andrade Sodré¹, Nairam Félix de Barros², Eduardo de Sá Mendonça², Reinaldo Bertola Cantarutti² e Maurício Paulo Ferreira Fontes²*

¹CEPLAC/Centro de Pesquisas do Cacau, Caixa Postal 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil;

²Universidade Federal de Viçosa/ Departamento de Solos, 36570-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

*Universidade Estadual de Santa Cruz/DCAA

Neste trabalho avaliaram-se a resistência de folhas da manta orgânica à oxidação química com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e as alterações da lignina e celulose detectadas na Análise Térmica Diferencial (ATD). As folhas foram divididas em duas frações: folha intacta (FI) e fragmentos de folhas (FF) coletadas em pastagem, plantações de eucalipto, mata natural e capoeira, e submetidas as seguintes doses em mL de H_2O_2 mg⁻¹ matéria seca: 0,0; 0,025; 0,050; e 0,1. O máximo de carbono oxidado foi verificado na dose de 0,1 mL de H_2O_2 mg⁻¹ matéria seca. A redução do teor de carbono nas frações da pastagem não ajustou-se ao modelo de regressão utilizado, demonstrando que independentemente das doses o H_2O_2 não foi efetivo para oxidar este material. Sistemas de proteção das folhas, representados por ceras e suberinas, estiveram provavelmente, reduzindo a ação do H_2O_2 sobre componentes celulares mais facilmente oxidáveis. Com isso, as frações FI perderam proporcionalmente menos carbono do que as FF. As temperaturas e intensidade dos picos da ATD apresentaram diferenças entre os ambientes e suas respectivas frações. Termogramas das frações tratadas com H_2O_2 evidenciaram que alguma lignina de maior recalcitrância permanece após o tratamento. Este trabalho demonstrou que a análise térmica diferencial é uma ferramenta de baixo custo e rápida para estimar alterações da lignina.

Palavras-chave: ATD, ecossistemas florestais, carbono oxidado, lignina, celulose.

Differential thermal analysis of litter leaves from different plant covers submitted to oxidation by H_2O_2 . This work evaluated the resistance of litter leaves to chemical oxidation of hydrogen peroxide H_2O_2 and alterations in lignin and cellulose detect by Differential Thermal Analysis (DTA). Leaves were divided into two fractions: intact leaves (FI) and leaf fragments (FF) collected in areas of pasture, eucalyptus plantations, and natural and secondary forests. The concentration of H_2O_2 tested in mL H_2O_2 mg⁻¹ dry matter were: 0,0; 0,025; 0,05 and 0,1. The maximum content of oxidized carbon was obtained with 0,1 mL H_2O_2 mg⁻¹ dry matter. A simple linear regression model did not fit the reduction in carbon content observed for the litter fractions of the pasture area, indicating that H_2O_2 was not effective in oxidizing this material regardless of the amount used. Systems of leaf protection, especially waxes, probably reduced the effects of H_2O_2 and its action on less resistant cellular components, causing the FF fraction to loose proportionally less carbon than the FI fraction. There was variation in the best temperatures and in peak intensity during DTA between each sites. The thermograms for treated fractions indicated that some lignin of higher recalcitrance still remained after H_2O_2 treatment. This work has demonstrated that DTA is a useful, inexpensive, and time-saving tool to estimate alteration of lignin.

Key words: DTA, forest ecosystem, oxidized carbon, lignin, cellulose.

Introdução

Nos últimos anos muitos trabalhos têm abordado problemas relacionados a sustentabilidade agrícola nos trópicos, dando espaço para abertura de novas áreas de pesquisa, mas, poucos apresentam soluções conclusivas (Scholes et al. 1994). Estes mesmos autores listaram os cinco princípios básicos de sustentabilidade florestal nos trópicos, e incluem a manutenção ou incrementos nos níveis de matéria orgânica no solo como essenciais, principalmente por serem a decomposição e a mineralização de resíduos orgânicos os principais processos pelos quais os nutrientes são disponibilizados para as plantas nesses ambientes.

Se a resistência que os diferentes materiais têm à oxidação, seja ela de natureza química ou biológica, é função direta das suas características qualitativas, então, variações na qualidade podem interferir na sustentabilidade dos cultivos. Diante disto, abre-se uma área de pesquisa em que dentre os objetivos incluir-se-iam o desenvolvimento de métodos para estimar a taxa de decomposição da matéria orgânica em regiões tropicais e a modelagem da dinâmica da matéria orgânica sob diferentes modelos de exploração.

Dentre os componentes da manta orgânica, o folhedo, que refere-se à porção de folhas que cai sobre o solo, está em maior proporção e pode apresentar diferentes graus de fragmentação (Gama-Rodrigues, 1997). Este autor, trabalhando com vegetação de capoeira e de mata dos tabuleiros costeiros do sudeste da Bahia, encontrou que 95% da massa da manta orgânica eram compostas por folhas. Silva (1990) estimou em 4,2 Mg ha⁻¹ ano⁻¹ a quantidade média de folhas caídas tanto em florestas naturais, quanto em capoeiras, não tendo observado grandes variações entre esses dois ambientes.

A análise térmica diferencial (ATD) já é utilizada há bastante tempo na área florestal em estudos sobre resistência da madeira em função da sua qualidade (Shafizadeh, et al., 1976; Trugilho, 1995; Carvalho, 1997). Isso é feito a partir da identificação de picos referentes a reações endotérmicas ou exotérmicas, que se expressam em consequência das diferentes propriedades termais dos componentes orgânicos. No caso da qualidade das folhas que compõem a manta, essa é uma ferramenta ainda incipiente, principalmente se o enfoque for para alterações da lignina e celulose.

A medida que se aumenta a temperatura, a celulose sofre despolimerização originando compostos intermediários como a levoglucosana e aos 350 °C ocorre degradação total da sua rede cristalina. Este é um mecanismo conhecido e bem descrito por Shafizadeh, et al., (1976), ao contrário da lignina que possui maior

estabilidade térmica em razão de sua estrutura mais complexa, fato que lhe confere mecanismo de reação a degradação térmica pouco conhecido (Trugilho, 1995). Carvalho (1997) observou que a lignina permanecia indiferente ao ataque de diversos sais comumente utilizados para retardar a combustão da madeira.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência de folhas da manta orgânica à oxidação química com peróxido de hidrogênio H₂O₂ e alterações qualitativas da lignina e celulose detectadas na análise térmica diferencial (ATD).

Material e Métodos

O material para estudo foi coletado em áreas da VERACEL, no município de Eunápolis, região sudeste do estado da Bahia. A área de influência compreende o polígono entre as latitudes sul de 15° 20' e 17° 20' e longitudes oeste de 39° 00' e 40° 00'. O clima da área é quente e úmido, sem estação seca definida, com temperatura média anual de 23 °C e precipitação em torno de 1.500 mm ano⁻¹.

A amostragem foi realizada no mês de abril de 1998 em áreas remanescentes da Mata Atlântica, capoeira, pastagem de capim braquiaria (*Brachiaria decumbens*) e plantações de eucalipto. O mês de abril foi escolhido para a coleta por ter-se observado grande acúmulo de manta orgânica nas áreas citadas, como decorrência de elevado déficit hídrico ocorrido entre os meses de janeiro e março de 1998.

Trabalhou-se com amostras de folhas coletadas na manta orgânica as quais foram estratificadas em duas frações: folhas intactas (FI) e fragmentos de folhas (FF). Caracterizou-se como FI as folhas frescas (recém caídas) de cor verde a bronzeada, apresentando alta tenacidade e elevada dureza. O material de FF caracterizou-se por apresentar folhas parcialmente decompostas com cor variando entre cinza e parda, sendo localizada na parte inferior da manta. As subamostras foram coletadas em nove parcelas de 50 x 60 cm, delimitadas por um gabarito de madeira distribuídas em aproximadamente 400m², em cada uma das áreas. As amostras foram secas em estufa com circulação de ar forçada a temperatura de 60 °C para obter o peso da matéria seca.

A resistência à mineralização das frações da manta orgânica foi medida com uso da metodologia adaptada de Sanches (1986), que fundamenta-se na maior resistência de compostos mais polimerizados à oxidação com H₂O₂.

Em tubos de vidro de 100 mL colocou-se 0,4g de FI e FF secos a 60 °C, moídos e inicialmente umedecidos

com 5 mL de água destilada. Em seguida, adicionou-se H_2O_2 30% nas quantidades 0,0; 0,025; 0,050; e 0,1 mL H_2O_2 mg^{-1} matéria seca. Após homogeneizar a mistura, os tubos foram transferidos para banho - maria à temperatura de 80 °C para processar a oxidação.

A adição de H_2O_2 foi realizada aos poucos até atingir a quantidade correspondente a cada tratamento. O tempo que cada amostra ficou em banho - maria, variou de três à seis horas, sendo retiradas à medida em que secavam. Após a oxidação, os materiais foram transferidos para estufa a 60 °C por um período de 12 horas a fim de eliminar o excesso de H_2O_2 . A partir daí o resíduo remanescente foi moído em almofariz, passado em peneira de malha 0,2 mm e, posteriormente, submetido à determinação de carbono por via úmida, usando a metodologia de Walkley - Black descrita por Allison (1965), com aquecimento externo a 150 °C por três minutos.

A análise térmica diferencial (ATD), para determinação das alterações qualitativas na celulose e lignina foi realizada em um aparelho de análise da marca RIGAKU, tomando-se 1,6 mg de amostra de cada fração. Foram utilizados os resíduos remanescentes após o ataque com as doses de 0,0 e 0,1 mL de H_2O_2 mg^{-1} MS que receberam as denominações de com e sem H_2O_2 . Antes de proceder as análises as amostras foram secas a 60 °C, moídas e passadas em peneira de malha 0,2 mm.

As amostras foram acondicionadas em cubetas de alumínio de 5 mm de diâmetro e 2,5 mm de altura. Para a análise a temperatura variou de 20 a 550 °C, a velocidade de aquecimento foi de 20 °C minuto⁻¹, na sensibilidade de 0,1 mV cm⁻¹ e velocidade do papel diagrama de 5mm minuto⁻¹. Como material inerte, foi utilizada α -alumina com 99,8% de pureza.

Como instrumento de comparação, foram obtidas temperaturas relativas aos picos em padrões de celulose e lignina de alta pureza, tipo alfa celulose (SIGMA) e lignina kraft (ALDRICH). Com base na temperatura e intensidade dos picos desses padrões, procurou-se identificar nos termogramas das amostras os picos relativos a estes compostos, inferindo-se sobre a presença e alterações da lignina e celulose.

Foram também determinados os teores iniciais de celulose, lignina e cinza presentes nas frações FI e FF das diferentes coberturas utilizando o método da fibra em detergente ácido (FDA) de Van Soest e Wine (1968), que se baseia na separação das diversas frações constituintes do material, por meio de reagentes específicos denominados detergentes.

A partir dos teores de carbono em função de diferentes concentrações de H_2O_2 , foram obtidos modelos de correlação linear para estimativa do carbono oxidado.

Foi adotado o delineamento inteiramente casualizado com 8 tratamentos, e quatro repetições a fim de verificar as variações entre os teores de celulose, lignina e cinza. Na comparação dos tratamentos, foi utilizado o teste de Student -Newman - Keuls a 5% de probabilidade.

As análises de ATD, por terem sido realizadas apenas com e sem tratamento de H_2O_2 , foram interpretadas por comparação de valores de temperatura e intensidade dos picos.

Resultados e Discussão

Dentre as frações estudadas, os maiores teores de cinzas foram encontrados na FF de pastagem, eucalipto e capoeira (Figura 1), o que é devido principalmente ao maior contato que os fragmentos têm com minerais do solo nestes três ambientes e a estreita relação existente entre os teores de cinza e sílica, sendo a sílica obtida pela diferença de peso da cinza antes e após sua calcinação a 850 °C, Van Soest e Wine (1968).

As diferentes frações da manta orgânica tiveram comportamento diferenciado quanto à perda de carbono em função da oxidação com H_2O_2 . Os teores máximos de carbono oxidado foram verificados na concentração de 0,1 mL de H_2O_2 mg^{-1} MS, os quais em relação a concentração 0,0 corresponderam a 7,9, 13,7, 18,2 e 11,5% na FI e 9,4, 19,4, 23,1 e 16,9 % para FF da pastagem, eucalipto, mata e capoeira, respectivamente. Independentemente das concentrações utilizadas, não se observou significativa redução do teor de carbono nas frações FI e FF provenientes da pastagem demonstrando que as concentrações de H_2O_2 utilizadas foram insuficientes para oxidar este material, (Quadro 1).

Considerando as perdas de carbono em função das concentrações crescentes de H_2O_2 e os valores de $\hat{\beta}_1$ (Quadro 1), têm-se a seguinte ordem: mata > capoeira > eucalipto, para FF e eucalipto > mata > capoeira >, para FI. Pelas declividades das equações de regressão, para o carbono oxidado em função das diferentes concentrações de H_2O_2 , verifica-se também que os fragmentos de folha perdem, proporcionalmente, mais carbono do que as folhas intactas para concentrações equivalentes em todos os ambientes.

O H_2O_2 foi mais eficiente em oxidar o carbono das FI, pelo fato desta fração encontrar-se em estágio mais avançado de decomposição que os seus respectivos FF. Isso ocorre porque sistemas de proteção das folhas representados principalmente por ceras, suberinas e quitinas presentes em maiores quantidades nas FI provavelmente reduzem a ação do oxidante e sua atuação

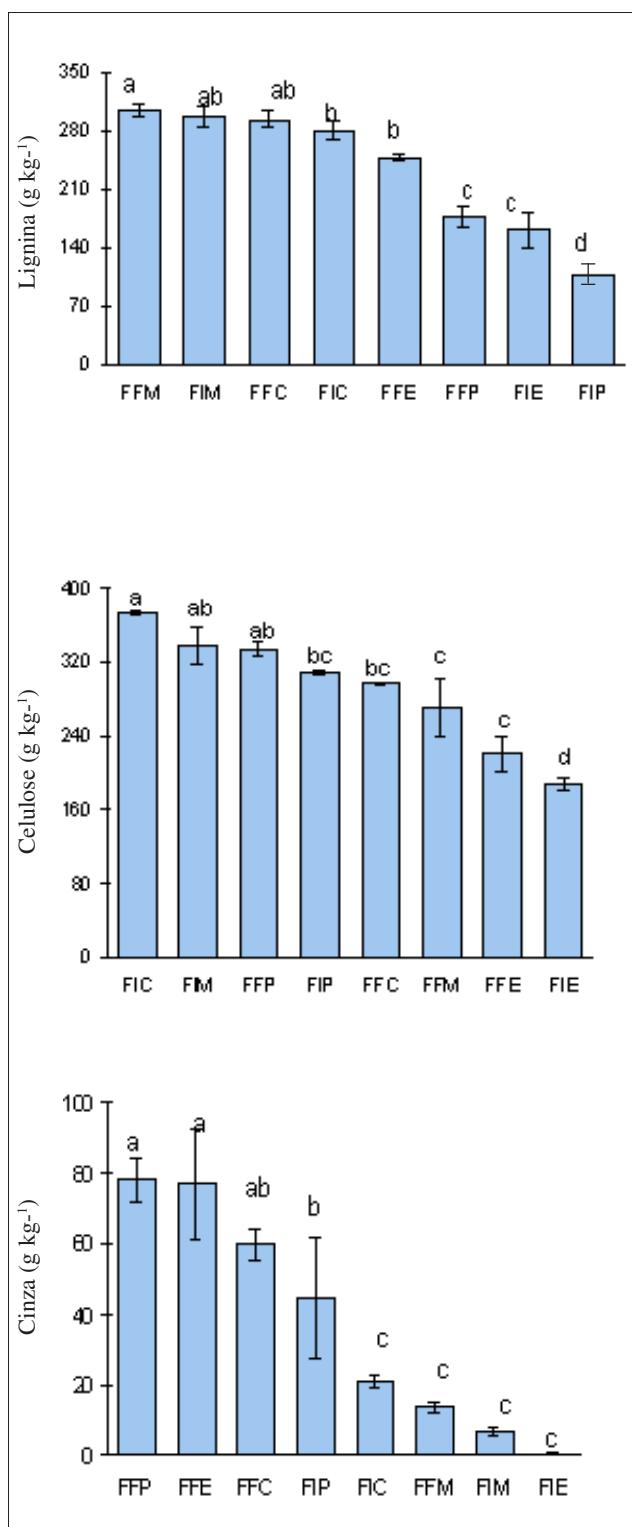


Figura 1 – Teor médio de lignina, celulose e cinza (\pm erro padrão) das frações folha intacta (FI), fragmentos de folha (FF) da manta orgânica de pastagem (P), eucalipto (E), mata (M) e capoeira (C). (médias seguidas de pelo menos uma mesma letra, não diferem entre si pelo teste Student - Newman - Keuls $P > 0,05$).

Quadro 1- Estimativas da constante ($\hat{\beta}_0$), dos coeficientes de regressão ($\hat{\beta}_1$) e determinação (r^2) para o carbono em função de diferentes concentrações de H_2O_2 em frações da manta orgânica sob diversos ambientes no sudeste da Bahia.

Tratamentos ¹	$\hat{\beta}_0$	$\hat{\beta}_1$	r^2
FIP	367,1022	-	-
FFP	351,4935	-	-
FIE	493,1640	-809,4090	0,72**
FFE	459,0430	-844,7190	0,95**
FIM	455,7990	-761,7970	0,87**
FFM	455,3190	-1.003,9700	0,94**
FIC	471,5400	-648,8910	0,69*
FFC	439,2090	-862,6200	0,77**

¹ FI: fração folha intacta; FF: fração fragmentos de folhas em pastagem(P), eucalipto(E) mata(M) e capoeira(C) respectivamente.

* e ** $P < 0,05$ e $0,01$ respectivamente.

sobre componentes celulares de mais baixa resistência. Taylor e Parkinson (1988) verificaram que a presença de substâncias orgânicas, como suberina na superfície das folhas intactas, podem diminuir a permeabilidade e retardar a infiltração de água e, consequentemente a taxa de decomposição de folhas de *Pinus*.

As folhas da manta orgânica, com e sem tratamento com H_2O_2 , quando comparadas em relação as temperaturas e intensidade dos picos da ATD, apresentaram diferenças entre os ambientes e suas respectivas frações. Na análise de lignina e celulose puras, registraram-se picos exotérmicos caracterizados como de primeira e segunda ordens para a lignina a 375 e 510°C respectivamente e pico endotérmico para celulose a 350 °C (Figura 2). Para lignina pura, os picos exotérmicos que ocorreram a partir de 300°C são consequência do desprendimento de ligações entre cadeias alifáticas e aromáticas com quebra de ligações éter α e β - aril-alquil (Obst,1983).

Para todas as frações, a fase exotérmica iniciou por volta de 300 °C, não se encontrando diferenças entre o primeiro pico nos tratamentos com e sem H_2O_2 . Entretanto, para o segundo pico a temperatura foi superior em todos os tratamentos com H_2O_2 (Figuras 3 e 4). Este tratamento, possivelmente muda à estrutura dos compostos segregando formas de lignina mais resistentes, provavelmente sem hemiceluloses associadas, resultando em maior expressão deste pico. Assim, o segundo pico estaria ligado diretamente à quebra das ligações entre cadeias alifáticas da estrutura verdadeira da lignina livre de hemiceluloses. Whistler (1991), verificou que em *Pinus densiflora*,

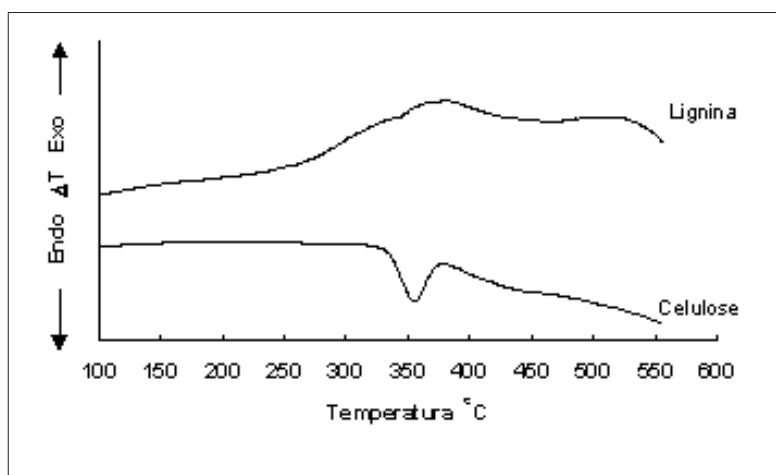


Figura 2 – Termogramas de Análise Térmica Diferencial para lignina e celulose puras. Endo e Exo correspondem aos picos endotérmicos e exotérmicos, respectivamente.

fragmentos de lignina com alto grau de hidrofobismo podem co-existir com hemiceluloses ligados por pontes de hidrogênio e ligações covalentes.

No caso da pastagem as diferenças entre os picos poderiam ser explicadas em função de mudanças na estrutura da lignina como observado por Quicke e Bentley (1959). Estes autores registraram aumento gradual do grupo metoxil em proporção direta ao grau de maturidade das gramíneas. Estes resultados mostram também que o H_2O_2 consome inicialmente formas mais facilmente oxidáveis de carbono, fazendo com que o material resultante exija temperaturas mais elevadas para romper suas ligações químicas estruturais com

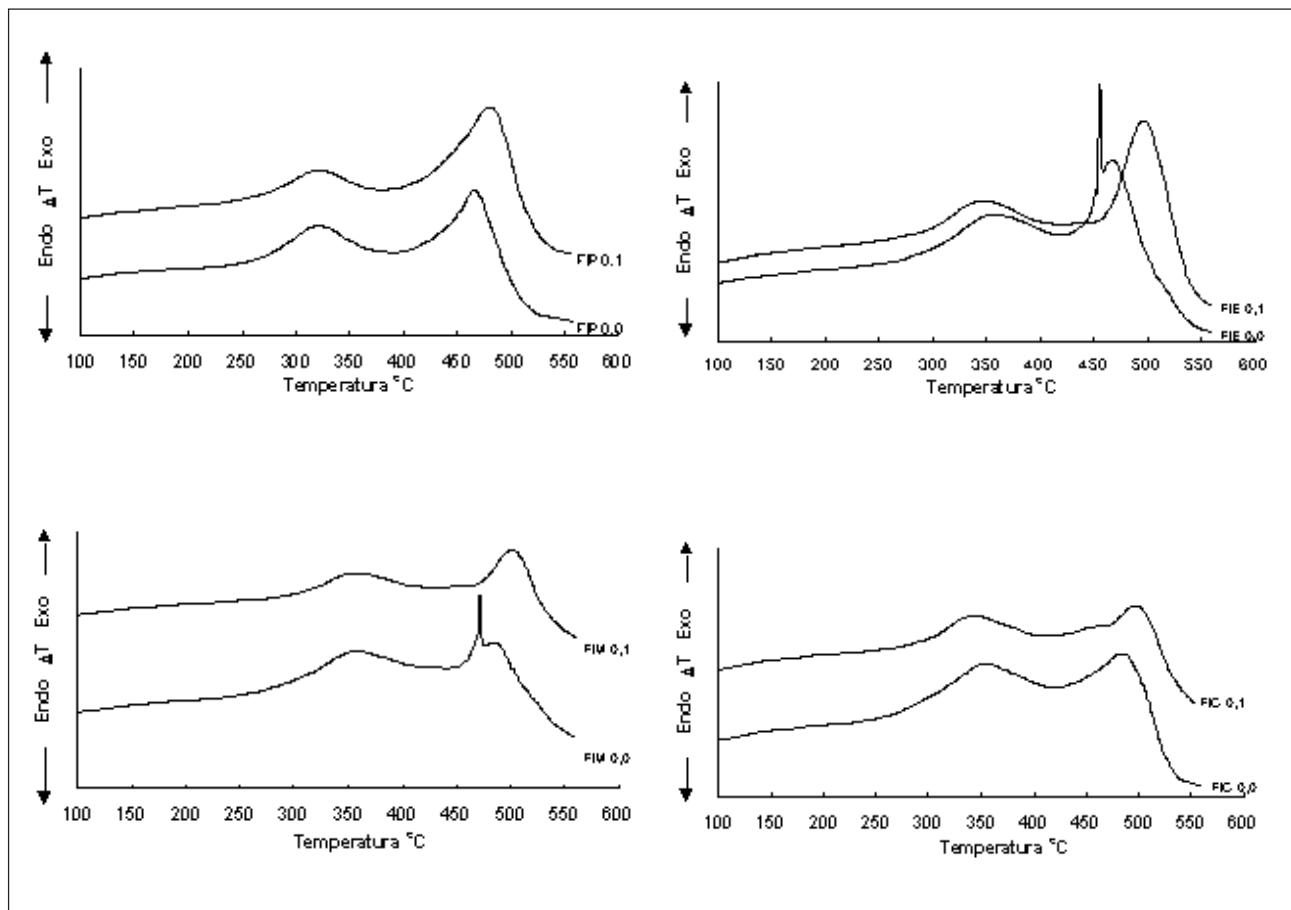


Figura 3 - Termogramas de análise térmica diferencial para folhas intactas (FI) da manta orgânica tratadas com (0,1 mL de H_2O_2 mg^{-1} MS) e sem tratamento (0,0 mL de H_2O_2 mg^{-1} MS) de (P) pastagem, (E) eucalipto, (M) mata e (C) capoeira. Endo e Exo correspondem aos picos endotérmicos e exotérmicos, respectivamente.

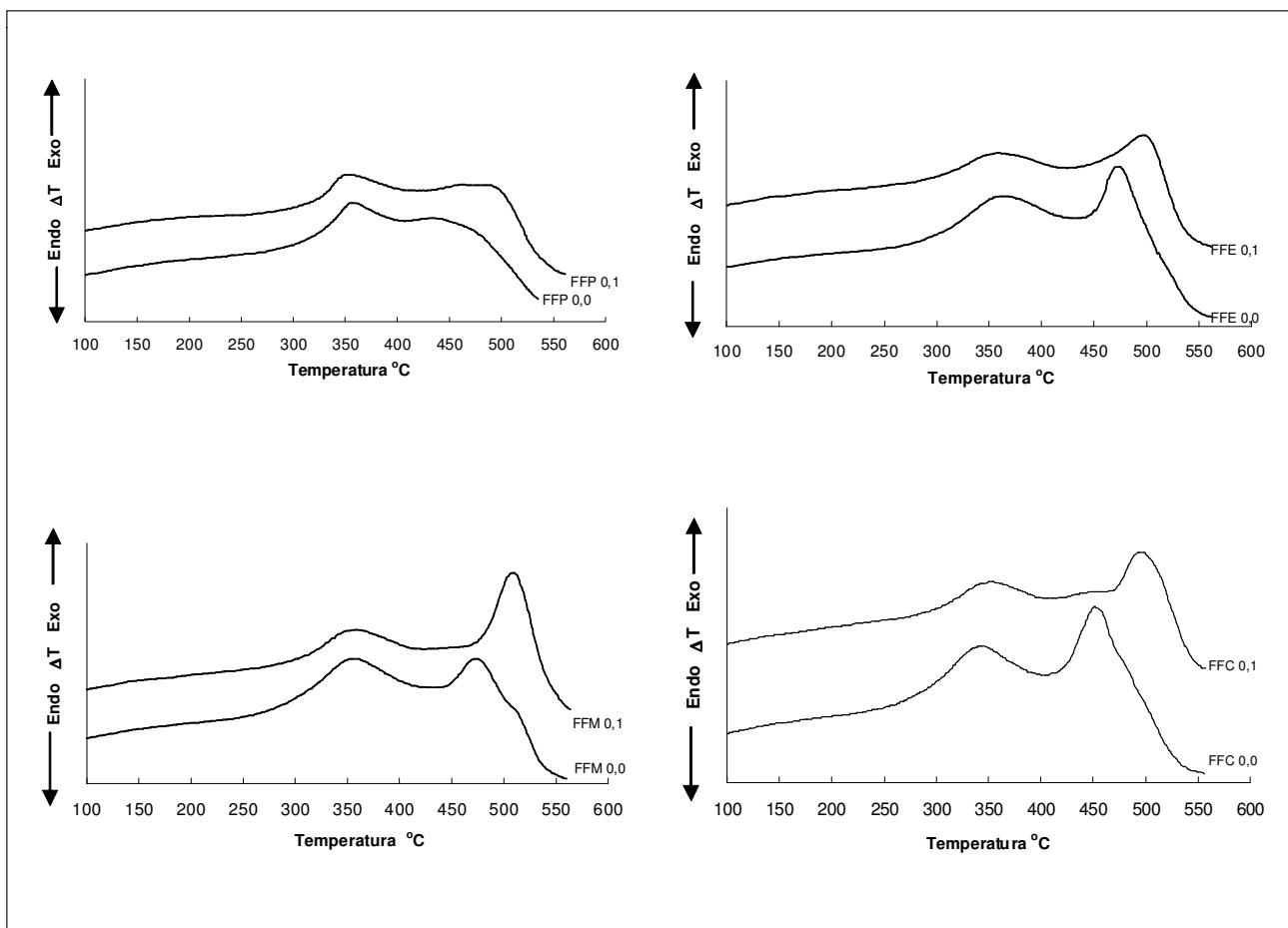


Figura 4 - Termogramas de análise térmica diferencial para fragmentos de folhas (FF) da manta orgânica tratadas com (0,1 mL de $\text{H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1}$ MS) e sem tratamento (0,0 mL de $\text{H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1}$ MS) de (P) pastagem, (E) eucalipto, (M) mata e (C) capoeira. Endo e Exo correspondem aos picos endotérmicos e exotérmicos, respectivamente.

consequente liberação de energia, registrada nos termogramas como picos exotérmicos.

Picos endotérmicos, que ocorrem entre 150 e 350 °C como consequência da desidratação e degradação da estrutura cristalina da celulose, não foram encontrados nas análises, mesmo quando a temperatura de aquecimento e a velocidade de deslocamento do papel diagrama foram diminuídas, ou quando foi aumentada a quantidade de amostra, os picos correspondentes a celulose não evidenciaram-se. A complexidade química dos componentes das folhas pode também ter contribuído para a ausência destes picos no material estudado, uma vez que na celulose pura este pico foi verificado a 350°C (Figura 2). Carvalho (1997), trabalhando com sais ignífugos, explica que picos endotérmicos desaparecem em materiais tratados devido à ruptura das regiões

cristalinas da celulose pelo produto químico utilizado.

Na ATD da FI de mata e de eucalipto sem tratamento com H_2O_2 , foi também observado, junto ao pico de segunda ordem, um segundo pico de intensidade maior (Figura 3). Picos de intensidade e temperatura semelhantes foram encontrados em ATD de ácido tânico puro (dados não publicados). Esta ocorrência sugere a presença de compostos taniínicos que seriam consumidos no tratamento com H_2O_2 uma vez que estes picos não foram registrados nos termogramas das frações tratadas com 0,1 mL de $\text{H}_2\text{O}_2 \text{ mg}^{-1}$ MS.

É possível que a quantidade de material utilizado nas análises deste trabalho tenham sido insuficientes. Carvalho (1997) trabalhou com equipamento ATD de outro fabricante, com amostra de madeira de eucalipto cem vezes maior em peso, obtendo picos exotérmicos

a 460 °C para lignina e endotérmicos a 350°C para celulose. Ao passo que Cebulak e Pacha (1997), trabalhando com madeira de *Pinus* decomposta, taxa de aquecimento de 10°C minuto⁻¹ e 18 mg de peso por amostra, obtiveram picos exotérmicos a 300 e 420°C, mas também não encontraram picos endotérmicos.

Conclusões

O tratamento da manta com H₂O₂ mostrou que existem diferenças qualitativas entre a folha intacta e fragmentada, indicadas pelas diferenças nos teores de carbono consumido na oxidação. Considerando as perdas de carbono relativas às quantidades crescentes de H₂O₂, a ordem foi de: mata > capoeira > eucalipto, para fragmentos e eucalipto > mata > capoeira para folhas intactas.

Devido ao baixo custo e rapidez da análise a ATD pode ser utilizada como ferramenta para estimar alterações da lignina em folhas com diferentes estágios de decomposição. Contudo, faz-se necessário padronizar o método, principalmente no que se refere a quantidade, teor de umidade das amostras utilizadas e temperatura de aquecimento.

Literatura Citada

- ALLISON, L.E. 1965. Organic Carbon. In: Black, C.A., eds. Methods of soil analysis. Agronomy series, 9. Madison, ASA. pp.1367-1379.
- CARVALHO, A. M. M. L. 1997. Efeito da impregnação da madeira de *Eucalyptus grandis* W. com sais ignifugos na produção e na qualidade do carvão, Dissertação de doutorado. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 121p.
- CEBULAK, S.; PACHA, J. 1997. Oxyreactive thermal analysis in studies of organic matter alterations. In: Drozd, J.;Gonet, S.S.; Senesi, N.; Weber, J. (eds). The Role of Substances in the ecosystems and Environmental Protection. Wroclaw, Poland, IHSS. pp.169-173.
- GAMA - RODRIGUES, A.C. da 1997. Ciclagem de nutrientes por espécies florestais em povoamentos puros e mistos em solos de tabuleiro da Bahia. Dissertação de Doutorado. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 108p.
- OBST, J.R. 1990. Analytical pyrolysis of hardwood and softwood lignin and its use in lignin-type determination of hardwood vessel elements. *Journal of Wood Chemistry and Tecnology* 3(4): 377 -397.
- QUICKE, O.V.; BENTLEY, O.G. 1959. Lignin and metoxyl groups as related to the decreased of digestibilities of matures foragens. *Journal Animal Science* 18 (1): 365-73.
- RIGAKU (s. d.). Corporation, Instruction Manual for Differential Thermal Analysis DTA, Nº Me 800FT2, SEGAWA BLDG, 2-8 Tokyo, Japan.
- SANCHES, M.P 1986. Dinâmica da matéria orgânica e de nutrientes num Latossolo Roxo distrófico submetido aos sistemas de plantio convencional e direto e as diferentes sucessões de culturas. Tese Mestrado. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 94p.
- SHAFIZADEH, F., SARKANEN, K.V.; TILLMAN, D.A. 1976. Thermal uses and properties of carbohydrates and lignins. 172 nd San Francisco, National Meeting of the American Chemical Society. pp.1-18.
- SCHOLES, M.C. et al. 1994. Soil fertility research in response to the demand for sustainability. In: Woomer, P.L. and Swift, M.J. (eds). The Biological Management of Tropical Soil Fertility. s.l. pp.1- 14.
- SILVA, L.F. da. 1990. Interação solo - vegetação em floresta primária e capoeira do ecossistema de tabuleiro do sudeste da Bahia. Agrotrópica (Brasil) 2 (2): 96-104.
- SJÖSTRÖM, E. 1993. Wood chemistry: fundamentals and apllications. 2 ed. New York, Academic Press. 293p.
- TANG, W.K. 1967. Effect of inorganic salts on pyrolysis of wood, alfa cellulose, and lignin determined by dynamic thermogravimetry. Madison, Forest Products Laboratory. 16p.
- TAYLOR, B.R.; PARKINSON, D. 1988. Annual differences in quality of leaf litter of aspen (*Populus tremuloides*) affecting rates of decomposition. *Canadian Journal of Botany* 66 (10): 1940 -1947.
- TRUGILHO, P. F. 1995. Aplicação de algumas técnicas de análise multivariadas na avaliação da qualidade da madeira e do carvão vegetal de *Eucalyptus*. Dissertação de Doutorado. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 145p.

- VAN SOEST, P.; WINE, R. H. 1968. Development of comprehensive system of feed analysis and its applications to forages. *J Addoc.* 51 pp.780-785.
- WHISTLER, R. L. 1991. Hemicelluloses. In Lewing, M. e Goldstein, I.S. (eds). *Wood structure and composition*. New York, Marcel Dekker. pp. 308-313.

DAÑOS CAUSADOS POR *Hemeroblemma mexicana* (GUENÉE) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EN EL CULTIVO DE CACAO EN TABASCO, MEXICO

Saúl Sánchez Soto y Hipólito Cortéz Madrigal

Colegio de Postgraduados, Campus Tabasco. Apartado Postal 24, 86500, H. Cárdenas, Tabasco, México.

El estudio tuvo como objetivo determinar el daño causado por larvas de *Hemeroblemma mexicana* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) sobre frutos jóvenes de cacao, expresado como porcentaje de frutos severamente dañados. Para ello se utilizó una plantación que se mantuvo libre de aplicaciones de insecticidas y de otras prácticas fitosanitarias. Con el propósito de observar alguna relación en cuanto a la densidad poblacional de adultos y del porcentaje de frutos dañados, en otra plantación se determinó la fluctuación poblacional de palomillas junto con el porcentaje de frutos dañados durante el principal período de fructificación. Los resultados revelan que *H. mexicana* es capaz de dañar seriamente más del 30% de los frutos jóvenes de cacao bajo condiciones naturales. Por otro lado, la fluctuación poblacional de adultos no presentó una correlación con el porcentaje de frutos dañados. Además, se discute el posible efecto de algunas prácticas culturales en la incidencia de la plaga.

Palabras clave: *Theobroma cacao*, Insecta, plaga, daños.

Damage caused by *Hemeroblemma mexicana* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) to cocoa crop in Tabasco, Mexico. The aim of this work was to determine the damage caused by larvae of *Hemeroblemma mexicana* (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) on shergillies, expressed as percentage of pods damage hardly. For it, was utilized one plantation of cocoa which was free of insecticides and other phytosanitary practices. In another plantation was determined the populational fluctuation of moths of *H. mexicana* and the percentage of shergillies damage during the main period of fructification. The results showed that larvae of this pest can damage hardly more than 30% of shergillies under natural conditions. The populational fluctuation of adults not showed a correlation with the percentage of pods damage. On the other hand, the possible effect of some cultural practices onto the incidence of this pest is discussed.

Key words: *Theobroma cacao*, Insecta, pest, damage.

Introducción

El cacao (*Theobroma cacao* L.) ha sido por muchos años uno de los cultivos de mayor importancia en el estado de Tabasco, México. No obstante, uno de los problemas que afectan su producción es el daño causado por insectos, siendo uno de ellos el lepidóptero *Hemeroblemma mexicana* (Guenée) (Sánchez, 1995), el cual fue citado por este autor como plaga del cacao en Tabasco con el nombre de *Peosina mexicana* (Guenée); sin embargo, de acuerdo con Beutelspacher (1992) actualmente el nombre válido es *Hemeroblemma mexicana*. Además de México, esta especie es conocida como una plaga del cultivo de cacao en Brasil desde hace más de medio siglo (Silva, 1944).

La larva de *H. mexicana* es de hábitos crepusculares o nocturnos. Se alimenta de hojas jóvenes, brotes tiernos, flores y frutos del cacaotero, pero los daños son particularmente importantes cuando ataca a estos últimos. Los frutos jóvenes pueden ser consumidos totalmente o ser dañados en tal grado que llegan a morir. Cuando no mueren, éstos crecen deformes constituyéndose en frutos de poco valor económico. La larva también puede atacar frutos desarrollados y causarles daños de consideración (Silva, 1944; Lima, 1949; Abreu, 1968; Smith, 1972; Costa, 1977; Abreu *et al.*, 1989). Silva (1956) menciona que en Brasil, en ciertos años este insecto se presenta en altas poblaciones consumiendo grandes cantidades de frutos jóvenes de cacao. De acuerdo con Flores (1976), quien registró a esta plaga con el nombre de *Stenoma* sp. (Sánchez, 1995), los daños que causa en el cultivo de cacao de Tabasco ascienden hasta el 30% de pérdida de frutos jóvenes durante la principal etapa de fructificación, la cual se registra básicamente en los meses de agosto y septiembre.

Durante los últimos años los productores de Tabasco han reportado con mayor frecuencia ataques de esta plaga, solicitando a la vez medidas de control. En 1998 este insecto afectó seriamente por lo menos a 2.000 productores tan solo en el municipio de Cunduacán según informes de la prensa local. Debido a esta situación, se consideró necesario tener una estimación acerca de la importancia actual de *H. mexicana*. El presente trabajo se realizó con el objetivo de determinar el daño causado por *H. mexicana* sobre frutos jóvenes de cacao bajo condiciones naturales. Con el fin de observar alguna relación entre la presencia de frutos dañados y la población de la plaga, se determinó también la fluctuación poblacional de adultos junto con el porcentaje de frutos dañados durante el principal período de fructificación.

Material y Métodos

El trabajo se realizó en dos plantaciones de cacao tipo “guayaquil” de 1,5 ha, 14 años de edad y distancia de siembra de 4x4 m. Una de ellas se localiza en el Campo Experimental del Colegio de Postgrados, en el municipio de Huimanguillo (plantación A) y la otra en la Rancharía Santa Ana 2^a Sección B, en el Municipio de Cárdenas (plantación B). La distancia entre ambas plantaciones es de aproximadamente 30 km.

En la plantación A se determinó el porcentaje total de frutos dañados. Para no interferir con la incidencia natural de la plaga se evitaron prácticas fitosanitarias. Para evaluar el porcentaje de frutos dañados se muestrearon 872 árboles de la plantación, durante el período del 21 de agosto al 26 de octubre de 1998. En cada árbol se contó el total de frutos sanos y el total de frutos severamente dañados. Se consideraron como frutos severamente dañados aquellos que presentaban por lo menos el 30% de parte consumida, en el entendido que un daño de tal grado podría afectar el desarrollo normal de los mismos o causarles la muerte (Figura 1).



Figura 1 - Fruto deformé debido al daño causado por *Hemeroblemma mexicana*.

En la plantación B se determinó simultáneamente la fluctuación poblacional de palomillas y el porcentaje de frutos dañados durante la principal etapa de fructificación y ataque de la plaga (agosto - octubre) (Flores, 1976). Los muestreos se realizaron semanalmente del 28 de agosto al 16 de octubre de 1998. En esta parcela el productor realizó algunas prácticas culturales para el mantenimiento de la misma, que consistieron en la eliminación de brotes y podas de ramas de los árboles de cacao, y en la eliminación de malezas del área. Para determinar la fluctuación poblacional de adultos se aprovechó el comportamiento del insecto de ser atraido

por frutos maduros de plátano, de acuerdo con observaciones previas. Para ello se emplearon dos trampas de plástico formadas por un bote transparente con capacidad de 4 litros, un embudo transparente ajustado a la boca del bote con un orificio superior de 10 cm de diámetro y uno inferior de 3 cm de diámetro, y un plato amarillo de 24 cm de diámetro que fue colocado a manera de cubierta a 8 cm sobre la boca del bote (figura 2).

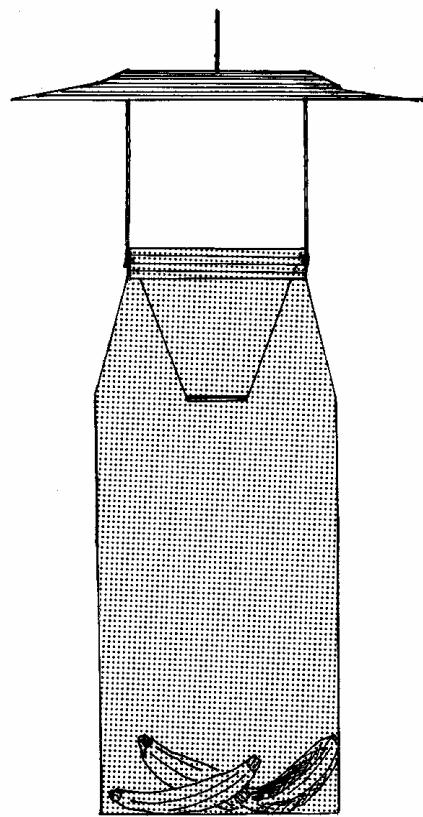


Figura 2. Trampa empleada para la captura de adultos de *Hemeroblemma mexicana*.

Cada trampa se colgó de una rama de cacao a una altura de 2 m en medio de la plantación, separada una de otra por una distancia de 40 m. En cada una se colocó 0,5 kg de fruto de plátano (*Musa sp.*) como atractivo alimenticio, el cual se renovó cada semana en el mismo día que se tomaba registro de la captura de adultos. El porcentaje de frutos dañados se determinó en las mismas fechas del conteo de los adultos capturados. Para ello, en cada muestreo se eligieron al azar 20 árboles de cacao, en los que se contó el total de frutos jóvenes y los frutos dañados presentes en dos metros lineales del tallo y ramas

principales. Se consideraron desde frutos recién formados hasta los de 5 cm de longitud.

Durante el tiempo de muestreo (agosto-octubre de 1998) la temperatura promedio y la precipitación acumulada en el municipio de Cárdenas fueron de 27.8°C y 1423 mm, respectivamente. Esta información se obtuvo de la estación meteorológica del Campo Experimental del Colegio de Postgraduados.

Resultados y Discusión

En la parcela A se contó un total de 48.558 frutos, de los cuales 15.590 presentaron daños severos causados por las larvas de *H. mexicana*, lo que constituye el 32% de frutos severamente dañados. Este resultado es semejante al obtenido por Flores (1976), quien reportó pérdidas del 30% de frutos jóvenes causadas por la plaga en el cultivo de cacao en Tabasco. Posteriormente al conteo y observación de frutos dañados en esta plantación, se observaron muchos frutos muertos debido a pudriciones causadas posiblemente por organismos patógenos, los cuales posiblemente invadieron los tejidos a través de las heridas ocasionadas por las larvas de *H. mexicana*. Observaciones similares respecto a la pudrición de frutos de cacao atacados por esta plaga han sido registradas para el Brasil (Costa, 1977).

Los resultados sobre la fluctuación poblacional de palomillas y el porcentaje de frutos dañados obtenidos en la plantación B se presentan en la Figura 3. El análisis estadístico indica que no hay correlación entre ambos factores ($r= 0,35$, $P=0,05\%$), lo cual se puede deber al efecto de los datos de frutos dañados y palomillas capturadas en la fecha del 18 de septiembre (Figura 3), en la cual la fluctuación de ambos factores no coincide. Esto pudo estar relacionado con las lluvias que se

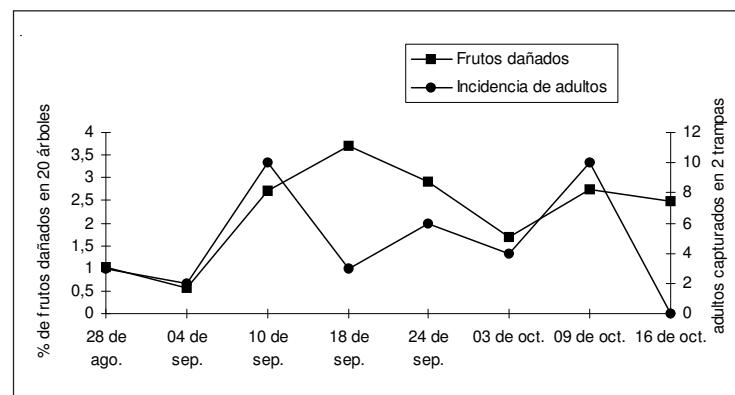


Figura 3. Fluctuación poblacional de palomillas y porcentaje de frutos dañados por larvas *H. mexicana*. Cárdenas, Tab. 1998.

presentaron entre el 11 y 18 de septiembre resultando en una menor cantidad de palomillas capturadas en este período.

Pese a que se tuvieron valores bajos tanto de palomillas capturadas como de frutos dañados, resulta obvio que la fluctuación del porcentaje de frutos dañados estuvo sujeta a la densidad poblacional de larvas de *H. mexicana*. En especial se cree que esto fue así debido a que los frutos constituyeron la principal fuente de alimento para las larvas, ya que esta plantación (B) estuvo sujeta a la eliminación frecuente de brotes con hojas nuevas durante el período de estudio.

De acuerdo con la Figura 3, el porcentaje de frutos dañados en la parcela B fluctuó entre 0,5 y 3,5%, valores muy bajos en relación al daño total registrado en la parcela A (32%). Esta diferencia de resultados se debió seguramente a una mayor población de *H. mexicana* en la primera parcela que en esta última. Aunque pudieron haber sido varios los factores que determinaron una población mayor de la plaga en una parcela con respecto a la otra; por ejemplo, diferencias de microclima, abundancia o escases de enemigos naturales, etc., un factor que posiblemente influyó en mayor o menor grado para que se presentara una baja densidad poblacional de este lepidóptero en la plantación B, fue la eliminación de brotes y podas de ramas de los árboles de cacao, y en la eliminación de malezas, prácticas que no se realizaron en la plantación A de acuerdo con el objetivo de este trabajo.

Cuando pequeñas, las larvas de *H. mexicana* se alimentan de hojas tiernas de cacao, aunque también pueden alimentarse raspando la superficie de los frutos tiernos (Abreu et al., 1989). Esto implica que una parte de los huevecillos son depositados en los brotes con hojas tiernas. Cuando estos brotes son eliminados de la planta, los huevecillos depositados en ellos pueden morir por deshidratación, o en caso de que las larvas emergieran, éstas podrían morir de hambre debido a que el follaje de cacao una vez eliminado de la planta se deshidrata rápidamente. Además, debido a su tamaño pequeño les llevaría más tiempo desplazarse para alcanzar otra fuente de alimento, involucrando con ello una mayor exposición a depredadores. Por otra parte, puesto que las larvas de mayor tamaño que están listas para pupar se ocultan entre el follaje de los árboles de cacao (Lima, 1949), al realizarse la poda de ramas cierta cantidad de ellas y de pupas pueden ser removidas de sus refugios con la consecuente exposición a depredadores. Así mismo, los autores han observado que los adultos de *H. mexicana* se esconden también entre el follaje de los árboles de cacao y entre el follaje de las malezas, de modo que sus poblaciones pueden ser más afectadas por la depredación cuando son eliminados estos sitios de refugio. Cabe mencionar que

un depredador de larvas de este lepidóptero en Tabasco es la chinche *Podisus sagitta* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) (Sánchez, 2002).

Las consideraciones anteriores ponen en evidencia la necesidad de realizar estudios específicos que determinen con veracidad el efecto de tales prácticas culturales en las poblaciones de *H. mexicana*.

Agradecimientos

Al Sr. José de la Cruz Torres Ramírez, Técnico del Colegio de Postgraduados, por su valiosa ayuda en el trabajo de campo, y a los revisores anónimos por sus valiosas sugerencias.

Literatura Citada

- ABREU, J.M. 1968. Problemas entomológicos da cacauicultura no Espírito Santo. Turrialba (Costa Rica) 8(2): 182-186.
- ABREU, J.M. et al. 1989. Manejo de Pragas do Cacaueiro. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC. 32 p.
- BEUTELSPACHER B., C.R. 1992. Catálogo de la Colección Roberto Müller (Lepidoptera: Heterocera) del Museo de Historia Natural de la Ciudad de México. México, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología. 465 p. (Cuaderno 15).
- COSTA, A.S. 1977. Principais pragas do cacaueiro no estado do Pará. Cacau Atualidades (Brasil) 14(4): 13-22.
- LIMA, A. da C. 1949. Insetos do Brasil, Lepidópteros. Rio de Janeiro, ENA, Série Didática 8, Tomo 6. 420 p.
- FLORES F., J.D. 1976. Insectos asociados con el cultivo del cacaotero, fluctuación de las principales especies fitófagas y su combate químico en el estado de Tabasco, México. Tesis de Maestría. Cárdenas, Colegio Superior de Agricultura Tropical. 137 p.
- SANCHEZ S., S. 1995. Dos plagas del cacao en el estado de Tabasco, México (Insecta, Lepidoptera: Noctuidae, Hemiptera: Cercopidae). Agrotrópica (Brasil) 7(3): 71-74.
- SANCHEZ S., S. 2002. Nota sobre la subfamilia Asopinae (Hemiptera: Pentatomidae) para Tabasco, México. Folia Entomológica Mexicana 41(2): En prensa.
- SILVA, P. 1944. Insect pests of cacao in the state of Bahia, Brazil. Tropical Agriculture 21(1): 8-14.
- SILVA, P. 1956. Problemas entomológicos do cacaueiro com referencia especial a Bahia. In: Reunião do Comitê Técnico Interamericano de Cacau, 6, Salvador, Bahia, 1956. Anais. Salvador, Instituto de Cacau da Bahia. pp.59-72.
- SMITH F., G.E. 1972. As principais pragas do cacaueiro no estado do Espírito Santo, Brasil. Cacau Atualidades (Brasil) 9(1): 22-27.

TRABALHADORES DO CACAU: UMA AVALIAÇÃO QUANTITATIVA*

*Pesquisa desenvolvida com recursos do Centro de Pesquisas do Cacau/ CEPLAC/Ministério da Agricultura.

Salvador D. P. Trevizan¹ e Hélio G de Moraes²

¹Universidade Estadual de Santa Cruz/Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, Km 16, Rodovia Ilhéus – Itabuna, 45650-970, Ilhéus, Bahia, Brasil. E-mail: salvador@uesc.br

²CEPLAC/CEPEC/ SESOE, Km 22, Rodovia Ilhéus – Itabuna, Caixa Postal 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil.

Uma questão freqüentemente colocada, no final dos anos 90, por pesquisadores, estudiosos ligados ao desenvolvimento e por planejadores de políticas públicas tem se referido ao impacto da crise do cacau ocorrido nas duas últimas décadas, quanto à geração de emprego. Esta questão, adicionada à problemática metodológica para se estimar empregos diretos no campo, em função, da crise, é analisada neste trabalho. Dados amostrados de campo, coletados em diferentes momentos, na década de 90, são utilizados para tratar a relação mão-de-obra por hectare, por estrato de área da fazenda, e estimar o impacto da crise na geração de emprego direto em fazendas de cacau no Sul da Bahia. Os dados revelam que, ao contrário do que regularmente se espera, neste momento, há independência entre estrato de área da fazenda e nível de mão-de-obra por hectare e que, nas condições atuais de transição, é possível estimar-se o volume de trabalhadores envolvidos diretamente no processo produtivo a partir da média aritmética da mão-de-obra por hectare e a área total de cacau em produção. Comenta-se também, brevemente, sobre relações de trabalho e remuneração do trabalho no campo.

Palavras-chave: Trabalhadores rurais, Estimativas, Fazenda de cacau.

Cocoa workers: a quantitative evaluation. A question that has been frequently set by researchers, development students and public policy planners, at the end of the nineties, is in relation to the impact of the cocoa crises in the two last decades, regarding job generation. This question, added to the methodological problems in estimating direct job generation for agricultural production, as a function of the cocoa crises, is analyzed in this paper. Field sample data, collected from September and November of 1998, are utilized, in order to deal with the relationship between number of workers per hectare and the farm size, and to estimate the cocoa crisis impact on creating new direct jobs on cocoa farms at the Southern Bahia. Data reveal that, on the contrary to what one regularly expects, at this time, there is an independent relationship between strata of the farm area and the number of workers per hectare, and that, at the current transaction conditions, it is possible to estimate the number of workers per hectare, and that, at the current transaction conditions, it is possible to estimate the number of workers directly involved in the productive process, through the use of the mean number of workers per hectare and the total cocoa area under production. Labor relationship and job payment to rural workers are discussed briefly.

Key words: Rural workers, Estimates, Cocoa farm.

Introdução

O Litoral Sul da Bahia, particularmente na tradicional região do cacau, tem passado, a partir do início dos anos 90, por um processo de mudanças no setor agrário, seja nas formas de uso da terra seja na organização social da produção. Na área social, além das relações de trabalho e do nível salarial, questiona-se freqüentemente, nas instituições públicas, sobre o impacto que a crise do cacau teria tido ou estaria tendo sobre o nível de emprego da

mão-de-obra no campo. Esta mesma questão é formulada por projetistas do setor privado, ou no campo público, no sentido de dimensionar o nível de possíveis benefícios sociais dos empreendimentos e dos projetos de governo. A origem de tais mudanças, evidentemente, ultrapassa os anos 90. Causas mais imediatas podem ser encontradas nos problemas do mercado internacional do cacau iniciado em meados dos anos 80 e, no final, a infestação de pragas sem controle tecnológico. Mas causas mediatas vão muito além da temporalidade e, a nosso ver, o impacto da crise se situa

especialmente na organização da produção que se instalou na região. A este respeito já se tratou em trabalho publicado anteriormente (Trevizan, 1998).

Vale observar que os reflexos da crise não têm a mesma temporalidade da crise. Isto é, os impactos são posteriores a uma série de eventos, assim como poderiam preceder à crise em si. Desta forma, ao se focalizar os impactos sobre a absorção de mão-de-obra na lavoura de cacau, considerou-se necessário identificar um procedimento adequado à nova realidade do cacau para se dimensionar o montante de trabalhadores envolvidos nesta atividade produtiva, e estimar-se o nível de emprego por unidade de área, na região do cacau, na segunda metade dos anos 90, uma vez que os impactos neste particular se fizeram sentir por volta de meados desta década.

Em trabalhos anteriores, se fez referência ao desemprego em massa que estaria ocorrendo nas fazendas de cacau no Sul da Bahia por conta da crise do cacau, particularmente, devido ao efeito da doença vassoura – debruxa (*Crinipellis perniciosa*). Também se mencionou que, na segunda metade dos anos 90, trabalhadores estariam retornando à região do cacau via movimentos de luta pela terra (Trevizan e Silva, 1995; Trevizan, 1998). Freqüentemente tem sido veiculado na imprensa escrita estatísticas sobre o nível de desemprego gerado pela crise do cacau, com fins políticos, sem referência ao tipo específico de desemprego, nem aos procedimentos de análise do problema, dificultando, dessa forma, a confiabilidade nos dados. Tafani et al (1984) avaliaram a mão-de-obra envolvida nas lides da produção de cacau no início dos anos 80, estimando os adicionais de mão-de-obra por ha., para cada prática realizada. Com a crise do cacau, esta metodologia tornou-se impraticável para se estimar a mão-de-obra absorvida na cacaueira, quando práticas deixaram de ser adotadas e quando não se dispunha mais de um cadastro atualizado das unidades produtivas.

O propósito de estimar o nível de emprego por área, depara-se com outra questão: como se apresenta o nível de emprego entre os diferentes estratos de produtores? É homogêneo ou diferenciado? Argumenta-se na literatura, que é próprio do capital diminuir a relação trabalho/capital (Friedland, W., H., 1980). Uma vez que o capital – insumos, maquinários, equipamentos, infra – estrutura crédito, etc. – tende a se concentrar nas maiores propriedades, é de se esperar que, quanto maior for a área de uma unidade agrícola menor será, também, a proporção de trabalho absorvido. Historicamente, tem-se observado que a redução do tamanho médio das propriedades corresponde a um maior número de produtores, através da redistribuição das terras (Fligstein, N., 1986). Segundo Singer (1980) a Organização Internacional do Trabalho também reconhece que a redistribuição da terra cria emprego produtivo. Portanto,

uma estrutura fundiária mais distribuída implica num maior volume de mão-de-obra absorvida no meio rural.

Esta relação inversa entre geração de emprego e aumento do capital investido encontra várias explicações. Guimarães (1979) explica de duas formas. De um lado, o progresso técnico produz uma redução relativa e absoluta da demanda de mão-de-obra; por outro lado, a utilização da terra em lavouras e, consequentemente, a geração de emprego, cresce na razão inversa do tamanho das explorações, pois é destinada mais para pastagens ou para fins especulativos. Segundo ele, verifica-se que 71,4% da mão-de-obra acrescida ao efetivo, no período 1970-1975, deu-se nos estabelecimentos com menos de 100 ha. Abramovay (1994) mostra esta mesma relação para os Estados Unidos quando descreve a estrutura da força de trabalho agrícola nas décadas de 60 e 70. Um terço dos trabalhadores rurais eram assalariados, enquanto, dois terços atuavam em unidades familiares, ou como responsáveis pelo estabelecimento ou como membros não-remunerados da família.

A aparente generalidade da relação inversa entre trabalho e capital para o setor agrícola pode não se confirmar em atividades específicas e localizadas. O caso do cacau, na Bahia pode ser visto como um exemplo de excepcionalidade. No final dos anos 50, com a ação de um órgão governamental específico para cuidar da questão do cacau no Brasil e, mais especificamente, na década de 60, com a criação do Centro de Pesquisa de Cacau, as unidades produtoras de cacau no Brasil passaram por um processo de capitalização. Este processo, ao contrário do que ocorre na agricultura em geral, tem representado um incremento da força de trabalho nas atividades cacaueiras, em função do tipo especial de capitalização: ampliação da infra-estrutura para beneficiamento do cacau e multiplicação de práticas agrícolas, mas não de mecanização para substituição da mão-de-obra. As práticas de adubação, combate a pragas e doenças, desbrote e poda dos cacaueiros que pouco se fazia em anos anteriores, foram difundidas e adotadas em larga escala. A mecanização, fator que geralmente provoca desemprego, no caso do cacau, gerou mais trabalho por ter-se restringido à aplicação de produtos químicos para controle de pragas e fungos, representando um tipo de mão-de-obra até então desprezível neste cultivo. Ferreira (1989), analisando custos padrões para diferentes pacotes tecnológicos na produção de cacau, revela que sistemas de produção mais sofisticados alteram os coeficientes e implicam em novos adicionais de mão-de-obra por ha. As tentativas em reduzir o custo de produção na década de 80 não tiveram impacto significativo; restringiram-se à redução ou eliminação de atividades de poda, desbrote e roçagem manual, e introdução de herbicidas. Esta última prática que poderia ter um efeito significativo, entretanto, não proliferou.

É de se esperar, então, que a produção de cacau das maiores propriedades tenderiam a absorver maiores índices de mão de obra, exatamente pelo fato de serem mais capitalizadas. Entretanto, Barbosa et al. (1979), observaram um decréscimo de mão-de-obra por ha no cultivo de cacau, à medida em que crescem os estratos de área cultivada.

Em outro contexto, Enriquez (1993) combina nível tecnológico com estratos de área cultivada no Equador. Dados daquele estudo (Tabela 2) revelam que a relação inversa entre absorção de mão-de-obra por ha e estrato de área acontece quando o cacau é cultivado com elevado nível tecnológico. Se o cacau for cultivado com baixos níveis tecnológicos, grandes propriedades absorvem mais mão-de-obra por ha.

O caso do cacau revela-se, assim, controvertido ou, no mínimo, não resolvido, no que tange à relação mão-de-obra por estrato da área da propriedade. Considerar esta relação em função do nível tecnológico é, no final dos anos 90, irrelevante na cacauicultura baiana, por encontrar-se num processo de transição para um novo perfil tecnológico no sistema produtivo, onde, provavelmente, o diferenciador será dado pelo uso ou não-uso da técnica da clonagem. A relação entre mão-de-obra por unidade produtiva e estrato de área da propriedade, entretanto, fica merecendo ser melhor investigada.

Procedimentos Metodológicos

A análise da questão em foco fundamentou-se numa amostra de 74 fazendas produtoras de cacau, estratificada por área da propriedade, distribuída em três zonas, as quais se convencionou chamar de núcleos regionais: Camacã-Arataca, Uruçuca-Lomanto Jr. e Ubatã-Ipiaú. Os dois primeiros situam-se na zona central do cacau e representam as áreas mais afetadas pelo fungo da vassoura-de-bruxa, e o terceiro corresponde a uma área de transição do cacau para outras formas de uso da terra.

Os dados referem-se aos anos de 1995 e de 1998, tendo como parâmetro ou de momento *ex-ante*, dados referentes a 1980, já publicados. Os primeiros foram coletados através de entrevistas feitas nas fazendas, tendo como informante a pessoa que, na ocasião da visita, respondia pelo processo produtivo da fazenda, podendo ser o proprietário da fazenda, o gerente ou o administrador (empregado que toma conta da fazenda, distribuindo as tarefas, supervisionando de forma mais direta os demais trabalhadores e repassando os pagamentos). As entrevistas foram complementadas com observações diretas das práticas efetuadas no setor produtivo, da infra-estrutura da fazenda e das formas de uso da terra.

Procedeu-se, inicialmente, uma análise da relação trabalhador/área da propriedade, dividindo-se o total de

trabalhadores pelos hectares da área total de cada propriedade. Posteriormente, foram criados diferentes estratos de coeficientes da relação trabalhador/área da propriedade, em função da distribuição desses coeficientes. Numa terceira etapa, efetuou-se uma análise cruzando frequências de fazendas por estrato de área total com os estratos dos coeficientes de trabalho por área, aplicando-se o teste de Qui-quadrado (χ^2) para verificar a independência entre as duas variáveis. Finalmente, a partir do teste de independência, estimou-se o total de trabalhadores existentes em fazendas de cacau em anos recentes.

Resultados e Discussão

Embora a pesquisa não tenha sido delineada para dimensionar a remuneração do trabalhador rural, registros de campo permitem observar que a remuneração tem por base o salário mínimo, no caso do trabalhador menos qualificado, pago semanal ou quinzenalmente. O total mensal pode chegar a dois salários mínimos para trabalhadores que desempenham função de confiança do proprietário, como é o caso do empregado ou administrador, através do qual o proprietário repassa o pagamento e distribuição de tarefas aos demais trabalhadores da fazenda.

Vale ainda observar que existem, na região, várias modalidades de contrato de trabalho, como o assalariado tradicional, o trabalhador por contrato temporário, o parceirista, o arista, o empreiteiro com remuneração baseada na atividade, entre outras. Cada modalidade pode apresentar diferenciação salarial para as quais não se dispõe de estatísticas comparativas.

No que se refere ao objeto específico desta análise, análise da relação mão-de-obra/área da fazenda e, a partir daí, estimar-se o total de trabalhadores atualmente existentes em fazendas onde se produza cacau, ao contrário do que se poderia esperar, os dados revelam ausência de relação entre as duas variáveis. Numa tentativa de relacionar coeficientes de mão-de-obra com área da fazenda, observou-se que, nas condições atuais, não há um diferencial significante entre mão-de-obra por hectare em diferentes tamanhos de fazendas. Nem mesmo uma associação significante por estrato de área pode ser encontrada. Um teste de independência entre as duas variáveis, no qual não havia diferença significante entre dados observados e dados esperados (Tabela 1), confirma uma situação de não associação entre o coeficientes de mão-de-obra e o estrato de área da fazenda, ao nível de 90 por cento ou mais.

A ausência de relação entre estratos de área e o coeficiente de mão-de-obra por hectare permite que se estime o total de trabalhadores atualmente existentes em fazendas de cacau no Sul da Bahia a partir da média

Tabela 1 - Associação entre mão-de-obra por hectare e estrato de área das fazendas de cacau, na Bahia, 1998.

Mão-de-obra por hectare	Área Total da Fazenda (ha)			Total
	≤ 50	50 a 100	≥ 100	
≤ 0,03	2 (4,6)	5 (6,2)	15 (11,6)	22
0,03 a 0,05	4 (4,3)	7 (6,5)	12 (12,1)	23
≥ 0,05	8 (5,5)	7 (6,5)	12 (15,3)	29
Total	14	21	39	74

Obs.: o Qui-quadrado obtido é 6,227, indicando uma relação de independência entre as duas variáveis, ao nível de significância de 90 % ou mais, e 4 graus de liberdade.

aritmética obtida da amostra de fazendas pesquisadas, como indicado na Tabela 2. Uma vez que os trabalhadores que se ocupam com as atividades do cacau são os mesmos que desenvolvem outras atividades na mesma propriedade, não há razão para separar trabalhadores do cacau de outros trabalhadores da mesma fazenda. O volume de trabalhadores absorvidos nas atividades do cacau se aproxima do montante de trabalhadores na unidade de produção. Convém ressaltar que esta metodologia, aplicável para a região Sul da Bahia nos anos 90, época em que os desempregos nas fazendas de cacau nunca foi tão elevado, poderia não ser válida para períodos anteriores, com estrutura produtiva mais estável. Quanto à validade para períodos futuros, a caracterização atual se sustenta até que se manifeste um novo contexto estrutural no setor produtivo rural.

Destaca-se ainda que não estão incluídos na Tabela 2, os trabalhadores absorvidos pelos assentamentos de reforma agrária existentes na região que, para dezembro de 1998, totalizam aproximadamente uma centena, tendo em média, 45 assentados cada um, segundo dados fornecidos pelo INCRA/ Salvador, BA. Em muitos deles cultiva-se cacau. Assim, para aquele ano, aos 28.650 trabalhadores em fazenda de cacau, pode-se acrescentar, pelo menos, 4500, pequenos produtores dos assentamentos rurais, eles próprios cultivando a terra, totalizando 33.150 trabalhadores rurais em fins de 1998, na região do cacau.

Tabela 2 - número de trabalhadores utilizados em fazendas de cacau nos anos 1995 e 1998, no Sul da Bahia.

Ano	Nº de hectares por trabalhador *	Área total de cacau	Nº total de trabalhadores
1995	13 ha / 1 trabalhador	600.000**	46.153
1998	20 ha / 1 trabalhador	573.000**	28.650

* Dados da pesquisa.

** Estimativas do Departamento de Extensão da CEPLAC.

Conclusão

Uma vez conhecida a relação de independência entre nível de absorção de mão-de-obra por hectare e estrato de área, sempre que se obtém a média de trabalhadores por unidade de área (hectare) numa amostra representativa da região, poder-se-á estimar a capacidade de geração de emprego do setor, no período. Tais dados podem ser utilizados como referenciais para se avaliar o impacto de um programa ou empreendimento público ou privado, em termos de geração de emprego ou de assistência social. Permitem também dimensionar impactos sociais derivados de fenômenos não programados. Assim, a metodologia e os dados aqui oferecidos de forma simplificada permitem dimensionar com facilidade o impacto da crise do cacau, com ênfase na vassoura-de-bruxa, no nível de desemprego direto no meio rural. Pressupondo-se o final da década de 70 como sendo o período áureo do cacau, o diferencial de emprego entre 1980 quando havia, em média, 1 trabalhador para cada ha (Trevizan, 1998) e os anos 90, com 1 trabalhador, em média, para cada 13 ha, em 1995, e 1 trabalhador para cada 20 ha, em 1998, representando uma brusca redução na capacidade geral da lavoura de cacau em absorver trabalhadores de forma direta, pode ser tomado como um impacto devido à crise.

Literatura Citada

- ABRAMOVAY, R. 1994. "Agricultura familiar e capitalismo no campo". In: Stédile, J. P. A. Questão Agrária Hoje, 2^a ed. Porto Alegre, UFRGS. pp. 94-136.
- BARBOSA, M.M.T.L. et al. 1979. Estudo das fazendas de cacau da província de Ilhéus quanto às suas estruturas produtiva e de capital e organização administrativa. Viçosa, MG,UFV. v. 1.
- ENRIQUEZ, G. 1993. Cost production analysis of six farming systems of "National" cocoa (Ecuador). In International Conference on Cocoa Economy, Bali, 1993. papers. s.l. s.e. 2v. pp.520-529.
- FERREIRA, H.I.S. 1989. Custos de produção de cacau: comportamento dos custos padrões. Ilhéus, CEPLAC/CEPEC. Boletim Técnico nº 162. 48p.
- FLIGSTEIN, N. 1986. "The Underdevelopment of the south: state and Agriculture, 1865-1900". In Havens, A. E. (Ed.) Studies in the transformation of U.S. Agriculture. Boulder, Westview Press. pp. 60-103.
- FRIEDLAND, W. H. 1980. "Technology in agriculture: labor and the rate of accumulation". In Buttel, F. H. and Newby, H. The Rural sociology of the pp. 201-214.
- GUIMARÃES, A. P. 1979. A Crise agrária. Rio de Janeiro, Paz e Terra. 320p.
- SINGER, P. 1980. Dinâmica populacional e desenvolvimento. São Paulo, Hucitec. 250p.
- TAFANI, R. R. et al. 1984. PROCACAU, criação de emprego e fixação de mão-de-obra na Cacaicultura brasileira. Ilhéus, CEPLAC. 32 p. (Série Estudos Econômicos, 3).
- TREVIZAN, S. D.; SILVA JR., M. F. 1995. Mudanças socioeconômicas e ambientais associadas a enfermidade do cacau na Bahia. Congresso Brasileiro de Economia e Sociologia Rural, 33, 1995. Anais. Brasília, SOBER. v.2. p.1409.
- TREVIZAN, S. D. P. 1998. Uma relação sociedade-natureza: a crise do cacau e o movimento social de luta pela terra no Sul da Bahia nos anos 90. Revista de Economia e Sociologia Rural 36 (3): 81-98.

ESTABILIDADE DE VARIEDADES E HÍBRIDOS DE MILHO NO ESTADO DO PIAUÍ NO ANO AGRÍCOLA DE 1998/1999*

* Trabalho apresentado no XXIII CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, Uberlândia, MG, 21 a 25 de maio de 2000. Pesquisa financiada com recursos do Convênio Embrapa/Banco do Nordeste.

Milton José Cardoso¹, Hélio Wilson Lemos de Carvalho², Maria de Lourdes da Silva Leal² e Manoel Xavier dos Santos³

¹Embrapa Meio-Norte, Av. Duque de Caxias, 5650, Caixa Postal 01, 64.006-220, Teresina, Piauí, Brasil; E-mail: milton@cpamn.embrapa.br

²Embrapa Tabuleiros Costeiros, Av. Beira Mar, 3250, Caixa Postal 44, 49001-970, Aracaju, Sergipe, Brasil.

³Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424, km 65, Caixa Postal 151, 35701-970, Sete Lagoas, Minas Gerais, Brasil.

Vinte e uma variedades e quarenta híbridos de milho foram avaliados em ensaios independentes, em blocos ao acaso com três repetições, em sete ambientes do Estado do Piauí, no ano agrícola de 1998/99 visando conhecer a estabilidade desses materiais para fins de recomendações. As variações atribuídas a variedades e híbridos e, as interações variedades x ambientes e híbridos x ambientes foram significativas, evidenciando diferenças genéticas entre os materiais e comportamento inconsistente desses materiais em face das variações ambientais. Os híbridos mostraram melhor desempenho que as variedades. As variedades que mostraram adaptabilidade geral têm importância significativa nos sistemas de produção dos pequenos e médios produtores rurais. No conjunto de híbridos, apenas os Braskalb XL 251 e AG 122 justificaram recomendações para as condições favoráveis. Nos conjuntos avaliados não foi identificado o material ideal preconizado pelo modelo bissegmentado, nem qualquer material para às condições desfavoráveis.

Palavras-chave: *Zea mays*, interação cultivar x ambiente, previsibilidade.

Stability of corn varieties and hybrid corn in Piaui State during agricultural year 1998/1999. Twenty one varieties and forty hybrid of corn were evaluated in a complete randomized block design with three replications, in seven environmental condition of the State of Piauí, during 1998/99 agricultural year, to obtain stability materials for recommendations. The variations attributed to varieties and hybrid and interactions varieties x ambient and hybrid x ambient were significant, evidencing differences between the materials and inconsistent behavior of those materials face the environmental variations. The hybrid ones showed better acting than the varieties. The varieties that showed general adaptability have significant importance in the systems of production to the small and medium rural producers. In the group of hybrid, just Braskalb XL 251 and AG 122 justified recommendations to the favorable conditions. In the appraised groups it was not identified the ideal material choosed for the bissegmented model, nor any material for to the unfavorable conditions.

Key words: *Zea mays*, interaction cultivar x environment, previsibility.

Introdução

No Estado do Piauí, a área colhida com milho no ano agrícola de 1998/1999 foi de 294.462 ha, com produção de 264.916 t e produtividade média de 1112 kg.ha⁻¹ (Agriannual, 2000), o que vem demonstrar a importância dessa cultura no contexto agrícola do Estado, pois exerce expressiva importância econômica e social. O cultivo desse cereal se distribui em sistemas de produção de pequenos, médios e grandes produtores rurais, nas mais variadas condições ambientais, com predominância, nos sistemas de produção das pequenas propriedades rurais, de variedades tradicionais, de potencial produtivo limitado. Dentre as tecnologias importantes e eficientes para aumentar a produtividade da cultura, a nível de pequenas e médias propriedades rurais, destacam-se as variedades melhoradas, que podem contribuir com acréscimos significativos. A demanda por híbrido vem crescendo gradativamente na região, principalmente em regiões de cerrado, a nível de produtores rurais que investem em tecnologias modernas de produção, visando explorar o máximo do potencial da cultura.

Considerando-se esses aspectos, torna-se necessário a instalação de um programa de melhoramento visando a avaliação de variedades e híbridos de milho visando oferecer ao agricultor subsídios em relação a escolha adequada de cultivares que devam ser utilizadas para o cultivo nos diferentes sistemas de produção e nas diferentes regiões do Estado. Em alguns trabalhos de competição de variedades e híbridos de milho realizados no Nordeste brasileiro, constatou-se a melhor adaptação dos híbridos em relação às variedades (Cardoso et al., 1997; Carvalho et al., 1999 a e 1999 b).

Outro fator importante que deve ser considerado é a presença da interação cultivares x ambientes, a qual exerce importância expressiva nas recomendações de cultivares. Essa interação ocorreu em experimentos executados no Nordeste brasileiro (Cardoso et al., 1997; Carvalho et al., 1992, 1998, 1999 a e 1999 b), e nos

Estados do Mato Grosso do Sul (Arias, 1996) e do Paraná (Carneiro, 1998). Em todos esses casos, os autores procuraram minimizar o efeito dessa interação, por meio da seleção de cultivares de melhor estabilidade fenotípica (Ramalho et al., 1993).

Anualmente, novas variedades, populações e híbridos estão sendo avaliados no Piauí visando selecionar material, de porte baixo e baixa inserção da espiga, tolerantes ao acamamento e quebramento do colmo, de ciclos semi-tardio, precoce e superprecoce, e de bom empalhamento de espigas, visando melhorar a oferta de variedades e híbridos na região, o que trará mudanças substanciais na produtividade da cultura do milho.

Realizou-se o trabalho com o objetivo de se conhecer a estabilidade de cultivares de milho visando fornecer à agricultura estadual do Piauí de híbridos e variedades superiores.

Material e Métodos

Os ensaios de variedades e híbridos foram executados no ano agrícola de 1998/1999, nos municípios de Teresina, Parnaíba, Floriano, Guadalupe e Rio Grande do Piauí, sob regime de sequeiro e, Teresina e Parnaíba, sob regime de irrigação por aspersão convencional, totalizando sete ambientes para cada classe de ensaio.

Na Tabela 1 constam os índices pluviométricos (mm) ocorridos durante o período experimental, com uma variação de 521,5 mm (Floriano) a 919,8 mm (Teresina). Na Tabela 2 estão as coordenadas geográficas de cada município, onde foram realizados os ensaios, os quais estão compreendidos entre os paralelos 02° 53' (Parnaíba) a 07° 56' (Rio Grande do Piauí), englobando diferentes condições ambientais (Silva et al., 1993).

Foram utilizadas 21 e 40 materiais nos ensaios de variedades e de híbridos, respectivamente. Em ambos os casos, usou-se o delineamento experimental em blocos ao acaso, com três repetições. Cada parcela constou de

Tabela 1- Índices pluviométricos ocorridos durante o período experimental. Estado do Piauí, ano agrícola de 1998/99.

Locais	1998		1999								
	Nov.	Dez.	Jan.	Fev.	Mar.	Abr.	Mai.	Jun.	Jul.	Ago.	Total
Teresina	-	-	200,8*	169,3	373,1	176,6	-	-	-	-	919,8
Parnaíba	-	-	32,3*	229,4	200,9	197,0	-	-	-	-	659,6
Floriano	-	-	127,5*	232,5	147,0	14,5	-	-	-	-	521,5
Guadalupe	-	-	156,0*	108,6	226,6	66,8	-	-	-	-	558,0
Rio Grande do Piauí	-	-	145,0*	120,5	236,3	50,2	-	-	-	-	552,0

*Mês de plantio.

Tabela 2. Coordenadas geográficas dos locais e tipos de solos das áreas experimentais. Estado do Piauí, 1998/99.

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

A – Aluvial Entrófico; AQ – Area Quartzosa; LVA – Latossolo Vermelho-Amarelo; PA – Podzólico Amarelo.

quatro fileiras de 5,0 m de comprimento, espaçadas de 0,90 m e 0,50 m entre covas dentro das fileiras, com duas plantas/cova após desbaste. Foram colhidas as duas fileiras centrais de forma integral, correspondendo a uma área útil de 9,0 m². As adubações de plantio e cobertura foram feitas de acordo com os resultados das análises de fertilidade do solo e da exigência da cultura.

Foram medidos os parâmetros referentes ao florescimento masculino, alturas de planta e da inserção de espiga, estande de colheita, número de espigas colhidas e peso de grãos. Os dados de florescimento masculino foram tomados quando 50% das plantas das duas fileiras centrais emitiram os pendões. A altura de planta foi medida do solo até a base do pendão e altura da inserção de espiga do solo até a base de inserção da primeira espiga. Os pesos de grãos de todos os tratamentos foram ajustados para o nível de 15% de umidade. Os dados de florescimento masculino, em razão de serem tomados em uma só repetição, não foram submetidos à análise de variância. Os demais dados foram submetidos a 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 (Pimentel-Gomes, 1990), considerando aleatórios os efeitos de blocos e ambientes, e fixo o efeito de cultivares, conforme o seguinte modelo:

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

u: média geral; C_i: efeito da cultivar i; A_j: efeito do local j; CA_{ij}: efeito da interação da cultivar i com o local j; B/A_{kj}: efeito do bloco k dentro do local j; ε_{ijk} : erro aleatório.

Os parâmetros de adaptabilidade e estabilidade foram estimados usando-se a metodologia proposta por Cruz et al. (1989), a qual baseia-se na análise de regressão bissegmentada, tendo como parâmetros de adaptabilidade a média (b_{0i}) e a resposta linear aos ambientes desfavoráveis (b_{1i}) e favoráveis (b_{1i} + b_{2i}). A estabilidade dos materiais é avaliada pelos desvios de regressão de cada material (σ^2_d) em função da variações ambientais.

O seguinte modelo foi utilizado:

$$Y_{ij} = b_{0i} + b_{1i}I_j + b_{2i}T(I_j) + \delta_{ij} + \bar{\varepsilon}_{ijk} \quad \text{tal que:}$$

Y_{ij}: média da cultivar i no ambiente j; I_j: índice ambiental; T(I_j)=0 se I_j < 0; T(I_j)=I_j - \bar{I}_+ se I_j > 0, sendo \bar{I}_+ a média dos ambientes (I_j) positivos; b_{0i}: média geral da cultivar i; b_{1i}: coeficiente de regressão linear associado à variável I_j; b_{2i}: coeficiente da regressão linear associado à variável T(I_j); δ_{ij} : desvio da regressão linear; $\bar{\varepsilon}_{ijk}$: erro experimental médio.

Resultados e Discussão

As variedades requereram, em média, 48 dias para atingir a fase de florescimento masculino (Tabela 3), registrando-se uma redução significativa em relação ao florescimento detectados em outros trabalhos nos Estados de Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia (Carvalho et al. 1999 a). A CMS 47 destacou-se como a mais precoce, seguida das CMS 35, BR 5037-Cruzeta, CMS 52 e CMS 453, o que as torna de grande interesse para as regiões mais secas do Estado, em razão de reduzirem os riscos do cultivo nos anos em que os períodos chuvosos são curtos.

Os híbridos requereram, em média, 49 dias para atingir a fase de florescimento masculino (Tabela 4), com uma amplitude de variação de 47 dias a 51, evidenciando maior uniformidade no período de florescimento, quando comparado com as variedades (12 dias). Os híbridos BR 2121, Braskalb XL 355, Braskalb XL 9751, 96 HT 91 e BRS 3101 destacaram-se como mais precoces.

As variedades mostraram comportamento diferenciado (P<0,01), para os caracteres altura de planta e espiga, estande de colheita e números de espigas colhidas (Tabela 5). As médias de altura de planta e de espiga foram de 201 cm e 97 cm, respectivamente, destacando-se com menores valores para esses caracteres as variedades CMS 47, CMS 35, CMS 59, CMS 52 e CMS 453. A variação atribuída a híbridos para essa

Tabela 3. Florescimento masculino médio (dias) obtido nos ensaios de competição de variedades. Estado do Piauí, Brasil, 1998/1999.

Variedades	Parnaíba	Teresina	Guadalupe	Floriano	Rio Grande	Teresina c/ irrigação	Parnaíba c/ irrigação	Média
CMS 47	36	36	39	41	38	43	37	39
CMS 35	39	40	40	42	41	43	39	41
BR 5037-Cruzeta	44	41	47	46	42	49	45	45
CMS 52	40	44	46	48	45	52	42	47
CMS 453	47	44	46	47	45	50	45	47
CMS 59	48	47	48	50	45	50	47	48
BR 5033-Asa Branca	45	48	46	50	45	52	46	48
BR 5039-São Vicente	45	47	48	52	50	50	46	49
CMS 22	49	48	47	51	49	50	50	49
BR 5028-São Francisco	46	48	48	53	51	52	45	49
BR 5011-Sertanejo	48	47	48	52	45	53	49	49
AL 30	49	44	49	52	45	54	50	49
BR 473	47	47	48	53	46	52	46	49
BR 5004	46	48	48	52	51	53	47	50
Crioulo Caiano	47	48	49	51	51	55	46	50
BRS 3101	47	48	50	52	50	57	46	50
Sintético Duro	48	48	48	52	50	52	48	50
AL 25	50	47	49	53	44	54	49	50
CMS 50	47	48	48	54	49	53	48	50
BR 106	47	50	49	54	49	54	48	51
Sintético Dentado	44	47	48	53	51	54	45	51
Médias	46	46	47	51	47	52	46	48

Tabela 4 - Florescimento masculino médio (dias) observados nos ensaios de competição de híbridos. Estado do Piauí, Brasil, 1998/1999.

Híbridos	Parnaíba c/ irrigação	Teresina c/ irrigação	Parnaíba	Guadalupe	Teresina	Floriano	Rio Grande	Média
BR 2121	47	51	44	46	44	50	47	47
Braskalb XL 355	48	51	47	46	47	48	47	48
Braskalb XL 9751	49	53	48	46	47	49	49	48
96 HT 91	44	52	46	47	47	48	51	48
BRS 3101	47	54	48	47	47	51	49	48
AG 3010	45	51	41	46	44	48	48	51
Braskalb XL 251	46	53	48	47	47	53	46	49
Agromen 3100	50	51	50	46	44	49	47	49
Agromen 2014	45	52	44	46	48	51	51	49
BR 3123	48	54	46	48	47	51	49	49
AG 1051	46	54	48	49	41	55	50	49
AGX 5273	51	51	48	48	47	49	49	49
Pioneer X 1296 B	52	52	48	47	47	51	51	49
Zeneca 8486	48	49	47	47	44	51	52	49
SHS 5050	51	52	48	48	44	49	51	49
Agromen 2014	47	54	46	47	47	53	52	50
BRS 3060	46	54	47	48	47	53	52	50
AG 5011	44	43	46	45	47	54	56	50
AG 4051	50	52	49	49	47	53	49	50
AG 1043	45	55	48	49	47	56	49	50
AG 122	49	53	49	50	48	53	51	50
AG 6016	50	52	44	46	44	48	50	50
Cargill 444	54	55	50	50	48	50	50	50
Cargill 435	50	52	49	48	50	50	49	50
Cargill 929	53	52	50	46	47	49	52	50
Carlgill 447	48	52	49	46	48	51	51	50
Zeneca 8501	52	53	50	47	48	51	49	50

Continuação Tabela 4.

Zeneca 8392	50	49	49	48	48	49	52	50
Colorado 9560	48	52	48	48	48	50	52	50
MR 2601	49	53	50	50	44	50	50	50
BRS 2114	48	53	47	49	44	54	52	50
95 HT 74	50	54	49	47	47	53	54	51
AGX 5580	48	54	50	49	47	53	49	51
Cargill 333 B	54	55	47	50	49	50	51	51
Pioneer X 1296 K	56	51	50	46	49	53	51	51
Pioneer 30F80	53	54	52	46	47	55	50	51
Pioneer 3021	54	53	49	48	48	53	52	51
Colorado 42	52	53	50	46	47	53	51	51
MTL 9742	50	54	52	49	47	53	49	51
SHS 4040	48	53	49	48	48	56	52	51
Médias	49	53	48	47	47	51	50	49

Tabela 5. Alturas (cm) de plantas e espigas, estande de colheita por área útil da parcela, número de espigas colhidas por área útil da parcela e resumo da análise de variância conjunta referentes a 21 variedades de milho. Estado do Piauí, 1998/99.

Variedades	Altura de planta	Altura de espiga	Estande de colheita	Espigas colhidas
BR 5011-Sertanejo	220	109	32	35
BR 5004	220	108	34	35
AL 25-Vencedor	219	112	34	34
Crioulo Caiano	213	105	32	33
AL 30- Tietê	213	104	34	36
BR 106	212	105	33	41
BR 5039-São Vicente	211	103	35	39
BR 5037-Cruzeta	210	103	35	36
BR 473-QPM	210	101	31	32
CMS 22	209	103	30	32
CMS 50	207	97	31	33
BRS 3101	201	98	34	40
BR 5028-São Francisco	200	96	31	33
Sintético Duro	196	94	33	35
Sintético Dentado	194	88	32	35
BR 5033-Asa Branca	192	94	34	34
CMS 453-QPM	188	86	32	34
CMS 52-QPM	182	87	32	34
CMS 59	180	84	31	36
CMS 35	172	79	31	34
CMS 47	165	73	34	36
Médias	201	97	33	35
C.V. (%)	7,1	11,7	9,0	11,0
F (T)	25,8**	18,1**	4,8**	8,4**
F (TxL)	1,1 ns	1,2 ns	1,3*	1,5*

** e * Significativas a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. ns= não significativo

características, mostrou-se também significativa (Tabela 6). Uma das vantagens da menor altura de planta e de espiga, é permitir uma tolerância ao acamamento e quebramento do colmo, o que reduz perdas provocadas pelo tombamento de plantas, favorece à utilização de um maior número de plantas por hectare. Os híbridos Cargill 529, AG 5011, AG 3010, AG 6016, Pioneer X 1286 K, Braskalb XL 251, AGX 5580 e Agromen 2014 mostraram as menores alturas de plantas.

As variedades (Tabela 5) e os híbridos (Tabela 6) mostraram reduções de plantas na colheita, obtendo-se, na média geral, para as variedades, 33 plantas/parcela, correspondendo a 36.766 plantas.ha⁻¹, com uma redução de 7.778 planta.ha⁻¹, em relação ao estande proposto (44.444 planta.ha⁻¹). Para os híbridos, a média geral foi de 36 plantas/parcela (40.000 plantas.ha⁻¹), com uma redução de 4.444 plantas.ha⁻¹, em relação ao estande proposto. Tanto para variedades (Tabela 5) quanto para

Tabela 6. Alturas (cm) de plantas e espigas, estande de colheita por área útil da parcela, número de espigas colhidas por área útil da parcela e resumo da análise de variância conjunta referentes a 40 híbridos de milho. Estado do Piauí, 1998/99.

Híbridos	Altura de planta	Altura de espiga	Estande de colheita	Espigas colhidas
95 HT 94	215	104	37	40
AG 122	214	102	36	38
AG 4051	209	101	37	39
BRS 3060	205	94	37	39
96 HT 91	2304	100	36	39
AG 1051	202	105	35	39
BRS 2114	201	97	34	36
SHS 4040	200	90	37	40
Cargill 435	200	97	35	37
Zeneca 8486	200	95	36	38
Pioneer X 1296 B	198	96	37	37
AG 1043	198	105	37	40
MTL 9742	197	88	37	37
BRS 2110	197	92	34	37
BRS 3101	195	97	35	42
Cargill 444	194	99	36	38
BR 3123	193	94	35	38
Zeneca 8501	192	96	37	37
Colorado 42	192	91	36	37
SHS 5050	190	91	36	36
Zeneca 8392	190	84	36	37
Pioneer 30 F 80	190	92	37	39
MR 2601	189	91	36	40
Cargill 333 B	88	88	36	41
Braskalb XL 251	187	95	37	40
BR 2121	187	88	34	37
AGX 5273	185	85	35	35
Pioneer 3021	185	89	36	39
Colorado 9560	184	87	38	39
Brasklab XL 355	183	89	36	37
Agromen 3100	182	84	35	39
Cargill 447	182	82	37	38
Agromen 2014	181	91	37	38
AGX 5580	181	81	35	36
Braskalkb XL 9751	180	90	36	41
Pioneer X 1286 K	179	88	36	39
AG 6016	176	83	36	39
AG 3010	175	83	36	40
AG 5011	173	84	36	38
Cargill 929	168	71	35	37
Médias	191	91	36	38
C.V. (%)	7,6	10,5	7,3	9,0
F (H)	11,9**	11,9**	2,6*	3,9**
F (HxA)	1,3 ns	1,0 ns	1,3 ns	1,5*

** e * Significativas a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente. ns= não significativo

híbridos (Tabela 6) em decorrência da significância do efeito de tratamentos para o estande de colheita, não é aconselhável proceder-se à correção para o estande proposto, seguindo recomendações de Vencovsky & Barriga (1992).

Com relação ao rendimento de grãos, as variedades

mostraram comportamento diferencial entre si, tanto a nível de local quanto na análise de variância conjunta, evidenciando diferenças entre elas (Tabela 7). Os ensaios realizados nos municípios de Teresina, tanto em sequeiro quanto em irrigação, mostraram os melhores rendimentos de grãos, caracterizando essa localidade com mais propícia

ao desenvolvimento do milho. A variação observada entre os ambientes foi de 3.339 kg.ha⁻¹ a 5.332 kg.ha⁻¹, o que evidencia boa variação entre esses ambientes. Os coeficientes de variação observados oscilaram de 8,8% a 11,7%, conferindo boa precisão aos ensaios (Scapim et al., 1995).

Os híbridos também mostraram diferenças entre si, no tocante ao peso de grãos, tanto a nível de local quanto na análise de variância conjunta, com exceção dos resultados observados no ensaio de Teresina, sob regime de sequeiro, onde tais materiais mostraram comportamento semelhante entre si (Tabela 8). A produtividade média detectada na média dos locais foi de 5.597 kg.ha⁻¹, com variação entre os locais de 4.609 kg.ha⁻¹ a 7.081 kg.ha⁻¹, evidenciando a potencialidade da região para a produção do milho e a superioridade dos híbridos em relação às variedades. Essa superioridade têm sido observada em diversos trabalhos de competição de cultivares realizados no Nordeste brasileiro (Cardoso et al., 1997; Carvalho et al., 1998 a, 1999 c e 1999 d). Os coeficientes de variação obtidos também conferiram boa

precisão aos ensaios (Scapim et al., 1995).

Com a presença da interação cultivares x ambientes nos dois tipos de ensaios, procurou-se amenizar o seu efeito através da seleção de materiais de melhor estabilidade fenotípica (Ramalho et al., 1993). Para isso estimaram-se os parâmetros de adaptabilidade e estabilidade (Cruz et al., 1989), considerando como genótipo ideal aquele material de média superior à média geral, b_1 e b_1+b_2 estatisticamente menor e maior que a unidade, respectivamente, e desvio de regressão não significativo. Considerou-se como cultivares melhor adaptadas aquelas que expressaram maiores produtividades de grãos.

Observou-se, pela Tabela 9 que a média de produtividade de grãos das variedades oscilou de 3.426 kg.ha⁻¹ a 5.194 kg.ha⁻¹, sendo a produtividade do híbrido BRS 3101, utilizado como testemunha, de 5.533 kg/ha. A média geral detectada foi de 4.310 kg/ha, o que expressa bom comportamento das variedades avaliadas, destacando-se com melhor adaptação aquelas que expressaram produtividades médias superiores à média

Tabela 7. Produtividades médias de grãos (kg.ha⁻¹) e um resumo das análises de variância por local e conjunta de 21 variedades de milho. Estado de Piauí, 1998/1999.

Variedades	Floriano	Guadalupe	Parnaíba	Parnaíba c/ irrigação	Rio Grande	Teresina	Teresina c/ irrigação	Análise Conjunta
BR 3101	5107	3973	5073	6003	5457	7317	5800	5533
BR 5039-São Vicente	6000	4160	5263	4810	4783	5743	5497	5194
AL 30	4120	4173	4500	4817	4573	6033	5390	4801
BR 106	5483	4087	5033	4100	3917	5643	5283	4792
BR 5004	4003	3443	4847	5300	4220	5457	5400	4667
AL 25	3733	3850	5170	4703	3660	6750	4703	4653
BR 5037_Cruzeta	3833	3893	4943	5453	3630	5567	5057	4624
Sintético Dente	3500	3203	4340	5170	4313	5717	5160	4486
BR 5028-São Francisco	3567	3833	4557	5067	3430	5257	5450	4451
Sintético Duro	3360	2950	4627	4817	4567	5210	5033	4409
BR 5033-Asa Branca	4067	3547	3903	4983	3720	5027	5090	4334
BR 5011-Sertanejo	4067	2633	4113	5230	3643	5150	5440	4325
CMS 22	4593	3273	3690	4577	3020	4493	5113	4109
Crioulo Caiano	3833	2670	3823	3950	3413	5463	5393	4078
CMS 453	3210	2880	3837	4087	3120	5900	5117	4021
CMS 50	3150	2960	4167	4700	3387	5003	4600	3995
CMS 52	3800	3110	4047	4070	2967	4900	4930	3975
BR 473	3450	2760	3977	3487	3120	4430	4493	3674
CMS 35	3450	2880	3527	3973	2800	3900	4023	3508
CMS 47	3100	3450	3360	3183	3080	4180	3950	3472
CMS 59	2713	2390	3620	2810	2887	4737	482	3426
Média	3926	3339	4305	4538	3700	5332	5036	4310
C.V. (%)	10,7	11,6	8,8	10,6	11,7	9,1	9,1	10,1
F(T)	10,9*	6,2**	7,2**	7,8**	8,1**	8,4*	3,1*	33,4**
F(L)	-	-	-	-	-	-	-	169,3**
F (TxL)	-	-	-	-	-	-	-	3,1**
D.M.S. (5%)	1311	1205	1181	1506	1354	1507	1438	864

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

Tabela 8. Produtividades médias de grãos (kg.ha^{-1}) e um resumo das análises de variância por local e conjunta de 40 híbridos de milho. Estado do Piauí, 1998/1999.

Híbridos	Floriano	Guadalupe	Parnaíba	Parnaíba c/	Rio Grande	Teresina	Teresina c/ irrigação	Análise Conjunta
Braskalb XL 251 ²	4177	4353	6373	7030	4880	8707	6106	5947
BR 3123 ²	4950	5337	6500	5383	5307	7123	6933	5933
MR 2601 ¹	5250	4717	5637	5547	5523	8363	6367	5915
Pioneer X 1286 K ¹	4967	5800	5617	6033	6060	6667	6197	5906
AG 122 ³	4563	4143	5470	6333	4403	8800	7517	5890
Zeneca 8501 ²	4967	5207	6303	5723	5067	7843	6100	5887
BRS 3101 ²	5057	4367	5610	6297	5110	8417	6200	5865
Zeneca 8486 ¹	4460	4627	5983	5980	5943	7300	6750	5863
Zeneca 8392 ¹	5447	4067	6007	6730	5663	7267	5657	5834
Pioneer 3021 ²	5113	5133	5500	6040	5293	7400	6350	5833
Cargill 447 ³	4393	5800	5243	5767	5193	8000	6350	5821
AG 4051 ²	5307	4313	6187	6547	5360	5970	6883	5795
BRS 3060 ²	3917	4983	5960	6387	5837	6033	7207	5760
Pioneer 30F80 ¹	4367	5297	5170	5920	5413	7850	6033	5721
Cargill 333 B ¹	5040	4157	5932	6747	4213	7383	6533	5715
Cargill 929 ¹	3957	5347	5550	5780	5603	7783	5867	5698
AG 1051 ³	4230	3923	6013	6030	5557	7210	6867	5690
Braskalb XL 251 ¹	4367	4613	5847	6153	4953	7483	6200	5660
Cargill 444 ³	4463	5273	5117	6237	4693	6683	6817	5612
Colorado 9560 ¹	4650	4767	5480	6397	5227	6133	6583	5605
AG 5011 ²	4847	4167	5053	6207	5400	6983	6567	5603
Pioneer X 1286 B ¹	4183	5567	5583	5970	5143	7107	5533	5584
95 HT 74 ¹	5257	5907	5380	6063	4650	5703	6100	5580
SHS 5050 ²	4217	4287	6813	6447	4703	6183	6400	5579
AG 1043 ³	4930	5047	5837	5987	3727	7033	6433	5571
Braskalb XL 355 ²	4257	3900	5220	6480	5380	7567	6133	5562
Agromen 2014 ²	4550	5227	6600	6287	3667	6367	6100	5542
96 HT 91 ²	4357	5223	5640	6143	4740	6167	6350	5517
Cargill 435 ³	4580	4433	4713	6190	5020	7313	6047	5471
AGX 5273 ²	4530	2967	5923	6670	4900	5273	6183	5444
SHS 4040 ³	4340	3980	5453	6277	4653	7100	6133	5419
AG 6016 ²	4880	4333	5293	6477	4173	6463	6173	5399
BRS 2114 ³	4807	4443	6257	5743	4633	6333	5433	5379
AGX 5580 ²	4530	3450	4303	6300	4513	7783	6617	5357
BRS 2110 ³	4331	4800	5320	5173	4253	7267	6047	5313
Colorado 42 ²	4770	4507	4537	5781	4187	7133	6243	5309
AG 3010 ³	4880	4380	5207	5813	4590	6183	5950	5286
Agromen 3100 ³	4260	4920	4780	5977	4780	6433	5570	5246
MTL 9742 ¹	3930	4257	5577	5797	4117	6483	5507	5095
BR 2121 ³	4293	3840	4587	4547	4497	6310	4607	4669
Média	4609	4646	5589	6085	4926	7081	6241	5597
C.V. (%)	10,7	11,5	10,2	10,3	11,0	18,1	9,9	12,8
F(H)	1,9ns	4,5**	3,0**	1,6*	3,4**	1,1ns	2,2*	2,9*
F(L)	-	-	-	-	-	-	-	202,6**
F (HxL)	-	-	-	-	-	-	-	2,9**
D.M.S. (5%)	-	1777	1887	2073	1794	-	2048	1168

** e * Significativos a 1% e 5% de probabilidade, pelo teste F, ns= não significativo

¹Híbrido simples, ²híbrido triplo e ³híbrido duplo.

Tabela 9. Produtividade média de grãos ($\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) e estimativas dos parâmetros de adaptabilidade e estabilidade de 21 variedades de milho em sete ambientes do Estado do Piauí. Ano agrícola de 1998/1999.

Cultivares	Média nos ambientes				b_1	b_2	b_1+b_2	Q. M. desvios	R^2
	Geral	Desfavorável	Favorável						
BRS 3101	5533	4902	6373	1,22ns	0,21ns	1,43ns	1116060,95**	76	
BR 5039	5194	5051	5383	0,47**	0,83ns	1,30ns	1030826,33**	46	
AL 30-Tietê	4801	4341	5413	0,80ns	0,68ns	1,49ns	271007,43ns	87	
BR 106	4792	4630	5009	0,49**	1,48*	1,98*	962356,52**	60	
BR 5004	4667	4128	5386	1,13ns	-0,93*	0,19ns	121452,85ns	96	
AL 25-Vencedor	4653	4103	5385	1,15ns	1,15*	2,30**	1319057,90**	75	
BR 5037-Cruzeta	4624	4075	5356	1,10ns	-1,07*	0,03*	446364,95ns	85	
Sintético Dentado	4486	3839	5349	1,24ns	-0,62ns	0,61ns	532194,10*	86	
BR 5028-São Francisco	4451	3847	5258	1,14ns	-0,84ns	0,29ns	456428,30ns	86	
Sintético Duro	4400	3936	5020	1,02ns	-0,53ns	0,48ns	794666,92**	74	
BR 5033-Asa Branca	4334	3809	5033	0,94ns	-0,87ns	0,07*	174309,55	91	
CMS 22	4108	3644	4728	0,90ns	-0,89ns	0,01*	1039647,64**	62	
Crioulo Caiano	4078	3435	4935	1,28ns	0,72ns	2,00*	244029,15ns	95	
BR 5011	4325	3614	5273	1,45**	-1,50**	-0,04*	224923,92ns	95	
CMS 453-QPM	4021	3262	5035	1,43**	0,82ns	2,26*	137181,89ns	97	
CMS 50	3995	3416	4768	1,16ns	-0,84ns	0,32ns	195922,22ns	93	
CMS 52-QPM	3975	3481	4633	1,02ns	0,09ns	1,11ns	221097,63ns	92	
BR 473	3674	3327	4137	0,80ns	0,46ns	1,27ns	186700,45ns	90	
CMS 35	3507	3164	3965	0,71ns	-0,78ns	-0,07*	99969,11ns	91	
CMS 47	3472	3247	3771	0,36**	0,92*	1,28	170843,52ns	92	
CMS 59	3426	2902	4124	1,08ns	1,51**	2,59*	425959,3	90	
Média	4310								
C.V. (%)	10,1								

** e * Significativamente diferente da unidade para b_1 e b_1+b_2 e de zero, para b_2 pelo teste "T" de Student, a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente.

** Significativamente diferente de zero a 1% de probabilidade, pelo teste F, ns= não significativo.

geral. Nota-se, nessa Tabela, que a cultivar ideal preconizada pelo modelo não existe no conjunto avaliado. A variedade BR 106 foi a que mais se aproximou dessa condição, por apresentar média superior à média geral, b_1 menor que a unidade, b_1+b_2 maior que a unidade. No entanto, tal material mostrou baixa estabilidade nos ambientes considerados ($R^2 < 80\%$). Também, não foi encontrada qualquer variedade para as condições desfavoráveis, apesar das variedades BR 5039-São Vicente e BR 106 apresentarem coeficientes de regressão, nos ambientes desfavoráveis, estatisticamente menores que a unidade e médias superiores a média geral. Para expressar adaptação aos ambientes desfavoráveis tais materiais teriam que responder à melhoria ambiental ($b_1+b_2 > 1$) e previsibilidade de comportamento nos ambientes considerados. De forma semelhante, não foi encontrado também qualquer material com adaptação aos ambientes favoráveis. Para atender essa condição, os

materiais teriam que associar média superior à média geral, b_1 e $b_1+b_2 > 1$ e $s_d^2 = 0$.

De interesse para a região são os materiais que mostraram média semelhante ou superior à média geral e $b_1=1$, o que evidencia adaptabilidade geral, tais como, o híbrido BRS 3101, as variedades AL 30-Tiête, BR 5004, AL 25-Vencedor, BR 5037-Cruzeta, Sintético Dentado, BR 5028-São Francisco, Sintético Duro, BR 5033-Asa Branca. As variedades AL 30-Tiête, BR 5004, BR 5037-Cruzeta, Sintético Dentado e BR 5028-São Francisco, apresentaram ainda como vantagem boa previsibilidade de comportamento ($R^2 > 80\%$). O bom desempenho das variedades BR 5037-Cruzeta, BR 5004, BR 5028-São Francisco e BR 106 tem sido assinalados em outros trabalhos de melhoramento realizados na região (Cardoso et al., 1997; Carvalho et al., 1998, 1999 a, 1999 b, 1999 c e 1999 d).

Nota-se na Tabela 10, que a produtividade média dos híbridos foi de $5.597 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, com oscilação de 4.669

Tabela 10. Produtividades médias de grãos (kg/ha) e estimativas dos parâmetros de adaptabilidade e estabilidade de 40 híbridos de milho em sete ambientes no Estado do Piauí. Ano agrícola de 1998/1999.

Cultivares	Média nos ambientes				b_1	b_2	b_1+b_2	Q. M. desvios	R^2
	Geral	Desfavorável	Favorável						
Braskalb XL 251 ²	5947	4946	7281	1,61**	0,53ns	2,15*	789881,40ns	93	
BR 3123 ²	5933	5523	6480	0,73ns	1,50ns	1,24ns	1041337,21*	70	
MR 2601 ¹	5914	5282	6759	0,92ns	1,74**	2,67**	282329,83ns	95	
Pioneer X 1286 K ¹	5906	5611	6299	0,42**	0,18ns	0,61ns	477442,10ns	82	
AG 122 ³	5890	4644	7550	1,80**	0,35ns	2,15*	628803,23ns	95	
Zeneca 8501 ²	5887	5386	6555	0,83ns	1,27*	2,10*	209619,68ns	95	
BRS 3101 ²	5865	5036	6971	1,21ns	1,07ns	2,29*	336706,42ns	95	
Zeneca 8486 ¹	5863	5253	6677	1,00ns	0,09ns	1,10ns	770644,18ns	83	
Zeneca 8392 ¹	5834	5296	6551	0,87ns	0,11ns	0,99ns	1565417,74*	66	
Pioneer 3021 ²	5832	5259	6597	0,81ns	0,51ns	1,32ns	99963,06ns	97	
Cargill 447 ³	5820	5157	6706	0,90ns	1,24*	2,14*	1030053,30ns	80	
AG 4051 ²	5795	5292	6467	0,85ns	-1,60**	-0,74**	656477,93ns	81	
BRS 3060 ²	5760	5174	6542	0,98ns	-1,69**	-0,70**	1371720,65*	72	
Pioneer 30F80 ¹	5721	5061	6601	0,92ns	1,08ns	2,01ns	623182,26ns	88	
Cargill 333 B ¹	5715	4835	6888	1,34ns	-0,58ns	0,76ns	730099,83ns	90	
Cargill 929 ¹	5698	5114	6477	0,90	1,19*	2,09*	966275,46ns	82	
AG 1051 ³	5691	4933	6702	1,26ns	-0,34ns	0,92ns	953564,58ns	86	
Braskalb XL 251 ¹	5659	4945	6612	1,13ns	0,26ns	1,39ns	68281,73ns	99	
Cargill 444 ³	5612	4886	6579	0,99ns	-0,75ns	0,24ns	656157,75ns	84	
Colorado 9560 ¹	5605	50314	6371	1,86ns	-1,22*	-0,35*	71681,34ns	97	
AG 5011 ²	5063	4867	6586	1,04ns	-0,36ns	0,68ns	647391,86ns	86	
Pioneer X 1286 B ¹	5580	5298	5955	0,35**	-0,74*	-0,39ns	732909,63ns	40	
95 HT 74 ¹	5584	5119	6203	0,71ns	0,66ns	1,38ns	855370,02ns	75	
SHS 5050 ²	5579	5005	6343	1,11ns	-1,37*	-0,26*	1359069,17*	76	
AG 1043 ³	5570	4885	6484	1,03ns	-0,09ns	0,93ns	1348763,40*	75	
Braskalb XL 355 ²	5562	4689	6726	1,31ns	-0,01ns	1,29ns	695052,04ns	90	
Agromen 2014 ²	5543	5011	6251	0,95ns	-0,79	0,15	2309390,57**	57	
96 HT 91 ²	5520	4996	6220	0,81ns	-0,87ns	-0,05ns	363442,62	86	
Cargill 435 ³	5471	4686	6517	1,06ns	0,18ns	1,25ns	568644,27ns	89	
AGX 5273 ²	5443	4580	6595	1,43*	0,96ns	0,47ns	1575970,95*	82	
SHS 4040 ³	5419	4606	6503	1,25ns	0,31ns	0,93ns	103206,81ns	98	
AG 6016 ²	5399	4670	6371	1,06ns	0,95ns	0,10ns	461790,85ns	89	
BRS 2114 ³	5378	5035	5836	0,68ns	0,06ns	0,75ns	829936,03ns	69	
AGX 5580 ²	5357	4199	6900	1,57**	0,11ns	1,45ns	1439678,34*	86	
BRS 2110 ³	5313	4676	6162	0,95ns	0,93ns	1,88ns	378680,83ns	92	
Colorado 42 ²	5309	4500	6388	1,05ns	0,19ns	1,25ns	868667,94ns	83	
AG 3010 ³	5286	4764	5982	0,77ns	0,43ns	0,33ns	149369,24ns	93	
Agromen 3100 ³	5245	4685	5993	0,77ns	0,12ns	0,64ns	433877,63	84	
MTL 9742 ¹	5095	4470	5929	1,03ns	0,19ns	0,84ns	350085,45ns	92	
BR 2121 ³	4669	4304	5155	0,55*	1,30*	1,85ns	145500,43ns4	95	
Média	5597								
C.V. (%)	12,7								

** e * Significativamente diferentes da unidade, para b_1 e b_1+b_2 e de zero, para b_2 , a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste "t" de Student.

** e * Significativamente diferentes de zero a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente, ns= não significativo.

¹Híbrido simples, ²híbrido triplo e ³híbrido duplo.

kg.ha⁻¹ a 5.947 kg.ha⁻¹, o que indica bom desempenho produtivo no Nordeste brasileiro, sobressaindo com melhor adaptação, aqueles de rendimentos médio superiores à média geral. Nesse conjunto avaliado de híbridos percebe-se à inexistência do material ideal preconizado pelo modelo, como observado no conjunto avaliado de variedades. Diversos trabalhos realizados no Nordeste brasileiro (Cardoso et al. 1997, Carvalho et al. 1992, 1998 a, 1999 a, 1999 b, 1999 c e 1999 d), no Estado do Mato Grosso do Sul (Arias, 1996) e no Estado do Paraná (Carneiro, 1998) não têm assinalado à presença do genótipo ideal preconizado pelo modelo. Segundo Carneiro (1998) a identificação do genótipo que se aproxima do ideal é bastante dificultada, em razão dos vários parâmetros a serem considerados ao mesmo tempo (b_0 alto, $b_1 < 1$, $b_1 + b_2 > 1$ e s_d^2 o menor possível). Nenhum híbrido se mostrou com adaptabilidade específica às condições desfavoráveis. Para as condições favoráveis destacaram-se os híbridos Braskalb XL 251 e AG 122. Esses materiais expressaram média superior à média geral, b_1 e $b_1 + b_2$ estatisticamente maior que a unidade e boa estabilidade de produção ($R^2 > 80\%$) justificando suas recomendações nas condições favoráveis. Os híbridos que mostraram adaptabilidade geral e $b_1 = 1$ tem importância significativa nos sistemas de produção da região, a exemplo dos BR 3123, Pioneer X 1286 K, Zeneca 8501, BRS 3101, Zeneca 8486, Pioneer 3021, Zeneca 8392, dentre outros. Nesse grupo, aqueles que mostraram $R^2 > 80\%$, evidenciaram também boa estabilidade produção nos ambientes considerados.

Conclusões

1. As variedades melhoradas AL 30-Tietê, BR 5004, AL 25-Vencedor, BR 5037-Cruzeta, Sintético Dentado, BR 5028-São Francisco, Sintético Duro e BR 5033-Asa Branca têm importância fundamental nos sistemas de produção das pequenas e médias propriedades rurais do Estado do Piauí.
2. Os híbridos Braskalb XL 251 e AG 122 destacaram em condições ambientais favoráveis.
3. Nas variedades e híbridos não foi identificado qualquer material que se aproxime do genótipo ideal preconizado pelo modelo bissegmentado e também não foi encontrado qualquer material para recomendação em condições de ambientes desfavoráveis.

Literatura Citada

AGRIANUAL. 2000. São Paulo, FNP Consultoria & Comércio. 515 p.

- ARIAS, E.R.A. 1996. 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.; CARVALHO, H.W.L. de.; PACHECO, C.A.P.; SANTOS, M.X. dos.; LEAL, M. de L. da S. 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; MAGNAVACA, R.; LEAL, M. de L. da S. 1992. Estabilidade de produção de cultivares de milho no Estado de Sergipe. Pesquisa Agropecuária Brasileira 27(7):1073-1082.
- CARVALHO, H.W.L. de.; SANTOS, M.X.dos.; LEAL, M. de L. DA S. et al. 1998. 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; LEAL, M. de L. da S.; SANTOS, M.X. dos; CARDOSO M.J. et al. 1999a. Adaptabilidade e estabilidade de variedades e híbridos de milho no Nordeste brasileiro. Revista Científica Rural (Brasil) 4(1): 25-34.
- CARVALHO, H.W.L. de; SANTOS, M.X. dos; LEAL, M. de L. da S. et al. 1999b. Estabilidade de cultivares de milho no Nordeste brasileiro no triênio 1994/95/96. Revista Científica Rural (Brasil) 4(2): 96-104.
- CARVALHO, H.W.L. de; SANTOS, M.X. dos; LEAL, M. de L. da S. et al. 1999c. 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; SANTOS, M.X. dos; LEAL, M. de L. da S. et al. 1999d. Adaptabilidade e estabilidade de produção de cultivares de milho no Nordeste brasileiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira 34(9): 1581-1591.
- CRUZ, C.D.; TORRES, R.T.; VENCOVSKY, R. 1989. Alternative approach to the stability analysis proposed by Silva and Barreto. Revista Brasileira de Genética 12(13): 567-589.
- PIMENTEL-GOMES, F. 1990. Curso de estatística experimental. Piracicaba, Nobel. 467p.

- 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 E Zimmermann, M.J. de O. Genética quantitativa em plantas autogámas: aplicação no melhoramento do feijoeiro. Goiânia, UFG,6. pp.131-169. (Piracicaba, 120).
- 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.
- 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.
- VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. 1992. Genética biométrica no fitomelhoramento. Revista Brasileira de Genética 15 (3): 727.



EFFECT OF REDUCED HUMIDITY AND ANTITRANSPIRANTS IN ACCLIMATIZING MICROPROPAGATED *Citrus* PLANTLETS

B.N. Hazarika¹, V.A. Parthasarathy² and V. Nagaraju¹

¹Biotechnology Laboratory, ICAR Research Complex for NEH Region, Umiam - 793 103, Meghalaya, India

²Central Plantation Crops Research Institute, Kasaragod 671 124, Kerala, India.

A study was conducted to find out the effect of reduced humidity and antitranspirants on *in vitro* hardening and *ex vitro* survival of micropropagated *Citrus* plantlets. Relative humidity inside the culture vessel was reduced with silica gel. The antitranspirants used were Alar and 8 Hydroxy Quinolin (8 HQ). Results indicated that plants under silica gel treatment exhibited reduced shoot growth *in vitro* and lower *ex vitro* survival. 8 HQ (2 mg/l) was found effective in controlling excessive water loss which helped in more *ex vitro* survival as compared to control.

Key words: Alar, Hydroxy quinoline, micropagation, citriculture, silica gel.

Efeito do uso de antitranspirantes e da redução da umidade na aclimatação de plântulas de *Citrus* micropagadas. Um experimento foi conduzido para estudar o efeito da redução da umidade e do uso de antitranspirantes no enrijecimento *in vitro* e na sobrevivência *ex vitro* de plântulas de *Citrus* micropagadas. A umidade relativa dentro dos vasos de cultivo foi reduzida com silica gel. Os antitranspirantes usados foram Alar e 8 Hidroxi-quinolina (8HQ). Os resultados indicaram que os tratamentos com silica gel provocaram redução no crescimento dos brotos *in vitro* e mais baixa sobrevivência *ex vitro*. Encontrou-se que o 8HQ (2mg/l) foi efetivo no controle da perda excessiva de água, ajudando desta forma na maior sobrevivência *ex vitro*, quando comparada com o controle.

Palavras-chave: Alar, Hidroxi-quinolina, micropagação, citricultura, silica gel.

Introduction

The aseptic culture of plant tissue by *in vitro* methods lead inevitably to the saturation with water vapour of the atmosphere within the culture vessel which result in various abnormalities because of abnormal stomata (Grout and Aston, 1977) reduced photosynthetic capability and inhibition of surface wax production (Fuchigami et al., 1981). When transferred to the greenhouse or field, *ex vitro* plantlets are subjected to desiccation due to rapid water loss and plants soon die. To minimize the effect of transplantation stress, the *ex vitro* plantlets should be hardened off before being exposed to harsh field conditions. The ability to grow plantlets *in vitro* at reduced level of humidity is coupled with the development of normal amount of wax, which enhances the rate of survival after transfer to greenhouse or field conditions. Wardle *et al.* (1983) induced wax development and the formation of stomata with narrow apertures by culturing chrysanthemum plantlets *in vitro* under condition to low humidity. Substances that reduce transpiration rates by forming a semi permeable membrane on the leaf surface has also been reported for reduced water use by plants (Steinberg *et al.*, 1990). Voyatzis and McGranahan (1994) found more survival rate in tissue cultured walnut plants using latex polymer as an antitranspirant. However, the beneficial effect of covering the leaf surface with antitranspirants on the rate of water loss was offset by the deleterious effect on plantlets growth (Sutter and Hutzell, 1984). Similarly Mycock *et al.*, (1997) could reduce vitrification of secondary embryoids of endangered succulent species of South African *Haworthia* by culturing them in presence of silica gel. Hydroxyquinoline resulted in good rooting and survival of *Daphne odora* cultivars when the micro cuttings were pretreated before planting (Christie and Brascamp, 1988). Application of daminozide to plantlets of Russet Burbank potatoes prior to transplanting produced highest number and yield of tubers (Sipos *et al.* 1988). However, such work has not been reported in Citrus. Hence we have attempted to harden *in vitro* grown Citrus plantlets with reduced humidity and antitranspirants without agar based medium.

Materials and Methods

Microshoots of about 2.0-2.5cm long were harvested from *in vitro* proliferating culture of four different *Citrus* species viz., *Citrus reticulata Blanco* (KM), *C. nobilis* x *C. deliciosa* Tenore (KIN), *C. volkameriana* Ten and Pasq (CV) and *C. reshini* Tanaka (CLM) were aseptically cultured in tissue culture bottle (450 ml capacity) with soilrite as a carrier. Bottles were filled up to one third

with soilrite and one fourth strength MS (Murashige and Skoog, 1962) salt solution were added depending on its capacity of absorption before autoclaving at 121°C with a pressure of 1.8 Kg/cm² for 20 min. Three to 4 microshoots were placed in each bottle and 30 bottles were used for each treatment and placed in culture room with culture condition of 25 ± 1°C, 16 hrs photoperiod under 60 μmol/m²/s. Reduced humidity treatment was done with silica gel (8mg). The antitranspirants used were succinic acid 2,2 - dimethylhydrazide (alar) (1 mg/l and 2 mg/l) and 8 Hydroxy Quinolin (1 and 2 mg/l.) Silica gel was tied with perforated cloth and suspended inside the bottle with cotton thread. Antitranspirants were spread over plants at two days interval. Observations were recorded after four weeks. Then they were transferred to mist house in polythene bag containing 1:1 soil and farm yard manure (FYM) and after one week survival per cent was recorded. The relative water content (RWC) was estimated following the methods of Bars and Withal (1962) and stomatal index (SI) of abaxial surface was estimated following the method of Dhawan and Bhojwani (1987).

Results and Discussion

It was observed that the antitranspirants treatment had significant effect on growth of *Citrus* plantlets (Table 1). Shoot growth was lowest in silica gel treatment while control plantlets recorded the highest shoot and root growth except stomatal index. However, alar and 8 HQ were on a par for most of the parameters studied. This might be due to restricted growth inside the bottles due to dry environment caused by silica gel. This treatment reduces plant water status thereby decreasing the RWC of leaves which is evident from the lowest RWC (15.93%). Wardle *et al.* (1983) also found similar findings with silica gel treatment in chrysanthemum and cauliflower. They found that antitranspirants treatment were effective in reducing humidity in jars which induced epicuticular wax deposition in cauliflower but proved detrimental for plant growth. Mean value for different species to silica gel and antitranspirants (Table 2) revealed the presence of significant difference for most of the characters studied. Highest plant weight (293.53 mg) was recorded in Kinnow while CLM recorded the lowest plant weight (280.45 mg). Shoot length ranges from 2.8 cm in CLM to 3.2 cm in KM and CV. Highest leaf weight (30.46 mg) was recorded in CV followed by KM (28.93 mg). Interaction among *Citrus* species and antitranspirants are presented in Table 3. Data showed significant interactions for most of the character studied. However leaf number and RWC were not significant. Significantly reduced leaf weight was recorded with silica gel treatment

Table 1 - Morphogenetic effect of silica gel and antitranspirants on *Citrus*.

Treatment	Plant wt. (mg)	Shoot length (cm)	Leaf No.	Leaf wt. (mg)	Root length (cm)	Root wt. (mg)	RWC (%)	S.I. (%)
Control	313.92	4.1	6.25	38.92	4.38	13.08	29.16	10.81
Silica gel	264.83	2.8	5.45	24.18	3.39	8.29	15.93	11.77
Alar 1 mg/l	288.79	2.9	5.55	26.65	3.11	7.60	27.66	11.36
Alar 2 mg/l	285.52	2.9	5.85	25.90	3.00	7.07	28.86	11.37
8HQ 1mg/l	284.98	3.0	5.90	27.17	3.05	6.80	27.84	10.87
8 HQ 2 mg/l	291.33	2.8	5.90	27.20	2.93	7.81	29.27	11.00
SEm±	4.062	0.051	1.133	0.605	0.081	0.309	0.655	0.339
CD (0.05)	11.411	0.143	0.374	1.701	0.229	0.870	1.841	NS

Table 2 - Mean response of Citrus microshoots under silica gel and Antitranspirants treatment.

Specie	Plant wt. (mg)	Shoot length (cm)	Leaf No.	Leaf wt. (mg)	Root length (cm)	Root wt. (mg)	RWC (%)	S.I. (%)
KM	299.92	3.2	5.77	28.93	3.23	7.89	25.30	11.89
KIN	293.53	3.1	6.00	26.65	3.58	8.65	27.17	10.49
CV	290.00	3.2	5.63	30.46	2.88	8.45	26.68	11.03
CLM	280.45	2.8	5.87	27.40	3.55	8.77	26.66	11.38
SEm±	3.017	0.417	0.108	4.945	0.066	2.530	0.535	0.277
CD(0.05)	9.316	1.171	NS	13.89	0.187	NS	NS	0.778

Table 3 - Interaction between *Citrus* species and antitranspirants

Sp.	Treatment	Plant wt. (mg)	Shoot length (cm)	Leaf No.	Leaf wt. (mg)	Root length (cm)	Root wt. (mg)	RWC (%)	S.I. (%)
KM	Control	303.0	4.1	6.4	38.54	4.28	10.38	26.20	12.06
	Silica gel	235.5	2.7	5.4	20.30	3.20	7.46	17.34	11.24
	Alar 1mg	297.2	3.0	5.4	28.24	3.00	7.86	26.19	13.63
	Alar 2mg	308.5	3.3	5.8	27.42	2.96	7.36	27.21	11.01
	8 HQ 1 mg	289.7	3.2	5.6	30.16	3.04	7.32	25.05	11.32
KIN	8 HQ 2 mg	299.2	3.0	6.0	28.90	2.92	6.96	29.54	12.05
	Control	316.8	4.4	6.6	38.24	5.22	15.80	32.53	10.56
	Silica gel	283.8	2.7	5.4	23.76	3.54	7.40	15.43	11.83
	Alar 1mg	293.4	3.1	5.6	24.90	3.38	7.60	26.95	9.58
	Alar 2mg	297.1	2.7	5.8	24.54	3.10	6.50	29.54	11.18
CV	8 HQ 1 mg	285.7	2.8	6.2	24.36	3.32	6.62	28.06	10.75
	8 HQ 2 mg	284.4	2.9	6.4	23.54	2.90	8.80	30.54	9.73
	Control	352.4	4.5	5.8	40.80	3.38	12.40	28.95	11.17
	Silica gel	277.4	3.2	5.2	29.30	3.42	9.54	14.84	12.41
	Alar 1mg	280.4	2.9	5.6	29.30	2.50	7.46	28.19	9.15
CLM	Alar 2mg	259.2	2.6	5.8	26.14	2.42	6.56	29.91	11.86
	8 HQ 1 mg	278.7	3.0	5.8	27.78	2.46	6.38	29.06	11.64
	8 HQ 2 mg	291.7	2.8	5.6	29.46	3.08	8.34	29.13	9.93
	Control	283.2	3.4	6.2	38.10	4.62	13.74	28.97	9.48
	Silica gel	262.6	2.6	5.8	23.38	3.40	8.76	15.81	12.26
SEm±	Alar 1mg	284.1	2.7	5.6	24.16	3.54	7.46	29.32	13.10
	Alar 2mg	277.2	2.8	6.0	25.50	3.54	7.84	28.78	11.45
	8 HQ 1 mg	285.7	2.8	6.0	26.38	3.36	6.88	29.19	9.76
	8 HQ 2 mg	289.9	2.7	5.6	26.90	2.82	7.92	27.86	12.27
	CD (0.05)	8.125	0.102	0.266	1.211	0.163	0.619	1.310	0.678
		22.823	0.286	NS	3.403	0.458	1.741	NS	1.906

which might be due to low relative water content in this treatment for all the four *Citrus* species. Ritchie *et al* (1991) also stated that in abnormal water relations, cultured plants exhibit limited leaf growth.

A perusal of data presented in Figure 1 shows that lowering the relative humidity with silica gel results lower *ex vitro* survival, which might be due to, restricted growth in dry environment. On the other hand 8 HQ (2mg/l) was found effective in controlling water loss as evident

by highest RWC content in this treatment which helped in higher *ex vitro* survival. Higher RWC values with higher stomatal resistance in alar and 8 HQ treated plants was also reported by Amaregouda *et al* (1994) in groundnut.

Acknowledgement

The authors are grateful to Department of Biotechnology, Govt. of India for financial support.

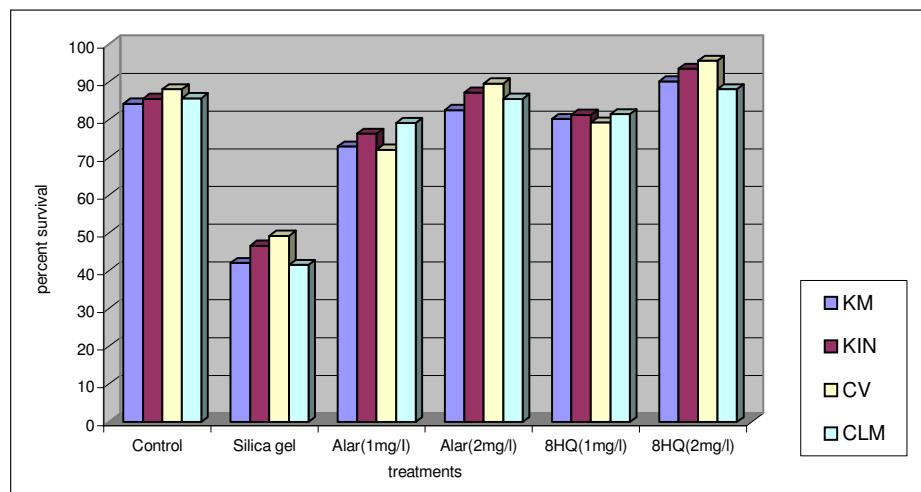


Figure 1 - *Ex vitro* survival percent as influenced by silica gel and antitranspirants.

Literature Cited

- AMAREGOUDA, A. et al. 1994. Effect of antitranspirants on stomatal resistance and frequency, relative water content and pod yield in summer groundnut (*Arachis hypogaea* L.). Annual Plant Physiology 8: 18-23.
- BARRS, H.D.; WEATHERLY, P. E. 1962. A re-examination of relative humidity for estimating water deficits in leaves. Australian Journal Biology Science 15: 413-448.
- CHRISTIE, C.B.; BRASCAMP, W. 1988. Exflasking high health Daphne plantlets. Cambridge Proceedings Internationale Plant propagator's Society 38: 394 - 398.
- DEBERGH, P.C.; MAENE, L.J. 1981. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. Scientiae Horticulture 14: 335-345.
- DHAWAN, V.; BHOJWANI, S.S. 1987. Hardening in vitro and morpho-physiological changes in the leaves during acclimatization of micropropagated plants of *Leucaena lucecephala* (Lam.) De wit. Plant Science 53: 65-67.
- FUCHIGAMI, L.H., CHENG, T.Y.; SOELDNER, A. 1981. Abaxial transpiration and water loss in aseptically culture plum. Journal of the American Society for Horticultural Science 106: 519-522.
- GROUT, B.W.W.; ASTON, M.J. 1977. Transplanting of cauliflower plants regenerated from meristem culture. I. Water loss and water transfer related to changes in leaf wax and to xylem regeneration. Horticultural Research 17:1-7.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, T. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15: 473 - 495.
- MYCOCK, D.J. et al. 1997. Somatic embryogenesis of two indigenous South African *Haworthia* spp. (*H. limifolia* and *H. koelmaniorum*). Journal Botany 63: 345 - 350.
- RITCHIE, G.A.; SHORT, K.C.; DAVEY, M.R. 1991. *In vitro* acclimatization of Chrysanthemum and Sugar beet plantlets by treatment with paclobutrazol and exposure to reduced humidity. Journal of Experimental Botany 42: 1557-1563.
- SIPOS, J.; NOWAK, J.; HICKS, G. 1988. Effect of daminozide on survival, growth and yield of micropropagated potatoes. American Potato Journal 65: 353 - 364.
- SUTTER, E.G.; HUTZELL, M. 1984. Use of humidity tents and antitranspirants in the acclimatization of tissue cultured plants to the greenhouse. Scientiae Horticulture 23: 303-312.
- STEINBERG, S. L.; Mc FARLAND, M.J.; WORTHINGTON, J.W. 1990. Antitranspirants reduces water use by peach trees following harvest. Journal of the American Society for Horticultural Science 115: 20-24.
- VOYIATZIS, D.G.; McGRANAHAN, G.H. 1994. An improved method for acclimatizing tissue cultured walnut plantlets using an antitranspirant. Horticultural Science 29: 42.
- WARDLE, K.; DOBBS, E.B.; SHORT, K.C. 1983. *In vitro* acclimatization of aseptically cultured plantlets to humidity. Journal of the American Society for Horticultural Science 108: 386-389.

EFEITO DO MÉTODO DE INOCULAÇÃO E ESTÁDIO DA PLÂNTULA DE CACAUERO, À REAÇÃO DE *Crinipellis perniciosa*

Marco Antonio Valle Agostini¹, Edna Dora Martins Newman Luz² e Stela Dalva Vieira Midlej Silva²

¹Universidade Federal de Viçosa, 36571-000, Viçosa, Minas Gerais, Brasil; ²CEPLAC/CEPEC, Seção de Fitopatologia, Caixa Postal 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil.

O fungo *Crinipellis perniciosa*, agente causal da doença vassoura-de-bruxa no cacaueiro, vem ameaçando a sustentabilidade da exploração da cultura no sul da Bahia. O presente trabalho visou encontrar a melhor interação entre dois métodos de inoculação e dois estádios de desenvolvimento de plântulas de cacaueiro para discriminar resistência entre materiais genéticos. Progêniens dos clones CATONGO (susceptível), THEOBAHIA (tolerante) e dos TSH, EET e TSA (intermediários), foram inoculadas com uma suspensão de $7,5 \times 10^4$ basidiósporos/ml utilizando o método da gota e o da esteira automatizada em 2 estádios de desenvolvimento, um aos 15 dias, quando os cotilédones apresentavam-se abertos, e o outro aos 30 dias, no 2º lançamento foliar. Utilizou-se o delineamento experimental de blocos acasos, com 12 tratamentos e 4 repetições com 56 plantas por parcela, totalizando 2688 plântulas. Aos 60 dias da inoculação, procedeu-se a avaliação através das variáveis: vassoura terminal, vassoura axilar e vassoura cotiledonar; caule, pulvíno, pecíolo e hipocótilo entumecidos. O resultado do experimento mostrou a necessidade de obtenção de um material suscetível padrão mais confiável e uniforme que uma progênie de polinização aberta de CATONGO e demonstrou que as inoculações realizadas pelo método de esteira em plântulas aos 15 dias de desenvolvimento foram mais eficientes.

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

Effect of inoculation methods and plants development stage on the reaction of cocoa seedlings to *Crinipellis perniciosa*. *Crinipellis perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cocoa has been threatening the sustainability of the cacao culture in South of Bahia. This research aimed found the better interaction between two inoculation methods and two stages of plant development in order to discriminate resistance reaction of cacao genotypes to the disease. Progenies of CATONGO (susceptible), THEOBAHIA (tolerant) and TSH, EET and TSA (intermediates) were inoculated with a suspension of 7.5×10^4 basidiospores/ml in one of the following stages of development: at 15 days of germination - when the cotyledons were opened or at 30 days of germination - second foliar flushing. The two methods of inoculation were: drops of inoculum handily placed or spray of inoculum through the belt spray system. A randomized block design was used with 12 treatments, 4 replications and 56 seedlings per plot, totalizing 2,688 seedlings. Sixty days after inoculation the plants were evaluated for each one of the following variables: terminal, axillary and cotyledonary brooms; and swellings of stem, petiole, pulvinus and hypocotile. It was observed the need of using a standard susceptible genotype more uniform and reliable than an open pollinated progeny of CATONGO. Inoculations of seedling at the cotyledonary stage of development using the belt spray system was the more efficient treatment to differentiate genotypes reactions to *C. perniciosa*.

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

Introdução

A vassoura-de-bruxa causada pelo basidiomiceto *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer é a principal doença do cacaueiro (*Theobroma cacao* L.). Sua atuação estava restrita à Amazônia. Nesta área, sob condições favoráveis ao patógeno, mais de 90% dos frutos podem ser atacados e destruídos (Evans, 1981). Em 1989, foi constatada na Bahia causando perdas acentuadas na produção de amêndoas da região sul baiana (Pereira *et.al.*, 1989).

Essa doença afeta principalmente tecidos meristemáticos em crescimento, como almofadas florais, brotos vegetativos e frutos, provocando uma série de sintomas entre eles, inchamento, brotação intensa e cancro.

Os frutos infectados apresentam variados sintomas dependendo do modo de infecção e idade do mesmo. Quando infectados indiretamente, através do pedicelo das flores, adquirem forma característica de morango, paralisando seu crescimento, tornando-se negros e petrificados quando secos. Quando infectados diretamente no epicarpo, podem adquirir forma de cenoura, caso sejam infectados com cerca de 1cm de comprimento paralisando seu crescimento. Em frutos desenvolvidos com aproximadamente 8 cm de comprimento, o sintoma característico é o aparecimento externo de mancha negra, dura e irregular que pode estar circundada por um halo amarelo e internamente as amêndoas estão aderidas entre si e inaproveitáveis (Singer, 1942).

Algumas práticas agronômicas para o controle da vassoura-de-bruxa em cacaueiros, foram discutidas por Purdy e Schmidt (1996) incluindo procedimentos fitossanitários, uso de fungicidas e materiais resistentes. A poda fitossanitária, que consiste na remoção de ramos, almofadas florais e frutos doentes e cuja freqüência depende do nível de infecção na lavoura, é realizada, na Bahia, em 4 remoções/ano (fevereiro, maio, agosto e novembro), seguida do manejo adequado desse material, que poderá ser queimado ou empilhado e coberto com folhas para impedir a formação de basidiomas, até sua decomposição completa (Luz *et al.*, 1997). Esta prática é, no entanto, dispendiosa e envolve grande quantidade de mão-de-obra.

O controle químico utilizando fungicidas à base de cobre, quando aplicados no pico da floração, oferece bons resultados. Estes produtos, evitam a infecção de frutos quando aplicados a intervalos mensais ou em única dose mas, não tem eficiência na proteção dos lançamentos foliares (Almeida *et al.*, 1998). O uso de genótipos resistentes à doença, tem grande potencial para o controle do fungo na lavoura, sendo um método relativamente barato e com a vantagem de diminuir o uso de defensivos

agrícolas, o que é desejável no contexto de sustentabilidade da cultura.

Para selecionar plantas resistentes, faz-se necessário inocular o maior número possível de genótipos, analisando sua reação ao fungo. Neste sentido, vários métodos foram propostos para avaliar a resistência à vassoura-de-bruxa. Holliday (1955) propôs um método que consistia em mergulhar sementes com 4 dias de pré-germinadas em suspensão de basidiósporos. Evans (1978) propôs o método de discos de ágar, onde os basidiocarpos eram colocados em placas de Petri contendo ágar-ágar para liberar os basidiósporos e a seguir os discos de ágar com basidiósporos eram colocados sobre a gema de plântulas. Ambos os métodos não quantificavam a concentração de basidiósporos a ser utilizadas, como também impossibilitavam a inoculação de um grande número de plântulas.

A padronização da concentração de basidiósporos na suspensão, do volume aplicado sobre cada plântula, do controle da temperatura e umidade do ar e da inoculação de um maior número de plântulas em menos tempo foi obtido através da utilização do método da esteira automatizada (Frias *et al.*, 1995; Purdy *et al.*, 1997).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a melhor interação entre dois métodos de inoculação e dois estádios de desenvolvimento de plântulas de cacaueiro, na discriminação de material em relação a sua reação a *C. perniciosa*.

Material e Métodos

Os ensaios foram realizados no Centro de Pesquisa do Cacau - CEPEC/CEPLAC, Ilhéus - Bahia, em casa-de-vegetação no período de 30/06 a 17/10 de 1997 utilizando-se 9 genótipos (Tabela 1), selecionados como tolerante, tolerância intermediária e suscetível à vassoura-de-bruxa, segundo dados da Seção de Genética do CEPEC. Devido a indisponibilidade de sementes de um

Tabela 1 - Relação dos genótipos e número total de plântulas usadas no experimento. CEPEC, 1997.

Genótipo	Reação	Nº de plantas
CATONGO	Suscetível	896
EET 392	Intermediário	168
EET 377	Intermediário	112
TSA 656	Intermediário	112
TSA 654	Intermediário	224
TSA 644	Intermediário	56
TSH 774	Intermediário	112
TSH 516	Intermediário	112
THEOBAHIA	Tolerante	896

genótipo considerado como intermediário, optou-se pelo uso de uma mistura de sete para perfazer o mesmo número de plantas utilizadas para CATONGO e THEOBALIA.

As sementes pré-germinadas foram plantadas em tubetes plásticos de 288 cm³ contendo solo estéril. Atingido o estádio de desenvolvimento determinado, isto é: estádio 1 com 15 dias na abertura dos cotilédones ou estádio 2 com 30 dias de germinado no segundo lançamento foliar, as plântulas foram inoculadas com uma suspensão de 7,5 x 10⁴ basidiósporos/ml.

Utilizaram-se dois métodos de inoculação: I) aplicação de uma gota de 20 µl de suspensão de inóculo em cada cotilédone no estádio 1 ou na gema apical no estádio 2; e II) por esteira automatizada (Purdy, et al. 1997) no qual plântulas, nos dois estádios, foram pulverizadas com suspensão de inóculo através de um bico ejetor sobre uma esteira à velocidade de 2,7 m/min, recebendo cada planta 1ml de suspensão. Após inoculação, as plântulas foram incubadas por 24 h à 25-27°C com umidade relativa próximo a 100%, voltando à casa-de-vegetação após esse período. As irrigações foram feitas diariamente por um sistema de aspersores.

Utilizou-se o delineamento experimental de blocos ao acaso dispostos em fatorial 3 x 2 x 2 (3 materiais genéticos, 2 métodos de inoculação e 2 estágios de desenvolvimento) com 12 tratamentos e 4 repetições tendo 56 plântulas por parcela.

As plantas foram avaliadas individualmente, 60 dias após a inoculação através das variáveis: vassoura terminal (VT), vassoura axilar (VA) e vassoura cotiledonar (VC); caule (EN), pulvínio (PUL), pecíolo (PE) e hipocôtilo (HI) entumecidos, atribuindo para cada variável nota 0 ou 1 de acordo com a ausência ou presença em cada planta, respectivamente. Os resultados foram utilizados para calcular as percentagens de sintomas em cada tratamento e posteriormente sofreram duas transformações: \sqrt{x} para serem submetidos a ANOVA e análise da interação entre método e estádio de desenvolvimento; $\sqrt{x+0,5}$ para comparação das progêniens em cada tipo de combinação podendo desse modo distinguir qual a melhor interação entre método e estádio que possibilitasse discriminar as reações dos diferentes materiais.

Resultados e Discussão

Como houve ao realizar-se a ANOVA ($p < 0,01$) uma diferença significativa para método, estágio e interação,

foi feita o desdobramento entre os métodos e estádios procurando a interação que expressasse melhor o padrão de reação de cada material.

Os dois estádios de desenvolvimento das plântulas foram estatisticamente diferentes quanto à infecção do patógeno, sendo que as plântulas no estádio cotiledonar apresentaram maior suscetibilidade do que as que foram inoculadas no estádio de 2º lançamento foliar (Tabela 2).

Tabela 2 - Percentagem¹ de sintomas causados por *Crinipellis perniciosa* em plântulas de cacaueiro em dois estádios de desenvolvimento. CEPEC, 1997.

Estádio	VT ²	VA	PE	EN	HI	VC	PUL
Cotiledonar	19,7 ^{**}	25,3 ^{**}	27,0 ^{**}	25,6 ^{**}	11,1 [*]	24,2 ^{**}	28,2 ^{**}
2º lançamento foliar	1,6	1,7	1,6	1,6	14,3	15,9	2,2

¹ Dados originais transformados em $\sqrt{x+0,5}$ para análise estatística;

² VT = Vassoura Terminal; VA = Vassoura Axilar; VC = Vassoura Cotiledonar; PE = Entumecimento do Pecíolo; EN = Entumecimento do Caule; HI = Entumecimento do Hipocôtilo; PUL = Entumecimento do Pulvínio.

* = significativo ($p=0,05$)

** = significativo ($p=0,01$)

A comparação entre os métodos de inoculação nos dois estádios, demonstrou que as plantas inoculadas no 2º lançamento foliar não apresentaram diferença significativa em relação ao método utilizado. No estádio cotiledonar houve maior incidência de sintomas nas plantas inoculadas pelo método da esteira, podendo este método ser mais rigoroso na seleção de plantas tolerantes, quando inoculadas com 15 dias após germinação (Tabela 3).

Comparando os grupos de plantas (suscetível, intermediário e tolerante) com o mesmo método no 2º lançamento foliar, verificou-se que não foi possível diferenciar as plantas dos grupos suscetível x intermediário com método de gotas e, intermediário x tolerante em ambos os métodos (Tabela 4). No contraste entre os grupos suscetível x intermediário, no método de esteira, verificaram-se diferenças significativas nas variáveis VT, VA, PE e PUL, com a progênie CATONGO apresentando menor percentagem de sintomas em relação ao grupo intermediário. Fato semelhante ocorreu no estádio de abertura dos cotilédones quando inoculado pelo método de esteira.

A progênie de CATONGO, por ter sido polinizada por parental desconhecido, não oferece certeza da sua suscetibilidade, podendo apresentar alguma resistência dependendo do doador de pólen. Como o método de esteira se mostrou mais rigoroso, este fato só se expressou nesses tratamentos. Portanto há necessidade de utilizar-se plantas obtidas de polinização controlada e de reações conhecidas.

Tabela 3 – Percentagem¹ de sintomas causados por *Crinipellis perniciosa* em plântulas de cacaueiro nos diferentes estádios de desenvolvimento em relação aos diferentes métodos de inoculação. CEPEC, 1997.

Estádio	Método	VT ²	VA	PE	EN	HI	VC	PUL
Cotiledonar	Gota	2,4 ^{**}	3,6 ^{**}	3,3 ^{**}	4,5 ^{**}	13,7 [*]	21,7 ^{ns}	3,9 ^{**}
	Esteira	37,1	47,2	50,7	46,7	8,5	26,6	52,5
2º lançamento foliar	Gota	1,8 ^{ns}	1,6 ^{ns}	1,8 ^{ns}	1,6 ^{ns}	15,3 ^{ns}	16,6 ^{ns}	2,2 ^{ns}
	Esteira	1,3	1,8	1,5	1,5	13,2	15,0	2,2

¹. Dados originais transformados em $\sqrt{x+0,5}$ para análise estatística

². VT = Vassoura Terminal; VA = Vassoura Axilar; VC = Vassoura Cotiledonar;

PE = Entumecimento do Pecíolo; EN = Entumecimento do Caule;

HI = Entumecimento do Hipocôtilo; PUL = Entumecimento do Pulvíno.

* = significativo (p=0,05)

** = significativo (p=0,01)

ns = não significativo

Tabela 4 - Percentagem¹ de sintomas causados por *Crinipellis perniciosa* em plântulas de cacaueiro no estádio de 2º lançamento foliar, entre os grupos suscetível x intermediário e intermediário x tolerante, com dois métodos de inoculação. CEPEC, 1997.

Grupo	Método	VT ²	VA	PE	EN	HI	VC	PUL
Suscetível	Gota	2,2 ^{ns}	2,2 ^{ns}	3,1 ^{ns}	2,2 ^{ns}	23,2 ^{ns}	21,0 ^{ns}	4,0 ^{ns}
	Esteira	1,8	1,8	1,8	1,3	14,3	17,9	1,8
Intermediário	Gota	0,0 [*]	0,0 [*]	0,0 [*]	0,0 ^{ns}	19,6 ^{ns}	18,3 ^{ns}	0,0 ^{**}
	Esteira	3,1	3,6	3,1	2,2	13,0	16,1	4,9
Tolerante	Gota	1,8 ^{ns}	1,8 ^{ns}	1,8 ^{ns}	1,3 ^{ns}	14,3 ^{ns}	17,9 ^{ns}	1,8 ^{ns}
	Esteira	1,3	0,9	0,5	1,3	8,5	11,2	0,9
Tolerante	Gota	3,1 ^{ns}	3,6 ^{ns}	3,1 ^{ns}	2,2 ^{ns}	13,0 ^{ns}	16,1 ^{ns}	4,9 ^{ns}
	Esteira	0,9	1,8	1,3	2,2	7,1	10,7	1,8

¹. Dados originais transformados em $\sqrt{x+0,5}$ para análise estatística

². VT = Vassoura Terminal; VA = Vassoura Axilar; VC = Vassoura Cotiledonar;

PE = Entumecimento do Pecíolo; EN = Entumecimento do Caule;

HI = Entumecimento do Hipocôtilo; PUL = Entumecimento do Pulvíno.

* = significativo (p=0,05)

** = significativo (p=0,01)

ns = não significativo

Quando da comparação entre os três grupos de progênies no estádio cotiledonar, verificou-se que não houve diferença significativa entre o grupo suscetível x intermediário inoculado pelo método de gotas. Pelo método de esteira, no entanto, a progénie de CATONGO apresentou menor porcentagem de vassoura terminal (VT), e maior percentagem de vassouras cotiledonares que o grupo intermediário. Nas demais variáveis não houveram diferenças estatísticas significativas (Tabela 5).

No contraste entre o grupo intermediário x tolerante, no estádio cotiledonar, as plântulas do grupo intermediário inoculadas pelo método de gotas apresentaram maior número de vassouras cotiledonares (VC) e entumescimentos do caule (EN), hipocôtilo (HI) e pulvíno (PUL) que as plantas tolerantes. Não houveram diferenças significativas para as demais variáveis. Plântulas do grupo intermediário inoculadas pelo método de esteira, apresentaram significativamente mais vassoura terminal

Tabela 5 – Percentagem¹ de sintomas causados por *Crinipellis perniciosa* em plântulas de cacaueiro no estádio cotiledonar, entre os grupos suscetível x intermediário e intermediário x tolerante, com dois métodos de inoculação. CEPEC, 1997.

Grupo	Método	VT ²	VA	PE	EN	HI	VC	PUL
Suscetível	Gota	3,1 ^{ns}	3,6 ^{ns}	4,0 ^{ns}	4,9 ^{ns}	16,5 ^{ns}	32,1 ^{ns}	4,5 ^{ns}
	Intermediário	3,6	5,4	4,5	6,3	18,3	23,2	5,4
Suscetível	Esteira	33,0	43,3 ^{ns}	49,6 ^{ns}	46,0 ^{ns}	9,4 ^{ns}	42,0 ^{**}	49,6 ^{ns}
	Intermediário	50,9 ^{**}	56,3	59,8	53,6	12,1	22,3	61,6
Intermediário	Gota	3,6 ^{ns}	5,4 ^{ns}	4,5 ^{ns}	6,3 [*]	18,3 [*]	23,2 [*]	5,4 [*]
	Tolerante	0,5	1,8	1,3	2,2	6,3	9,8	1,8
Intermediário	Esteira	50,9 ^{**}	56,3 ^{ns}	59,8 [*]	53,6 ^{ns}	12,1 ^{ns}	22,3 ^{ns}	61,6 [*]
	Tolerante	27,2	42,0	42,9	40,6	4,0	15,6	46,4

¹ Dados originais transformados em $\sqrt{x+0,5}$ para análise estatística

² VT = Vassoura Terminal; VA = Vassoura Axilar; VC = Vassoura Cotiledonar;

PE = Entumecimento do Pecíolo; EN = Entumecimento do Caule;

HI = Entumecimento do Hipocótilo; PUL = Entumecimento do Pulvíno.

* = significativo (p=0,05)

** = significativo (p=0,01)

ns = não significativo

(VT), pecíolo (PE) e pulvíno (PUL) intumescidos, que a progénie tolerante. Os dois métodos mostraram-se eficientes na discriminação de materiais intermediários e tolerantes inoculados no estádio cotiledonar (Tabela 5).

É necessário a obtenção de plantas através de auto-fecundação ou polinização controlada usando um progenitor masculino suscetível para formação da progénie padrão de suscetibilidade.

Conclusão

Plântulas inoculadas pelo método de esteira no estágio cotiledonar foi o melhor tratamento na diferenciação de material quanto à reação ao patógeno, além de diminuir o tempo de permanência do material em casa-de-vegetação.

É necessária a obtenção de um material suscetível padrão mais confiável e uniforme que as progénies de polinização aberta de Catongo.

Literatura Citada

ALMEIDA, L. C. C. de; NIELLA, G. R.; BEZERRA, J. L. 1998. Efeito de remoções de partes doentes do

cacaueiro associadas a intervalos de aplicação de óxido cuproso no controle da vassoura-de-bruxa na Bahia. Agrotrópica (Brasil) 10(2): 95 - 102.

EVANS, H.C. 1978. Witches' broom of cocoa (*Crinipellis perniciosa*) in Ecuador. I. The fungus. Annals of Applied Biology 89:185-192.

EVANS, H.C. 1981. Witches's broom disease - a case study in cocoa. Cocoa Grower's Bull. 32 :5-19;

FRIAS, G.A.; PURDY, L.H.; SCHMIDT, R.A. 1995. An inoculation method for evaluating resistance of cacao to *Crinipellis perniciosa*. Plant Disease 9 : 787-791.

HOLLIDAY, P. 1954. A test for resistance to *Marasmus perniciosa* Stahel, 1955. In: St. Augustine, Trinidad, ICTA. Report. pp. 50-55.

LUZ, E. D. M. N.; BEZERRA, J. L.; RESENDE, M. L. V.; OLIVEIRA, M. L. 1997. Cacau (*Theobroma cacao* L.); Controle de doenças. In: Vale, F. X., Ribeiro do, Zambolim, L. Controle de doenças de plantas: grandes culturas. Visconde do Rio Branco, MG, v.2. pp. 611- 655.

PEREIRA, J.L.; RAM, A.; FIGUEREDO, J.M. de; ALMEIDA, L.C.C. de. 1989. Primeira ocorrência de vassoura-de-bruxa na principal região produtora de cacau do Brasil. Agrotrópica (Brasil) 1:79-81.

- PURDY, L.H.; SCHMIDT, R.A. 1996. Status of cacau witches' broom: biology, epidemiology, and management. Annual review of phytopathology 34: 573-594.
- PURDY, L.H. et al. 1977. An automated system for screening *Theobroma cacao* for resistance to witches' broom. Agrotrópica (Brasil) 9(3): 119-126.
- SINGER, R. 1942. A monographic study of the genera *Crinipellis* and *Chaetocalathus*. Lilloa 8: 441-513.



CRESCIMENTO INICIAL E SOBREVIVÊNCIA DE MANGABEIRAS (*Hancornia speciosa* GOMES) A NÍVEL DE CAMPO, EM DIFERENTES SUBSTRATOS

Raul Dantas Vieira Neto e Marcelo Ferreira Fernandes

Embrapa Tabuleiros Costeiros, Av. Beira-Mar, 3.250, Caixa Postal 44, 49001-970, Aracaju, Sergipe, Brasil. E-mail:
raul@cpate.embrapa.br

O estudo foi conduzido em área de baixada litorânea situada no município de Aracaju, SE, com o objetivo de avaliar o efeito de quatro substratos na sobrevivência e no crescimento inicial de mangabeiras. As mudas foram plantadas em covas de 0,4m x 0,4m x 0,3m preenchidas com substratos com as seguintes composições percentuais, em termos de volume: 100% areia (A), 80% areia + 20% terra-preta (A+TP), 80% areia + 20% esterco bovino (A +E) e 60% areia + 20% esterco + 20% terra preta (A+E+TP). Os substratos A+E e A+E+TP apresentaram maior pH, condutividade elétrica e disponibilidade de nutrientes. Nestes substratos, os teores de K atingiram valores aproximadamente 30 vezes superiores aos observados nos substratos sem esterco. A porcentagem de sobrevivência, e o crescimento, medido pela altura e diâmetro do caule, e produção de matéria seca da parte aérea de mangabeiras, foram maiores nos substratos A e A +TP. A adição de esterco aos substratos resultou em incremento dos teores de K e redução nos teores de Ca, Mg e Mn na parte aérea das plantas. Este estudo mostrou que a adição de esterco bovino às covas de plantio de mangabeiras apresentou um efeito prejudicial na sobrevivência e no crescimento inicial desta frutífera.

Palavras-chave: mangaba, Apocinácea, Ca, K, Mg, Mn, fruto

Initial growth and establishment of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) trees in different substrates. This study was carried out in a coastal lowland area, at Aracaju-SE, Brazil, to evaluate the effect of four substrates on the establishment and initial growth of mangaba trees (*Hancornia speciosa* Gomes). Seedlings were planted in 0,4m x 0,4m x 0,3m holes, filled with substrates having the following percentual composition, in a volume base: 100% sand (A), 80% sand + 20% “terra-preta” (A + TP), a sandy loam material from a Vertissol, 80% sand + 20% cattle manure (A + E), 60% sand + 20% terra-preta + 20% cattle manure (A + TP + E). The substrates A + E and A+TP+E showed the highest pH, electric conductivity and nutrient availability. In these substrates, K concentration was 30 times higher than that one of the substrates without cattle manure. The highest survival rate, and seedling growth measured by shoot dry matter, and, based on height and stem diameter, was observed in the A and A + TP substrates. When cattle manure was added to the holes the concentration of K in the shoot increased, while Ca, Mg and Mn concentrations decreased. This study showed that cattle manure causes severe damages to the establishment and initial growth of mangaba trees.

Key words: mangaba, Apocinaceae, Ca, K, Mg, Mn, seedling

Introdução

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é uma planta frutífera, lactescente e de porte arbóreo, chegando a atingir de 5 a 10 m de altura. É nativa do Brasil, sendo encontrada vegetando espontaneamente nos tabuleiros costeiros e baixadas litorâneas do Nordeste, onde é muito abundante, e em áreas de cerrado das regiões Sudeste e Centro-oeste do País (Parente et al., 1985; Gonzaga Neto et al., 1987).

Em Sergipe, a mangabeira é encontrada desde a faixa litorânea até o agreste (Franco, 1983), ocupando principalmente os solos do tipo Latossolos Amarelos, Argissolos Amarelos, Espodossolos e Neossolos (Embrapa, 1999). Atualmente, a especulação imobiliária e a implantação de monoculturas, a exemplo dos coqueirais, canaviais e pastagens, são as principais causas da redução da vegetação nativa e, consequentemente, do número de mangabeiras. Apesar disto, em algumas áreas, mangabeiras são preservadas após a erradicação da vegetação original, sendo encontradas em capoeiras, pastagens e entre a vegetação cultivada, onde são exploradas de forma extrativista, vindo daí a maior parte dos frutos comercializados (Vieira Neto, 1993).

O seu fruto, a mangaba, é utilizado principalmente na fabricação de sucos e sorvetes, sendo dos mais apreciados e consumidos nas regiões onde há disponibilidade. Atualmente, em função da grande demanda dos frutos, observa-se um interesse crescente pelo cultivo dessa frutífera. Porém, a falta de conhecimentos agronômicos é o principal responsável pela inexistência de plantios em escala comercial. Dentre outros aspectos, tem-se verificado freqüentemente que há dificuldades na instalação de plantios racionais, devido à reduzida sobrevivência de plantas e ao baixo crescimento inicial, quando estas são levadas para o campo.

O presente trabalho teve como objetivo estudar tipos de substratos para preenchimento de covas de plantio, verificando de que forma estes podem influenciar na sobrevivência e desenvolvimento inicial de mangabeiras.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido na sede do Centro de Pesquisa Agropecuária dos Tabuleiros Costeiros (CPATC-Embrapa), em Aracaju-SE, em um solo da classe dos Neossolos. A região apresenta clima quente e úmido, com 1 a 2 meses secos, precipitações médias anuais superiores a 1400 mm e temperaturas médias anuais compensadas de 25 a 26°C (UFS/SEPLAN, 1979).

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos

ao acaso, com quatro tratamentos e cinco repetições, sendo cada parcela experimental composta por três plantas. As mangabeiras foram plantadas em condições de campo em covas preenchidas por substratos com as seguintes composições percentuais, em volume, que constituíram os tratamentos: 100% areia (A), 80% areia + 20% terra-preta (A+TP), 80% areia + 20% esterco bovino (A+E) e 60% areia + 20% esterco + 20% terra-preta (A+E+TP).

O componente denominado areia corresponde ao solo da região de plantio, do tipo Areias Quartzosas. A terra preta é um material franco arenoso, encontrado na camada superficial dos Vertissois, sendo muito utilizado na produção de mudas frutíferas e ornamentais. O esterco utilizado foi de origem bovina e apresentava-se bem curtido. Os resultados das análises química e textural destes materiais encontram-se na Tabela 1.

As covas de plantio tiveram dimensões de 0,3 m x 0,4 m x 0,4 m (0,048 m³). Estas foram abertas com enxada, utilizando-se gabaritos de madeira para uniformizar as dimensões. Após abertas, foram preenchidas com os devidos substratos, previamente misturados. Os resultados das análises químicas de cada substrato encontram-se na Tabela 2.

As mudas de mangabeira, do tipo pé franco, feitas a partir de sementes colhidas em diferentes plantas matrizes, foram produzidas em sacos de polietileno preto, com as dimensões de 12 cm x 16 cm, preenchidos com substrato contendo 70% de areia e 30% de terra preta, com base em volume, de acordo com recomendações de Vieira Neto (1994). O transplantio das mudas para as covas com diferentes substratos ocorreu quando estas apresentavam seis meses de idade e aproximadamente 0,20 m de altura.

No período seco, a área foi irrigada através de sistema por aspersão. As limpas foram feitas por meio de capinas manuais, realizadas mensalmente.

Avaliações da altura, diâmetro do caule e sobrevivência das mangabeiras foram realizadas aos 26, 60, 107, 145 e 205 dias após o transplantio. Após 210 dias, as partes aéreas das plantas vivas de cada parcela foram cortadas a 2 cm do coletor, secadas em estufa a 65°C, até peso constante, e pesadas. A massa obtida em cada parcela foi dividida pelo número de plantas vivas, de forma a expressar a produção de parte aérea, em g de matéria seca, por planta. Durante a abertura das covas para a coleta do sistema radicular, avaliou-se, visualmente, se as raízes estavam restritas ao volume da cova ou se cresceram além deste.

Para determinação dos teores de nutrientes, as partes aéreas foram trituradas em moinho e passadas por peneira de malha de 0,25 mm. Amostras destes materiais foram submetidos à digestão sulfúrica para determinação do N e à digestão nítrico-perclórica para determinação de P,

Tabela 1 - Análises química e textural dos materiais utilizados para composição dos diferentes substratos para plantio de mangabeiras (Aracaju, 1997).

	Areia	Terra - preta	Esterco
pH em água (1:2,5)	6,40	4,10	8,80
C orgânico (g/dm ³) ^{1/}	0,89	1,91	9,60
P disponível (mg/dm ³) ^{2/}	34,50	1,30	799,70
Al ³⁺ (cmol _c /dm ³) ^{3/}	0,00	1,60	0,00
K ⁺ (cmol _c /dm ³) ^{4/}	0,10	0,07	10,13
Na ⁺ (cmol _c /dm ³) ^{4/}	0,10	0,21	1,51
Ca ²⁺ (cmol _c /dm ³) ^{5/}	1,20	0,70	6,10
Mg ²⁺ (cmol _c /dm ³) ^{5/}	0,70	0,50	1,90
Condutividade elétrica (mmhos cm ⁻¹) ^{6/}	0,90	0,70	11,70
Areia (%) ^{7/}	95	60	nd
Silte (%) ^{7/}	3	26	nd
Argila (%) ^{7/}	2	14	nd
Classificação textural	Areia	Franco arenoso	nd

^{1/}Método de Walkley-Black (Jackson, 1958);

^{2/}Extrator Mehlich-1 (Braga e Defelipo, 1974);

^{3/}Extrator KCl 1M, titulometria (Embrapa, 1979);

^{4/}Extrator Mehlich-1, fotometria de chama (Embrapa, 1979);

^{5/}Extrator de Mehlich-1, espectrofotometria de absorção atômica, (Embrapa, 1979);

^{6/}CE medida do extrato de saturação do solo, (USDA, 1954);

^{7/}Método da pipeta (Embrapa, 1979).

K, S, Ca, Mg, Mn, Zn e Cu, de acordo com metodologias citadas no rodapé da Tabela 3.

Os teores de nutrientes nas plantas e nos substratos e de matéria seca vegetal foram submetidos à análise de variância e ao teste de Duncan, a 5% de probabilidade. Equações que descrevem o crescimento, em termos de altura e diâmetro do caule, e a sobrevivência das mangabeiras foram determinadas para cada um dos substratos, após análise de variância. Análises de correlação dos dados de teores de nutrientes na parte aérea foram realizadas para verificar a existência de efeitos antagônicos entre estes.

Resultados e Discussão

Caracterização dos substratos:

Os substratos com esterco apresentaram teores mais elevados de todos os nutrientes, com exceção do cobre, comparativamente aos que não receberam esse material (Tabela 2). A variável mais alterada pela adição do esterco foi o teor de K dos substratos, que foi aproximadamente 30 vezes maior em A+E e A+TP+E do que em A e A+TP (Tabela 2).

Proporcionalmente à capacidade de troca catiônica, o K saturou aproximadamente 40% das cargas do substrato A+E, e aproximadamente 33% das do substrato A+TP+E (Figura 1). Estas porcentagens de saturação por K foram muito superiores às encontradas em A+TP e A, que foram de 2% e 3%, respectivamente. Embora

Tabela 2 - Análises químicas das misturas utilizadas como substratos para plantio de mangabeiras cultivadas em substratos com as seguintes composições percentuais, em volume: 100% areia (A), 80% areia + 20% terra-preta (A+TP), 80% areia + 20% esterco bovino (A+E) e 60% areia + 20% terra-preta + 20% esterco (A+E+TP), aos 210 dias após o transplante (Aracaju, 1997).

Substrato	pH em água (1:2,5)	C.E. ⁽¹⁾ (mmhos cm ⁻¹)	Matéria orgânica ⁽²⁾	P disponível (mg/dm ³)	K ⁽⁴⁾	Na ⁺ ⁽⁴⁾	Ca ²⁺ ⁽⁵⁾ (cmol _c /dm ³)	Mg ²⁺ ⁽⁵⁾ (cmol _c /dm ³)	Al ³⁺ ⁽⁶⁾ (cmol _c /dm ³)	Al ³⁺ +H ⁺ ⁽⁷⁾ (cmol _c /dm ³)	CTC ⁽⁸⁾ (mg/dm ³)	Mn ⁽⁵⁾ (mg/dm ³)	Zn ⁽⁵⁾ (mg/dm ³)	Cu ⁽⁵⁾ (mg/dm ³)
A	6,4 b	0,9 b	0,89 b	34,5 c	0,1 b	0,1 b	1,2 c	0,7 b	0,0	1,1 b	3,2 c	7,0 c	1,7 b	0,7 a
A+TP	5,1 c	1,0 b	1,10 a	19,2 d	0,1 b	0,1 b	1,3 c	0,6 b	0,1	2,0 a	4,2 c	5,8 c	1,6 b	0,9 a
A+E	7,4 a	9,3 a	1,13 a	109,9 a	3,0 a	0,3 a	2,2 b	1,4 a	0,0	0,5 c	7,4 b	21,2 b	3,8 a	0,7 a
A+TP+E	6,9 b	8,1 a	1,15 a	91,7 b	3,1 a	0,3 a	3,1 a	1,2 a	0,0	1,7 a	9,4 a	27,1 a	3,8 a	0,9 a
CV (%)	6,46	6,70	3,13	3,64	5,96	11,18	5,66	18,14		9,23	6,08	3,37	5,58	13,55

^{1/}Condutividade elétrica no extrato de saturação dos substratos (USDA, 1954);

^{2/}Método de Walkley-Black (Jackson, 1958);

^{3/}Extrator Mehlich-1 (Braga e Defelipo, 1974);

^{4/}Extrator KCl 1M, Fotometria de chama (Embrapa, 1979);

^{5/}Extrator Mehlich-1, Espectrofotometria de absorção atômica (Embrapa, 1979);

^{6/}Extrator KCl 1M, Titulometria, (Embrapa, 1979);

^{7/}Extrator acetato de cálcio 1N (pH 7,0), Titulometria (Embrapa, 1979);

^{8/}Somatório dos valores K, Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺, Al³⁺ e H⁺.

Tabela 3 - Teores dos nutrientes na parte aérea (folhas, ramos e caule) de mangabeiras cultivadas em substratos com as seguintes composições percentuais, em volume: 100% areia (A), 80% areia + 20% terra-preta (A+TP), 80% areia + 20% esterco bovino (A+E) e 60% areia + 20% terra-preta + 20% esterco (A+TP+E), aos 210 dias após o transplante para as covas (Aracaju, 1997).

Substrato	N ^{1/}	P ^{2/}	K ^{3/}	Na ^{3/}	Ca ^{4/}	Mg ^{4/}	S ^{5/}	Mn ^{4/}	Zn ^{4/}	B ^{6/}	Fe ^{4/}	Cu ^{4/}
	mg/dm ³											
A	1,51a	0,20a	0,39b	0,32a	0,49a	0,20a	0,21a	61,90b	40,13a	13,36a	113,93a	8,04a
A+TP	1,39a	0,21a	0,44b	0,26a	0,46a	0,20a	0,19a	104,00a	35,08a	13,67a	125,25a	8,05a
A+E	1,69a	0,32a	1,22a	0,35a	0,37b	0,14b	0,19a	11,87c	58,87a	16,42a	178,92a	7,50a
A+TP+E	1,74a	0,20a	1,08a	0,31a	0,34b	0,12b	0,21a	13,25c	25,99a	15,92a	182,61a	7,04a
CV(%)	20,5	39,12	31,31	35,84	15,72	16,95	21,63	42,84	54,71	16,22	55,08	21,95

^{1/}Método semi-micro Kjeldhal (Malavolta et al., 1989);

^{2/}Colorimetria do complexo fosfo-molibdico (Braga e Defelipo, 1974);

^{3/}Fotometria de emissão de chama (Embrapa, 1979);

^{4/}Espectrofotometria de absorção atômica (Embrapa, 1979);

^{5/}Turbidimetria do sulfato de bário (Malavolta et al., 1989);

^{6/}Colorimetria da Azometina H (Malavolta et al., 1989)

*Médias seguidas por uma mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade

os teores de Ca e Mg nos substratos tenham sido aumentados aproximadamente 2 vezes em resposta à adição de esterco (Tabela 2), a saturação porcentual da CTC por estes cátions não foi alterada. Comparando-se os substratos A com A+TP ou A+E com A+TP+E, observou-se que a adição da terra preta, que é um material de expressiva acidez (Tabela 1), aumentou a concentração de H e, consequentemente, reduziu a porcentagem de saturação por bases dos substratos (Figura 1).

Os teores elevados de P na areia quartzosa são resultantes de adubações fosfatadas realizadas anteriormente na área. Em virtude das altas concentrações de P no esterco (Tabela 1), os teores deste nutriente nos substratos A+E e A+TP+E foram 3,2 e 2,7 vezes superiores aos observados na areia quartzosa (Tabela 2). Ao contrário, a adição de terra preta, que apresenta baixos teores de P, reduziu os teores deste nutriente, nos substratos.

O pH da areia quartzosa foi incrementado pela adição de esterco e reduzido pela adição de terra preta. No entanto, no substrato A+TP+E, a adição de ambos os materiais resultou em estabilização do pH em valor próximo àquele originalmente obtido para a areia (Tabela 2).

As elevadas concentrações de sais

nutrientes no esterco resultaram em um incremento considerável da condutividade elétrica (CE) dos substratos aos quais este resíduo foi adicionado (Tabela 2). Considerando-se o pH, a CE e a porcentagem de saturação da CTC pelo Na (PST), os substratos A+E e A+TP+E classificam-se, de acordo com USDA (1954), como salinos, ao passo que A e A+TP são classificados como normais.

Os teores de matéria orgânica foram muito baixos em todos os substratos, sendo o menor valor observado na areia (Tabela 2).

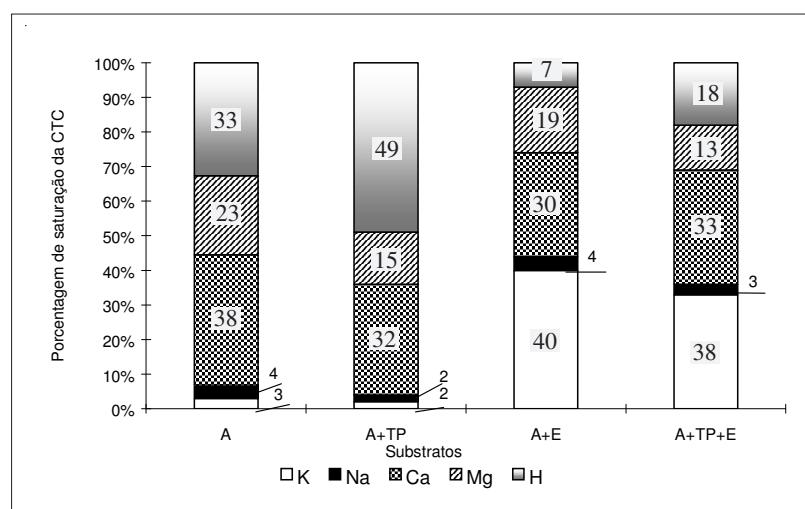


Figura 1 - Comparações entre as porcentagens de saturação da CTC por diferentes cátions nos substratos. As frações da CTC ocupada pelo Al nos diferentes substratos foram desprezíveis (<0,5%), não sendo, por isto, representadas no gráfico.

Com relação aos micronutrientes, os teores de Mn e Zn dos substratos com esterco foram significativamente maiores do que daqueles sem esterco. Para o Mn este incremento foi de 3,8 vezes, e o do Zn, de 2,3 vezes (Tabela 2).

Crescimento, sobrevivência e condição nutricional das plantas:

O crescimento das plantas em termos de altura e diâmetro do caule foi descrito por equações lineares, em todos os substratos avaliados. Este crescimento, no entanto, foi mais acentuado nos substratos que não receberam esterco (Figuras 2 e 3). Comparando-se os coeficientes angular dos substratos A+TP, A+E e A+TP+E com o de A, observa-se que a adição de terra-preta, esterco e de ambos, resulta em variações na taxa de crescimento em altura de +16%, -33% e -20%, respectivamente. Para a taxa de crescimento em diâmetro, a adição destes materiais resulta em variações de +12%, -55% e -55%, respectivamente, em relação à areia pura. Assim, pode-se inferir que, para estas duas variáveis, a adição de terra-preta isoladamente favoreceu o crescimento das plantas, ao passo que, a adição de esterco apresentou efeitos prejudiciais sobre este.

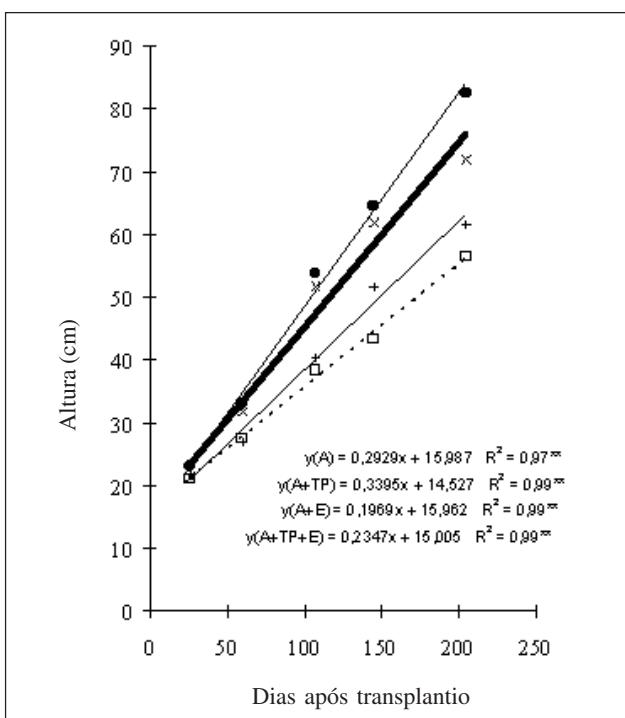


Figura 2 - Crescimento de mangabeiras, em altura do caule, quando cultivadas em substratos com as seguintes composições percentuais, em volume: 100% areia (A, x), 80% areia + 20% terra-preta (A+TP, ●), 80% areia + 20% esterco bovino (A+E, •) e 60% areia + 20% terra-preta + 20% esterco (A+E+TP, +). CV = 11,0%.

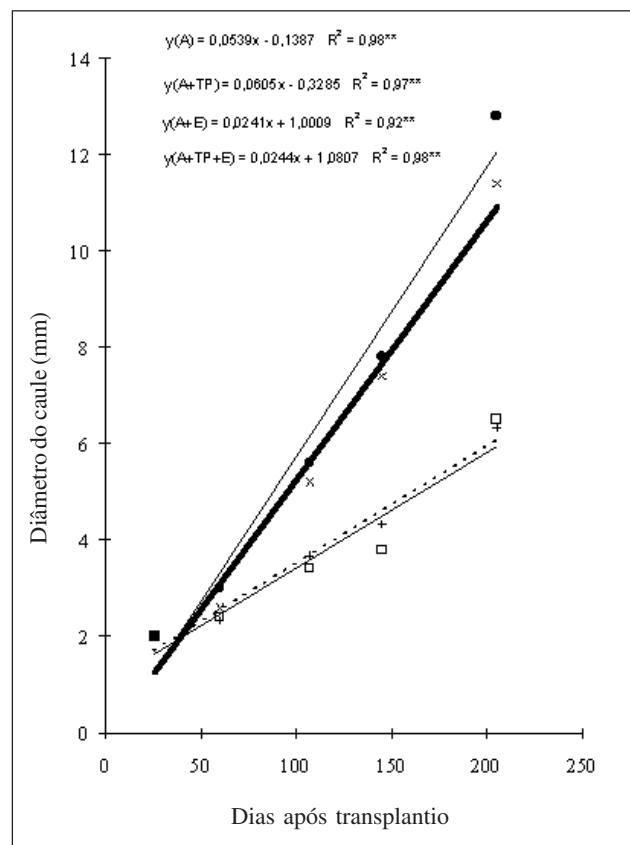


Figura 3 - Crescimento de mangabeiras, em diâmetro do caule, cultivadas em substratos com as seguintes composições percentuais, em volume: 100% areia (A, x), 80% areia + 20% terra-preta (A+TP, ●), 80% areia + 20% esterco bovino (A+E, •) e 60% areia + 20% terra-preta + 20% esterco (A+E+TP, +). CV = 25,3%.

A sobrevivência das plantas também foi superior em substratos sem esterco, sendo que nenhum decréscimo significativo no número de plantas vivas foi observado no período avaliado nesses substratos (Figura 4). No substrato A+E foi observada a maior mortandade, já que apenas 33% das mangabeiras inicialmente transplantadas encontravam-se viáveis ao final de 210 dias (Figura 4).

Quanto à produção de matéria seca da parte aérea, observou-se uma superioridade dos tratamentos sem esterco comparativamente aos com esterco, da mesma forma que para as variáveis anteriores (Figura 5). Os resultados deste estudo estão em concordância com os obtidos por Vieira Neto (1996) que, estudando o efeito de diferentes substratos na formação de mudas de mangabeira em viveiro, observou que as plântulas obtiveram um melhor desenvolvimento nos substratos onde houve a predominância de areia quartzosa e terra preta. Efeito oposto verificou-se em substratos contendo esterco.

O desequilíbrio nutricional provocado pelo excesso de K foi uma das prováveis causas do menor crescimento

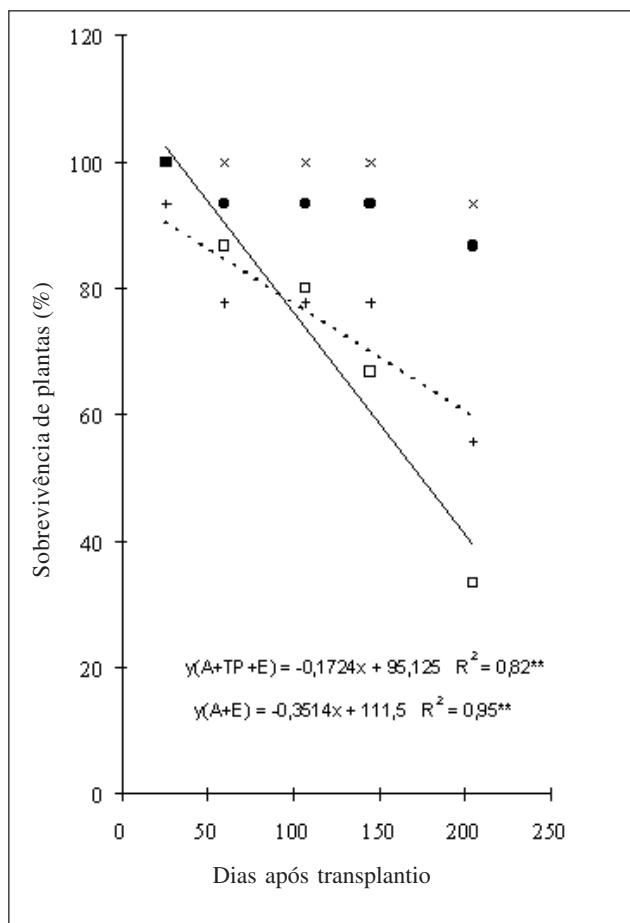


Figura 4 - Porcentagem de sobrevivência de mangabeiras cultivadas diferentes substratos: 100% areia (A, x), 80% areia + 20% terra-preta (A+TP, ●), 80% areia + 20% esterco bovino (A +E, ○) e 60% areia + 20% terra-preta + 20% esterco (A+E+TP, +). Variações na porcentagem de sobrevivência de mangabeiras cultivadas nos substratos compostos por 100% areia (A, x) ou 80% areia + 20% terra-preta (A+T, ●) não foram significativas. Demais informações: ver legenda da Figura 2. CV = 20,7%.

e sobrevivência das mangabeiras em substratos contendo esterco.

A grande disponibilidade de K em A+E e A+TP+E resultou em maiores teores deste nutriente na parte aérea das plantas cultivadas nesses substratos, comparativamente às crescidas em A e A+TP. No entanto, este mesmo comportamento não foi observado com relação a Ca, Mg e Mn, que, apesar de terem apresentado maior disponibilidade nos substratos com esterco, foram encontrados em maiores teores na parte aérea das plantas cultivadas em substratos sem esterco (Quadro 3).

Observou-se que os coeficientes de correlação (r) entre os teores de K com os de Ca, Mg, e Mn na parte aérea das plantas foram significativos e negativos (Figura 6), o que indica a existência de um efeito

antagonístico entre a absorção do K e a destes cátions pelas mangabeiras. Diversos relatos de efeitos negativos do excesso de K no solo sobre os teores de Ca (Shear, 1975; Bould e Tsai-Fua, 1976), Mg (Fonseca e Meurer, 1997) e Mn (Bergmann, 1992) na parte aérea já foram descritos anteriormente. Estes efeitos podem ser consequência da inibição da absorção de um cátion pela raiz ou da translocação deste para a parte aérea em função do excesso de outro cátion. De acordo com Shear (1975) e Bould e Tsai-Fua (1976), altas concentrações de K influenciam negativamente a mobilidade do Ca^{++} não apenas no solo, mas também no interior da planta, interferindo na distribuição e contribuindo para a deficiência deste nutriente. Fonseca e Meurer (1997) relatam que altas doses de K inibem a absorção de Mg em milho por afetar a cinética de absorção.

Verificou-se visualmente, por ocasião da retirada do sistema radicular, que as raízes apresentavam aprofundamento sensivelmente maior nos substratos sem

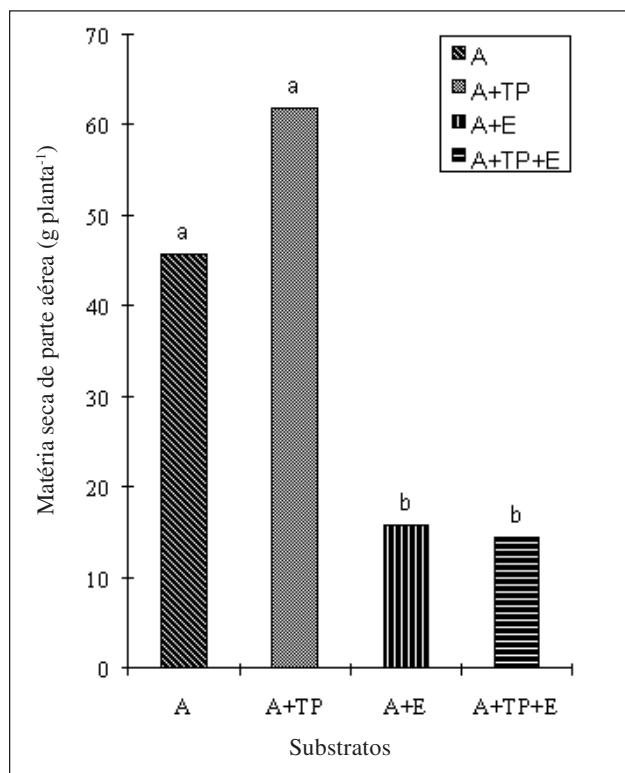


Figura 5 - Produção de matéria seca de parte aérea de mangabeiras cultivadas em substratos com as seguintes composições percentuais, em volume: 100% areia (A), 80% areia + 20% terra-preta (A+TP), 80% areia + 20% esterco bovino (A+E) e 60% areia + 20% terra-preta + 20% esterco (A+E+TP) crescidas em diferentes substratos, após 210 dias do transplantio para o campo. Barras sobrepostas por uma mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade. CV = 45,1%.

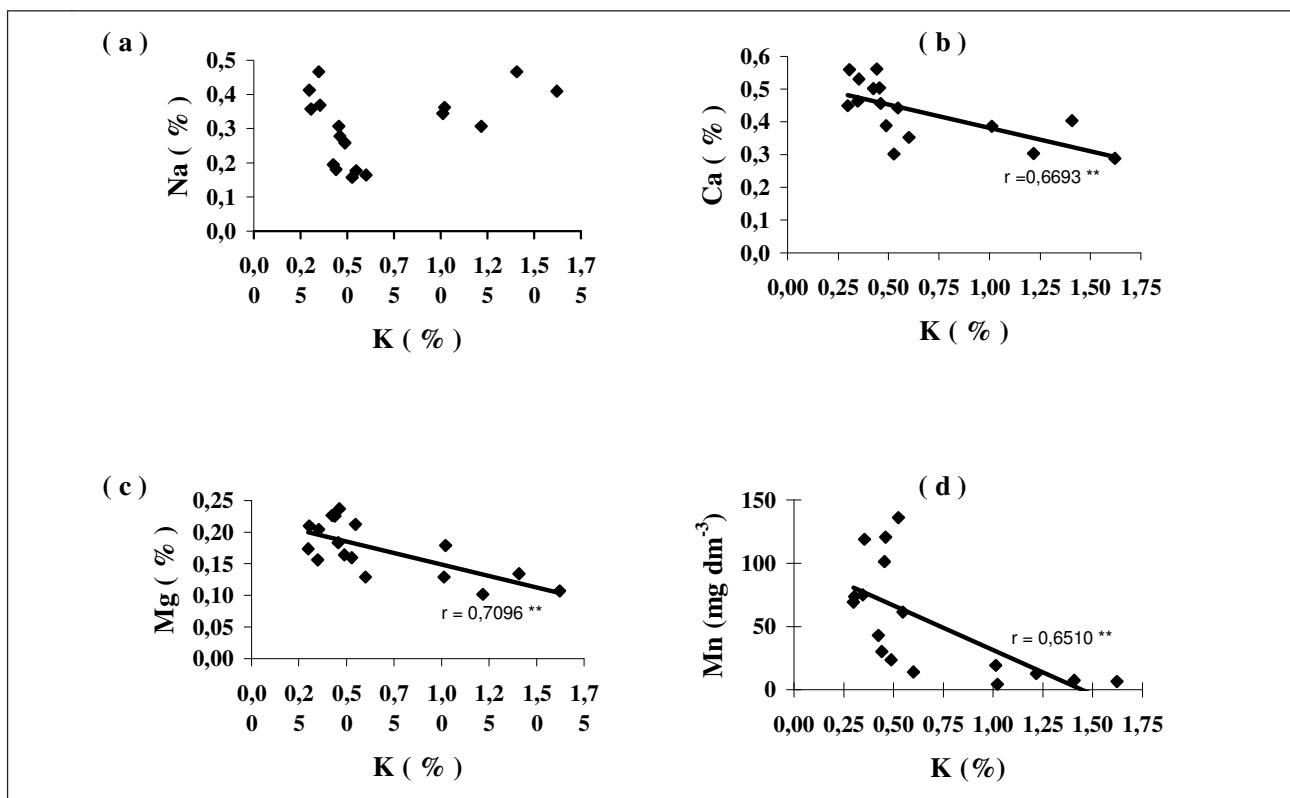


Figura 6 - Correlações dos teores de potássio com os de sódio (a), cálcio (b), magnésio (c) e manganês (d) na parte aérea de plantas de mangaba aos 210 dias após o transplante para as covas.

esterco. Nos substratos A+E e A+TP+E, invariavelmente, o sistema radicular foi pouco desenvolvido, não ultrapassando o volume da cova e apresentando grande número de raízes apodrecidas. Este reduzido aprofundamento das raízes pode estar relacionado aos menores teores de Ca e Mn observados na parte aérea das plantas crescidas em presença de esterco (Quadro 3), já que deficiências destes dois cátions nos tecidos vegetais têm sido relatadas como inibidoras do crescimento radicular de diferentes culturas (Smith, 1975; Bergmann, 1992).

As elevadas concentrações de nutrientes do esterco (Quadro 1) podem ter contribuído para o pior desempenho das plantas nos substratos contendo este material, já que sob condições de alta salinidade, o potencial osmótico da solução do solo é reduzido, dificultando a absorção de água pelas plantas. Nestes substratos, a soma de bases, as concentrações de fosfato e a CE foram, respectivamente, 3,5, 4 e 8,5 vezes maiores que nos substratos sem esterco (Quadro 2).

Além do desequilíbrio nutricional, observou-se que nos substratos contendo esterco houve maior retenção de água, o que pode ter favorecido a maior ocorrência de

doenças radiculares e, consequentemente, reduzido o crescimento e sobrevivência das mangabeiras.

Conclusões

1- Os substratos areia e areia + terra preta foram superiores aos substratos constituídos por areia + esterco e areia + terra preta + esterco, quanto ao crescimento e sobrevivência das plantas de mangabeiras, em condições de campo.

2- Os elevados teores de K nos substratos com esterco resultaram em reduções nos teores de Ca, Mg e Mn na parte aérea das mangabeiras.

3- O desbalanço nutricional e a alta salinidade, são fatores associados ao menor crescimento e à alta mortandade de mangabeiras, nos substratos que continham esterco na sua composição.

Agradecimento

Os autores agradecem ao Dr. Hélio Wilson Lemos de Carvalho pelo inestimável apoio proporcionado à instalação e condução do presente trabalho.

Literatura Citada

- BERGMANN, W. (ed). 1992. Nutritional disorders of plants - Development, visual and analytical diagnosis. New York, Gustav Fischer. 741p.
- BOULD, C.; TSAI-FUA, C. 1976. Mobility of calcium in fruit plants. *Gentics* 1:104-108.
- BRAGA, J.M.; DEFELIPO, B.V. 1974. Determinação espectro-fotométrica de fósforo em extratos de solo e material vegetal. *Revista Ceres (Brasil)* 21:73-85.
- CHENG, B.T.; OUELETTE, G.J. 1971. Manganese availability in soil. *Soils Fertility* 34:589-595.
- DOLL, E.C.; LUCAS, R.E. 1973. Testing soil for potassium, calcium and magnesium. *Soil Science Society of America Journal*. pp.133-151.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA . 1979. Manual de Métodos de Análise de Solo. Rio de Janeiro, Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. s.p.
- FONSECA, J.A.; MEURER, E.J. 1997. Inibição da absorção de magnésio pelo potássio em plântulas de milho em solução nutritiva. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 21:47-50.
- FRANCO, E. 1983. O cerrado. In: Franco, E. Biogeografia do Estado de Sergipe. Aracaju, UFS. pp.102-106.
- GONZAGA NETO, L.; LEDERMAN, I.E.; BEZERRA, J.E.F.; CANUTO, V.T.B. 1987. Estudo de conservação do poder germinativo de sementes de mangaba. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 9, Campinas. Anais. Campinas, SBF. pp.579-583.
- GRAHAM, R.D.; ROVIRA, A.D. 1984. A role for manganese in the resistance of wheat plants to "take-all". *Plant Soil* 78: 441-444.
- JACKSON, M.L. 1958. Organic matter determination for soil. In: Jackson, M.L., ed. *Soil Chemical Analysis*. New Jersey, Prentice-Hall. pp.205-226.
- JACOMINE, P.K.T. 1996. Distribuição geográfica, características e classificação dos solos dos tabuleiros costeiros. In: Reunião Técnica Sobre Solos Coesos Dos Tabuleiros Costeiros - Pesquisa e Desenvolvimento para os Tabuleiros Costeiros, 1996, Cruz das Almas, BA. Anais. Aracaju, EMBRAPA/CPATC-CNPMF - UFBA/EAUFBA-UGUFBA. pp.13-24.
- MORTVEDT, J.J. et al. 1961. The relation of soluble manganese to the incidence of common scab in potatoes. *American Potato Journal* 36: 95-100.
- PARENTE, T.V.; BORGO, L.A.; MACHADO, J.W.B. 1985. Características físico-químicas de frutos de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) do cerrado da região geoeconômica do Distrito Federal. *Ciência e Cultura (Brasil)* 37(1): 95-98.
- SHEAR, C.B. 1975. Calcium nutrition and quality in fruit crops. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 6:233-244.
- SMITH, P.F. 1975. Calcium requirements of *Citrus*. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 6:245-260.
- UNITED STATE DEPARTMENT OF AGRICULTURE. 1954. Salinity Laboratory Staff. Diagnosis and improvement of saline and alkaline soils. USDA. 160p. (Agriculture Handbook, 60).
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE. SECRETARIA DO PLANEJAMENTO DO ESTADO DE SERGIPE. 1979. *Atlas de Sergipe*. Aracaju. 95p.
- VIEIRA NETO, R.D. 1993. Mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). In: Simpósio Nacional de Recursos Genéticos de Fruteiras Nativas, 1992. Cruz das Almas, BA. Anais. Cruz das Almas, EMBRAPA-CNPMF. pp.109-116.
- VIEIRA NETO, R. D. 1994. Cultura da mangabeira. Aracaju, EMBRAPA-CPATC. Circular Técnica nº 2. 16p.
- VIEIRA NETO, R.D. 1996. Efeito de diferentes substratos na formação de mudas de mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes). In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 14, 1996. Curitiba, PR. Resumos. Curitiba, SBF. pp.318.

BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS E FUNGO MICORRÍZICO *Glomus clarum* EM MUDAS DE PUPUNHEIRA (*Bactris gasipaes* H.B.K)*

*Trabalho extraído da tese de Mestrado do primeiro autor, apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência do Solo da UFRRJ

André Ricardo Vieira de Carvalho, Eliane Maria R. de Souza, Vera Lúcia D. Baldani, Johanna Dobereiner

Embrapa Agrobiologia, Caixa Postal 74.505, 23851-970, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil.

A pupunheira é uma palmeira originária da Região Amazônica e da América Central, que vem despertando grande interesse de vários agricultores por produzir precocemente um palmito de excelente qualidade, além de apresentar bom perfilhamento em comparação com outras palmeiras produtoras de palmito. Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da inoculação de bactérias diazotróficas e do fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum* no desenvolvimento das mudas de pupunheira com 45 dias de idade. Foram avaliados a altura do colo até a inserção dos folíolos mais novos abertos e o diâmetro do colo aos 90 dias após a inoculação (DAI) de bactérias diazotróficas e/ou do fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum*, 180 DAI e 270 DAI, a área foliar, o peso da matéria seca de raízes e da parte aérea, bem como os conteúdos de nitrogênio e fósforo da parte aérea aos 270 DAI. O experimento foi instalado em casa de vegetação, sendo conduzido com 8 tratamentos com 10 repetições, em blocos completamente casualizados. Os tratamentos foram: (T 1) plântulas inoculadas com *G. clarum* e fertilizadas com 14 mg de nitrogênio a cada 25 dias na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; (T 2) plântulas fertilizadas com 14 mg de nitrogênio a cada 25 dias na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; (T 3) plântulas inoculadas com *Glomus clarum*; (T 4) plântulas inoculadas com uma mistura de estirpes padrões de bactérias diazotróficas *Azospirillum lipoferum* (sp 260), *Herbaspirillum seropedicae* (Z 67) e *Burkholderia* sp (M-130) e inoculadas com *G. clarum*; (T 5) plântulas inoculadas com uma mistura de 3 estirpes de bactérias diazotróficas isoladas de raízes de pupunheira e de dendzezeiro (2 estirpes da espécie *Herbaspirillum* e uma estirpe da espécie *Azospirillum brasiliense*) e inoculadas com o *G. clarum*; (T 6) tratamento 4 com ausência da inoculação do *G. clarum*; (T 7) tratamento 5 com ausência da inoculação com o *G. clarum* e o (T 8) testemunha sem fertilização nitrogenada sem a inoculação de bactérias diazotróficas e do *G. clarum*. As plantas inoculadas com *G. clarum* e que receberam o N-mineral apresentaram maior altura aos 180 e 270 (DAI), além de maior peso da matéria seca da parte aérea, área foliar e maior conteúdo de N, P e K na parte aérea aos 270 DAI. A inoculação individual de bactérias diazotróficas padrões ou isolados de palmeiras com ausência da inoculação de *G. clarum* ou inoculadas conjuntamente com o *G. clarum* contribuiu para uma maior altura das plantas apenas aos 180 DAI em relação a testemunha. Entretanto, este fato, não foi verificado aos 270 DAI. Isto se deve, provavelmente ao pequeno espaço físico do recipiente a ser explorado pelo sistema radicular, uma vez que as plantas estavam maiores. O fungo micorrízico arbuscular *G. clarum* apresentou uma baixa eficiência quando o N-mineral não foi fornecido as mudas de pupunheira. Certamente a pupunheira não conseguiu sustentar a simbiose com as bactérias diazotróficas (estirpes isoladas de palmeiras ou estirpes padrões de bactérias diazotróficas) e do *G. clarum* ou da inoculação individual de cada um desses microrganismos, pois a planta se encontrava com deficiência de um elemento importante no metabolismo de captação de energia (Fotossíntese), como é o caso do N (nitrogênio).

Palavras-chave: *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Burkholderia*, Nitrogênio, Fósforo, palmito.

Diazotrophic bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi in plantlets of peyjibae (*Bactris gasipaes* H.B.K.). Originated from the Amazon Region and from Central America, the Peyjibae palm (*Bactris gasipaes* H.B.K.) is of great potential importance for tropical agriculture. This palm can produce, within two or tree years, palm hearts with very good quality and taste, and unlike palm hearts from other species, they are not susceptible to oxidation. This work was done to evaluate the effect of the inoculation. In this paper the effect of the inoculation of Peyjibae palms with diazotrophic bacteria and an arbuscular mycorrhizal AM fungus, and the addition of nitrogen fertilizer, was studied. The height of the plantlets at 90, 180 and 270 days after inoculation besides the size of the leaf area, the dry weight of roots and leaflets as well as the nitrogen content and phosphate content in the shoot at 270 days, were evaluated as effect of diazotrophic bacteria and compared with nitrogen fertilizer application. The experiment was carried out in pots kept in a greenhouse with 8 treatments and 10 replicates in completely casualized blocks. The plants inoculated with *Glomus clarum* and supplied with mineral-N showed the highest size 180 and 270 days after planting. In addition the dry weight of the plants in the aerial part, leaf area and the highest N,P and K content in the aerial parts was observed 270 days after inoculation with type strains of diazotrophic bacteria, isolated from Peyjibae without *Glomus clarum* produced the highest size at 180 days in comparison with the control. However this fact was not observed after 270 days, probably due to the small sacks when the plants were much bigger. It was also observed that these plants response strongly to N-mineral in the case of plantlets. The plants when inoculated only with *Glomus clarum* or with diazotrophic bacteria never showed statistical differences, lower than the control. The *Glomus clarum* showed low comportment when N-mineral was not applied to the plants. The Peyjibae palm was unable to present an energetic support for the joined inoculation of diazotrophic type strains *Azospirillum lipoferum*, *Burkholderia brasiliensis* and *Herbaspirillum seropedicae* or diazotrophic bacteria isolates from palms, or with the *Glomus clarum* or inoculation of each microrganisms separate.

Key words: *Azospirillum*, *Herbaspirillum*, *Burkholderia*, Nitrogen, Phosphorus

Introdução

A Pupunheira (*Bactris gasipaes* H.B.K.) é uma palmeira originária da América Central e da Região Amazônica que pode produzir com 30 meses, até sete toneladas de palmito /ha⁻¹/ano⁻¹, de excelente palatabilidade e com baixa vulnerabilidade à oxidação, além de possuir um rápido perfilhamento, quando comparado com outras palmeiras que também produzem palmito. Além disto, o mesocarpo dos frutos da pupunheira é uma alternativa excelente para a alimentação de aves de postura, pois esta parte do fruto é rica em beta caroteno (Embrapa - Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1990).

O período de tempo que comprehende a passagem das plantas perenes pelo viveiro é tido como de fundamental importância. Assim, para que estas possam expressar bom desenvolvimento, precocidade, resistência a alguns fitopatógenos e uma produção satisfatória, é importante que sejam atendidas as suas necessidades fisiológicas e nutricionais neste período. Dentro deste enfoque, uma perspectiva a ser considerada na nutrição desta palmeira na fase de mudas em viveiro, está no uso de alternativas biotecnológicas como a inoculação conjunta de bactérias diazotróficas e fungos micorrízicos arbusculares (FMA). A importância da associação entre os FMA e bactérias diazotróficas se deve principalmente ao fato dos FMA propiciarem um aumento na absorção de fósforo pelas plantas, o que proporciona uma atividade mais eficiente da enzima nitrogenase das bactérias diazotróficas, que demanda uma quantidade significativa de ATP para a sua atividade, favorecendo assim a fixação biológica de nitrogênio (Barea & Azcon-Aguilar 1983; Ho, 1988). Além disto, a inoculação de FMA pode promover uma melhoria no estabelecimento e na colonização de bactérias diazotróficas no vegetal, como é relatado por Biancioti et al. (1996). A interação de plantas com FMA pode também contribuir para a melhoria na absorção de água e nutrientes, além de uma maior tolerância a estresses bióticos (Paula & Siqueira, 1987). Aumentos no crescimento vegetal também foram constatados, porém sem aumentos nos teores de N e P, quando as plantas foram inoculadas com bactérias diazotróficas e FMA (Barea et al. 1982). Estes resultados positivos podem ser atribuídos à produção e excreção de fitohormônios como auxinas, giberelinas e citocinina (Azcon et al. 1978).

Espécies de palmeiras, como a maioria das plantas superiores, formam associações das raízes com FMA (Janos, 1976 citado por Carvalho & Carpanezzi, 1982). A associação entre raízes de pupunheiras e FMA é relatada como benéfica, principalmente pela melhoria na absorção de fósforo (Sudo et al. 1996). Em levantamento feito na Estação Experimental de Paríquera-Açú (SP) em plantas

adultas de *Euterpe edulis*, *Euterpe oleracea*, de híbridos entre ambas e *Bactris gasipaes*, constatou-se também a ocorrência de FMA colonizando raízes destas palmeiras (Bovi et al. 1987). Quanto à associação de bactérias diazotróficas em pupunheira, são relatados, até o momento, ocorrência de *Azospirillum amazonense* no sistema radicular (Magalhães & Dobereiner, 1984) e de *A. amazonense*, *A. lipoferum* e *Burkholderia* sp. em raízes, colmo e frutos desta planta (Ferreira et al. 1995).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de bactérias diazotróficas e do FMA da espécie *Glomus clarum* no desenvolvimento e nutrição da pupunheira durante a fase de mudas.

Material e Métodos

O experimento foi realizado em casa de vegetação na Embrapa-Agrobiologia (Centro Nacional de Pesquisa em Agrobiologia), no período de maio de 1995 a fevereiro de 1996. As sementes pré-germinadas foram extraídas de pupunheiras adultas sem espinhos, procedentes da cidade de Santa Maria Madalena-RJ, sendo estas acondicionadas e transportadas em recipientes de plástico contendo vermiculita, com o objetivo de manter a umidade e a homogeneidade das plântulas. As sementes apresentavam a idade de 45 dias após o início da germinação. Estas sementes foram retiradas dos frutos, passaram por um rebaixamento de umidade, ficando posteriormente, armazenadas por um período de, pelo menos três meses. Para estas sementes germinarem, houve a necessidade de quebrar a dormência das mesmas por aquecimento em uma câmara, sobre uma temperatura uniforme de 39° C durante 80 dias consecutivos. Elas foram germinadas em bandejas contendo vermiculita umedecida. Antes da instalação do ensaio algumas plântulas foram utilizadas para a observação da ocorrência de bactérias diazotróficas pré existentes na raiz, parte aérea e endosperma, utilizando-se os meios LGI (Lipman, 1904), JNFb (Baldani et al. 1992); NFb (Tarrand et al. 1978) e JMV (Baldani, 1996).

O experimento constou de 8 tratamentos: (T1) plântulas inoculadas com *G. clarum* e fertilizadas com 14 mg de nitrogênio a cada 25 dias na forma de (NH₄)₂SO₄; (T2) plântulas fertilizadas com 14 mg de nitrogênio a cada 25 dias na forma de (NH₄)₂SO₄; (T3) plântulas inoculadas com *Glomus clarum*; (T4) plântulas inoculadas com a mistura de estirpes padrões de bactérias diazotróficas *Azospirillum lipoferum* (sp 260), *Herbaspirillum seropedicae* (Z 67) e *Burkholderia* sp (M-130) e inoculadas com *G. clarum*; (T5) plântulas inoculadas com uma mistura de 3 estirpes de bactérias diazotróficas isoladas de raízes de pupunheira e de

dezembro (2 estirpes da espécie *Herbaspirillum* e uma estirpe da espécie *Azospirillum brasiliense*) e inoculadas com o *G. clarum*; (T 6) tratamento 4 com ausência da inoculação do *G. clarum*; (T 7) tratamento 5 com ausência da inoculação com o *G. clarum* e o (T8) testemunha sem fertilização nitrogenada sem a inoculação de bactérias diazotróficas e do *G. clarum*. Foram conduzidas 12 repetições por tratamento em delineamento experimental de blocos completamente casualizados.

As sementes de pupunheira pré-germinadas, foram plantadas em substrato constituído de 500 g de horizonte B de solo Podzólico Vermelho Amarelo (Alfissol) por dm³ de substrato; 400 g de areia lavada por dm³ de substrato, 100 g de Fosfato de rocha Patos de Minas (24 % de P₂O₅ solúvel em ácido cítrico 2%, conforme indicação do fabricante) por dm³ de substrato e FTE-Br 12, dosado em 0,001 g por dm³ de substrato. Este substrato foi contido em vasos de polietileno, com capacidade para 3 litros. O substrato foi fumigado 3 vezes com brometo de metila (dosado em função do fabricante), com intervalos de uma semana, em tanque com capacidade para 1000 litros. Em seguida, esperou-se 10 dias para a utilização do mesmo.

A análise química do substrato pós fumigação apresentou os seguintes teores: Al: 0 mmol_c; Ca: 26 mmol_c; Mg: 13 mmol_c; P: 4,35 mg; K: 41 mg; N total: 60 mg e o pH: 6,3.

Nos tratamentos com *G. clarum*, procedeu-se a inoculação no momento do transplantio das sementes pré-germinadas para o substrato, adicionando-se 1ml de inóculo em suspensão com água estéril contendo aproximadamente 30 esporos, que foram aplicados sobre o sistema radicular das plântulas. Antes da inoculação com o *G. clarum*, foi feita a desinfestação dos esporos com hipoclorito de sódio 0,5% por 6 minutos (a utilização desta substância foi testado em trabalhos de Biancioti et al. (1996) e os resultados foram satisfatório do ponto de vista de descontaminação externa dos esporos por bactérias) e estreptomicina a 100 mg/l⁻¹ por 15 min, seguido de lavagem por três vezes em água destilada e esterilizada para detectar a ocorrência de bactérias diazotróficas pré existentes nos esporos. Assim grupos de 50 esporos desinfestados intactos, estourados e/ou não desinfestados foram transferidos para meios semi-sólidos semi-seletivos sem nitrogênio LGI, JNFb, JMV e NFb (Paula, 1992). As bactérias diazotróficas utilizadas, foram também colocadas sobre o sistema radicular, no momento do transplantio, utilizando-se 2 ml de cada estirpe contendo 10⁸ células/ml⁻¹. A utilização de uma inoculação tão elevada, é devido ao fato que muitas destas bactérias morrem no momento da inoculação. Assim colocando um inóculo maior ficam mais células vivas.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação

por até 270 DAI (Dias após a inoculação). A cada 90 dias mediu-se, com auxílio de um paquímetro, o diâmetro na região do colo e altura, tomada do colo até a inserção do folíolo mais novo aberto. No momento da colheita, foram separados 5 g da parte aérea e 5 g de raízes frescas de 3 plantas de cada tratamento, para quantificar e reisolar as bactérias diazotróficas, segundo a metodologia descrita por Dobereiner et al. (1995). Foram separadas também 0,4 g de raízes finas frescas que foram colocadas em álcool 50% para clarificação e obtenção da taxa de colonização. Nos tratamentos de inoculação com *G. clarum* as raízes finas (raízes menores que 1 mm de diâmetro) foram clarificadas e coradas obedecendo a metodologia de Grace & Stribley (1991). A porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas por fungos micorrízico arbusculares foi avaliada pelo método de intercessão em placa, descrito por Giovanetti & Mosse (1980), adaptado a partir do método de medida de comprimento de raízes de Newman (1966). A quantificação do número de esporos em cada vaso dos tratamentos que foram inoculados, ou não com o fungo micorrízico arbuscular foi feito retirando 50 ml de solo após a separação das raízes e homogeneização do solo (Gerdemann & Nicolson, 1963) e centrifugação em água e sacarose 45% (Jekins, 1964) e observação sob microscópio estereoscópico. Tanto para a quantificação do número populacional de bactérias diazotróficas, bem como do fungo micorrízico arbuscular da espécie *Glomus clarum* foram utilizadas 12 repetições.

Os dados foram analisados no programa estatístico MSTAT-C. A análise de variância utilizada foi a ANOVA 2. O teste de comparação de médias utilizado foi Tukey a nível de 5 % de probabilidade.

Resultados e Discussão

A altura das mudas de pupunheira aos 180 DAI com bactérias diazotróficas apresentaram-se superiores à testemunha sem a fertilização nitrogenada (Tabela 1). Aos 270 DAI, esse efeito não mais foi observado. Todos os tratamentos com bactérias diazotróficas, inoculadas ou não com o *G. clarum* (T 4, T 5, T 6 e T 7) e o T 3 foram estatisticamente iguais à testemunha, porém foi verificado um efeito da fertilização nitrogenada. Provavelmente a não resposta das plantas à inoculação pode ser atribuído ao elevado coeficiente de variação. Os tratamentos T1 (inoculado com *G. clarum* e com aplicação de N-mineral) e T 2 (apenas com N-mineral) apresentaram maior altura da parte aérea em relação à testemunha aos 270 DAI. Isto evidencia a grande importância do adequado suprimento de N-mineral para a pupunheira que é

Tabela 1 - Crescimento de mudas de pupunheira aos 180 e 270 dias após a inoculação (DAI) ou não com o fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum* e/ou com mistura de estirpes padrões ou isolados de bactérias diazotróficas¹.

Tratamentos	Altura aos 180 DAI (cm)	Altura aos 270 DAI (cm)	Peso da Parte aérea seca aos 270 DAI (g/planta)	Área Foliar aos 270 DAI (cm ² /planta)
T 1	4,752 a	12,16 a	4,34 a	544,81 a
T2	4,254 b	11,51 a	2,14 ab	440,58 a
T3	3,937 c	6,95 b	1,79 bc	222,82 b
T4	3,642 e	6,35 b	1,70 bc	196,26 bc
T5	3,824 cd	6,28 b	1,62 bcd	166,41 bc
T6	3,738 de	6,27 b	1,64 bcd	147,16 bc
T7	3,820 d	5,31 b	1,10 cd	114,03 bc
T8	3,095 f	4,21 b	0,56 d	79,71 c
CV (%)	3,81	26,74	31,98	45,83

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas (entre tratamentos), não diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste Tukey.

T1: Plântulas inoculadas com *G. clarum* e fertilizadas com 14 mg de nitrogênio a cada 25 dias na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$;

T 2: Plântulas fertilizadas com 14 mg de nitrogênio a cada 25 dias na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$;

T 3: Plântulas inoculadas com *Glomus clarum*;

T 4: Plântulas inoculadas com a mistura de estirpes padrões de bactérias diazotróficas *Azospirillum lipoferum* (sp 260), *Herbaspirillum seropediae* (Z 67) e *Burkholderia* sp (M-130) e inoculadas com *G. clarum*;

T 5: Plântulas inoculadas com uma mistura de 3 estirpes de bactérias diazotróficas isoladas de raízes de pupunheira e de dendezeiro (2 estirpes da espécie *Herbaspirillum* e uma estirpe da espécie *Azospirillum brasiliense*) e inoculadas com o *G. clarum*;

T 6: Tratamento 4 com ausência da inoculação do *G. clarum*;

T 7: Tratamento 5 com ausência da inoculação com o *G. clarum*;

T 8: Testemunha sem fertilização nitrogenada sem a inoculação de bactérias diazotróficas e do *G. clarum*.

extremamente exigente nesse nutriente, nesta fase de seu desenvolvimento. Semelhantes resultados também foram observados por Gomes & Alvim, (1995) e por Teixeira et al. (1995).

Um incremento da área foliar das mudas foi observado com os tratamentos T 1 ; T 2 e T 3 em relação a testemunha (Tabela 1). Por outro lado, para o parâmetro peso da parte aérea aos 270 DAI (Tabela 1) foi observado que o T 4 inoculado com as bactérias diazotróficas estirpes padrões Sp 260; M-130, Z 67 e com o *G. clarum* evidenciou um efeito positivo superior à testemunha. Resultados positivos atribuídos à inoculação de bactérias diazotróficas e de *G. clarum* no peso da matéria seca, também foram observados por Paula, (1992) em mudas de batata-doce. Este autor verificou que com a inoculação da batata- doce com *G. clarum* e *Glucanoacetobacter diazotrophicus* ou de *G. clarum* com a mistura de

Klebsiella sp e com *Glucanoacetobacter diazotrophicus*, as plantas apresentaram peso de matéria seca superior ao tratamento não inoculado. Schonbeck (1995), evidenciou que quando o *G. clarum* foi inoculado juntamente com *Glucanoacetobacter diazotrophicus* as plantas apresentaram peso de matéria seca superior ao tratamento não inoculado, fato este que pode estar relacionado com a liberação de fitormônios pelas bactérias diazotróficas, além do melhor “status” de fósforo na planta proporcionado pelo fungo micorrízico arbuscular (Azcon et al. 1987).

Todos os tratamentos apresentaram conteúdos de N, P e K na parte aérea iguais à testemunha (Tabela 2). As únicas exceções foram os tratamentos onde as plantas receberam a fertilização nitrogenada (T 1 e T 2). Somente a inoculação de bactérias diazotróficas em presença ou não ao *G. clarum*, não promoveu ganhos nos conteúdos de nitrogênio, fósforo e potássio, tanto nas raízes como também na parte aérea em relação a testemunha (Tabela 2). É provável que a planta não foi adequadamente nutrida de N pelas bactérias diazotróficas, pelo fato da pupunheira ser extremamente exigente em N nesta fase de seu desenvolvimento. Isto refletiu em uma menor capacidade da planta em manter fisiologicamente a simbiose planta-FMA, planta-bactéria diazotrófica ou planta-FMA-bactéria diazotrófica. Um fato interessante

observado também na tabela 2, foi que, apesar de não existir diferenças estatísticas, os tratamentos T 3 (plântulas inoculadas com *Glomus Clarum*); e o T 5 (plântulas inoculadas com uma mistura de 3 estirpes de bactérias diazotróficas isoladas de raízes de pupunheira e de dendezeiro e 2 estirpes da espécie *Herbaspirillum* e uma estirpe da espécie *Azospirillum brasiliense* e inoculadas com o *G. clarum*); proporcionaram um maior aproveitamento líquido de P (fósforo) de 195% e 107% respectivamente em relação a testemunha. Outro fato interessante é que o fungo micorrízico *G. clarum* contribuiu para uma melhoria do aproveitamento do N e K, além do P, por parte da pupunheira como foi dito anteriormente.

O sistema radicular da pupunheira apresenta uma predominância de raízes grossas, o que dificultou a avaliação da colonização micorrízica. Tal fato, também já foi observado por Sudo et al. (1996), em mudas de

Tabela 2 - Conteúdo total de nitrogênio, fósforo e potássio na parte aérea de mudas de pupunheira aos 270 dias após a inoculação (DAI) ou não com o fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum* e/ou com mistura de estirpes padrões ou isolados de bactérias diazotróficas¹.

Tratamentos	Conteúdo de Nitrogênio (mg/planta)	Conteúdo de Fósforo (mg/planta)	Conteúdo de Potássio (mg/planta)
T 1	63,76 a	13,56 a	92,95 a
T2	52,96 a	7,33 b	73,94 ab
T3	22,37 b	4,10 bc	45,64 bc
T4	15,41 b	1,75 c	21,26 c
T5	22,15 b	2,88 bc	35,07 bc
T6	13,85 b	2,05 c	22,82 c
T7	24,99 b	3,57 bc	37,39 bc
T8	5,65 b	1,39 c	6,21 c
CV (%)	53,87	78,57	70,88

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas (entre tratamentos), não diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste Tukey.

T1: Plântulas inoculadas com *G. clarum* e fertilizadas com 14 mg de nitrogênio a cada 25 dias na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$;
 T2: Plântulas fertilizadas com 14 mg de nitrogênio a cada 25 dias na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. T3: Plântulas inoculadas com *Glomus clarum*;
 T4: Plântulas inoculadas com a mistura de estirpes padrões de bactérias diazotróficas *Azospirillum lipoferum* (sp 260), *Herbaspirillum seropedicae* (Z 67) e *Burkholderia* sp (M-130) e inoculadas com *G. clarum*;
 T5: Plântulas inoculadas com uma mistura de 3 estirpes de bactérias diazotróficas isoladas de raízes de pupunheira e de dendzeiro (2 estirpes da espécie *Herbaspirillum* e uma estirpe da espécie *Azospirillum brasiliense*) e inoculadas com o *G. clarum*;
 T6: Tratamento 4 com ausência da inoculação do *G. clarum*;
 T7: Tratamento 5 com ausência da inoculação com o *G. clarum*;
 T8: Testemunha sem fertilização nitrogenada sem a inoculação de bactérias diazotróficas e do *G. clarum*.

pupunheira inoculadas com FMA. Mesmo com esta dificuldade, foi constatada colonização de raízes nos tratamentos inoculados *G. clarum* (Tabela 3). O *G. clarum* foi infectivo, haja vista a % de colonização e quantidades de esporos nos tratamentos inoculados com esta espécie e todos os tratamentos T 1; T 3; T 4 e T 5 não diferiram entre si, mas diferenciaram dos demais tratamentos. Outro fato foi que a colonização das raízes nos tratamentos inoculados com *G. clarum* apresentou semelhança estatística, mesmo quando esta espécie de fungo micorrízico era inoculada conjuntamente com bactérias diazotróficas (isolados de palmeiras ou isolados padrões). O fato da presença de diazotróficas manter a mesma população do *G. clarum* pode ser um bom indicativo que ambos podem viver em bom estado de simbiose com a planta hospedeira e entre si. Hipótese esta que é reforçada por Vancura et al. (1989). Estes

autores relataram que certos componentes da microbiota do solo, como as bactérias diazotróficas, podem interagir com FMA na rizosfera e até mesmo na hifosfera de forma harmoniosa. Por outro lado, não foi constatada a presença de bactérias diazotróficas nos esporos de *G. clarum* inoculados nos meios de cultivo utilizados (JNFb, LGI, JMV e NFb).

Quanto a população de bactérias diazotróficas nas raízes e na parte aérea das mudas de pupunheira, ao final do experimento, os resultados evidenciaram a presença destes microrganismos tanto nos tratamentos inoculados com as bactérias diazotróficas, como também nos tratamentos não inoculados com estas bactérias (Tabela 4). A verificação de bactérias diazotróficas nos

Tabela 3 - Porcentagem do comprimento de raízes finas colonizadas e número de esporos de *G. clarum* em 50 ml de solo de rizosfera, em mudas de pupunheira aos 270 dias após a inoculação (DAI) ou não com o fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum* e/ou com mistura de estirpes padrões ou isolados de bactérias diazotróficas¹.

Tratamentos	Colonização (%)	Esporos (nº de esporos por 50 ml de solo rizosférico) ²
T 1	13,60 a	92,24 a
T2	0,71 b	6,10 b
T3	14,03 a	118,42 a
T4	13,13 a	149,94 a
T5	14,26 a	122,97 a
T6	0,82 b	6,12 b
T7	0,00 b	7,36 b
T8	1,11 b	5,67 b
CV (%)	56,79	74,23

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas (entre tratamentos), não diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste Tukey.

²Os valores de colonização estão transformados pelo fator de conversão raiz quadrada de ($X+1$).

T1: Plântulas inoculadas com *G. clarum* e fertilizadas com 14 mg de nitrogênio a cada 25 dias na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$;
 T2: Plântulas fertilizadas com 14 mg de nitrogênio a cada 25 dias na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$;
 T3: Plântulas inoculadas com *Glomus clarum*;
 T4: Plântulas inoculadas com a mistura de estirpes padrões de bactérias diazotróficas *Azospirillum lipoferum* (sp 260), *Herbaspirillum seropedicae* (Z 67) e *Burkholderia* sp (M-130) e inoculadas com *G. clarum*;
 T5: Plântulas inoculadas com uma mistura de 3 estirpes de bactérias diazotróficas isoladas de raízes de pupunheira e de dendzeiro (2 estirpes da espécie *Herbaspirillum* e uma estirpe da espécie *Azospirillum brasiliense*) e inoculadas com o *G. clarum*;
 T6: Tratamento 4 com ausência da inoculação do *G. clarum*;
 T7: Tratamento 5 com ausência da inoculação com o *G. clarum*;
 T8: Testemunha sem fertilização nitrogenada sem a inoculação de bactérias diazotróficas e do *G. clarum*.

Tabela 4 - População total de bactérias diazotróficas nos meios JNFb; LGI; JMV e NFB (somatória de crescimento de película típica de bactérias diazotróficas em todos os respectivos meios) em raízes e parte aérea em mudas de pupunheira aos 270 dias após a inoculação (DAI) ou não com o fungo micorrízico arbuscular *Glomus clarum* e/ou com mistura de estirpes padrões ou isolados de bactérias diazotróficas¹.

Tratamentos	População de bactérias diazotróficas em raízes (Log de X)	Referencial do tamanho da população encontrada	População de bactérias diazotróficas em raízes (Log de X)	Referencial do tamanho da população encontrada
T 1	3,13 f	Média a baixa	0,00 c	-
T2	3,47 d	Média a baixa	0,00 c	-
T3	3,38 de	Média a baixa	0,00 c	-
T4	4,51 c	Média a alta	0,00 c	-
T5	5,54 a	Média a alta	5,17 a	Média a alta
T6	5,56 a	Média a alta	0,00 c	-
T7	4,97 b	Média a alta	0,00 c	-
T8	3,18 de	Média a baixa	2,42 b	Baixa
CV (%)	48,97	-	85,41	-

¹Médias seguidas pela mesma letra nas colunas (entre tratamentos), não diferem entre si ($p < 0,05$) pelo teste Tukey.

²Os valores de colonização estão transformados pelo fator de conversão raiz quadrada de ($X+1$).

T1: Plântulas inoculadas com *G. clarum* e fertilizadas com 14 mg de nitrogênio a cada 25 dias na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$;

T 2: Plântulas fertilizadas com 14 mg de nitrogênio a cada 25 dias na forma de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$;

T 3: Plântulas inoculadas com *Glomus clarum*;

T 4: Plântulas inoculadas com a mistura de estirpes padrões de bactérias diazotróficas *Azospirillum lipoferum* (sp 260), *Herbaspirillum seropedicae* (Z 67) e *Burkholderia* sp (M-130) e inoculadas com *G. clarum*;

T 5: Plântulas inoculadas com uma mistura de 3 estirpes de bactérias diazotróficas isoladas de raízes de pupunheira e de dendêzeiro (2 estirpes da espécie *Herbaspirillum* e uma estirpe da espécie *Azospirillum brasiliense*) e inoculadas com o *G. clarum*;

T 6: Tratamento 4 com ausência da inoculação do *G. clarum*;

T 7: Tratamento 5 com ausência da inoculação com o *G. clarum*;

T 8: Testemunha sem fertilização nitrogenada sem a inoculação de bactérias diazotróficas e do *G. clarum*.

tratamentos não inoculados com este microrganismo pode ser atribuído à presença de uma população de bactérias diazotróficas pré-existentes, tanto no endosperma das sementes, bem como nas raízes, como também na parte aérea das sementes pré germinadas utilizadas neste experimento. Provavelmente estas bactérias diazotróficas que se encontram estabelecidas no endosperma das sementes, colonizaram as raízes destas plântulas após a germinação, principalmente as bactérias de caráter endófitico como *H. seropedicae* e a *Burkholderia* sp conforme tem sido observado em sementes de arroz (Baldani, 1996). A maior população de bactérias diazotróficas foi detectada nas raízes de plantas dos tratamentos T 5 e T 6, enquanto que a menor população foi encontrada no T1. O fato de existir menor população no T 1, pode ser justificado pela presença do N-mineral no tratamento 1. Com relação à influência do N-mineral sobre as bactérias diazotróficas associativas muitos trabalhos são relatados principalmente com cana-de-açúcar, milho, arroz e forrageiras. Mc Clung (1980), mencionou que a interação simbótica de *Azospirillum*

brasiliense (estirpe Sp 7) e a população desta espécie de diazotrófica em raízes de milho foi inibida pelo fertilizante nitrogenado na forma de nitrato aplicado na cultura, bem como também pelo fertilizante nitrogenado na forma de amônio. A inibição da associação de *Azospirillum* aos pêlos radiculares pelo nitrato foi também confirmada por Umali-Garcia et al. (1980). Em trabalhos na cultura da cana-de-açúcar, Vose et al. (1981), demonstraram que níveis elevados de N-mineral causaram um decréscimo significativo na atividade da nitrogenase e na população das bactérias fixadoras de nitrogênio e provavelmente este efeito deve-se a já conhecida ação deletéria do N-mineral sobre esta enzima. Fuentes-Ramirez et al. (1993), sugeriram que a associação entre *Glucanacetobacter diazotrophicus* e cana-de-açúcar pode ser severamente limitada quando fertilizantes nitrogenado são aplicados em grande quantidade na cultura, podendo também este fator ser um dos responsáveis pela queda de redução da nitrogenase e sobre o número populacional das bactérias fixadoras de nitrogênio. Isto também pode explicar a baixa população de bactérias diazotróficas pré-existente também no T 2.

Quanto a existência da população de bactérias diazotróficas encontradas na parte aérea das mudas de pupunheira, este fato só foi constatado apenas no tratamento T 5 e na testemunha (T8). Nos demais tratamentos não foi verificado a presença destas bactérias. A presença de diazotróficas na testemunha, pode ser atribuída também a uma população pré-existente oriunda do endosperma das sementes (antes do plantio das sementes pré-germinadas no substrato, como foi mencionado no Material e Métodos, separou-se algumas sementes de cada tratamento, onde se verificou a presença de diazotróficas em todos tratamentos impostos) que com o passar do tempo do desenvolvimento da planta, estas passariam a colonizar as raízes e posteriormente a parte aérea. Quanto a presença de bactérias diazotróficas no tratamento 5, isto pode ser atribuído à presença da inoculação do FMA, apesar de não ter sido constatado a presença de bactérias diazotróficas nos esporos de *G. clarum*. Fato este que é compatível com os relatos de Bannucioto et al. (1996). Estes autores mencionaram que, a inoculação de FMA pode promover uma melhoria no estabelecimento e na colonização de bactérias diazotróficas no vegetal, principalmente na parte aérea. É importante também destacar que nos tratamentos que tinham o N-mineral (T 1 e T 2), a população de bactérias diazotróficas pré-existentes não foi verificada, o que pode ser devido ao efeito inibitório do N-mineral. Quanto aos tratamentos T4, T6 e T 7, o fato de não existir presença de bactérias diazotróficas nesta parte da planta, pode ser atribuído a algum fator de antagonismo entre a população pré-existente de bactérias diazotróficas e as bactérias diazotróficas que foram inoculadas.

Conclusões

1. A pupunheira respondeu positivamente a fertilização nitrogenada na fase de mudas
2. A inoculação isolada de bactérias diazotróficas e do *G. clarum* contribuiu para o aumento da altura das mudas de pupunheira até 180 DAI.
3. A inoculação individual de bactérias diazotróficas, ou inoculadas conjuntamente com o *G. clarum* não proporcionou efeitos positivos sobre o conteúdo de nutrientes nas mudas de pupunheira.
4. O desempenho do *G. clarum* como uma ferramenta biotecnológica, para a melhoria da nutrição fosfatada das mudas de pupunheira, só foi mais eficiente quando estas foram adequadamente supridas com nitrogênio.
5. Os isolados de palmeiras foram mais eficientes que os isolados padrões no aumento dos conteúdos de fósforo e potássio na parte aérea das mudas.

Agradecimentos

A bibliotecária Dorimar dos Santos Félix, pela normatização das Referências Bibliográficas. Ao CNPq pelo apoio financeiro e a Embrapa Agrobiologia pela realização deste trabalho.

Literatura Citada

- AZCON, R.; AZCON-AGUIAR C. BAREA, J.M. 1978. Effects on interactions of different culture fractions of phosphorobacteria and *Rhizobium* spp. on mycorrhizal infection growth and nodulation of *Medicago sativa*. Canadian Journal Microbiology 24: 520-524.
- BALDANI V.L.D.; BALDANI J.I.; DOBEREINER J. 1992. Identification and ecology of *Herbaspirillum rubrisubalbicans* and the closely related *Pseudomonas rubrisubalbicans*. Symbioses 13: 65-73.
- BALDANI, V.L.D. 1996. Efeito da inoculação de *Herbaspirillum* spp no processo de colonização e infecção de plantas de arroz e ocorrência e caracterização parcial de uma nova bactéria diazotrófica. Tese de Doutorado. Itaguaí-RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 234 p.
- BAREA, J.M.; BONIS, A.F.; OLIVARES, J. 1982. Interactions between *Azospirillum* and VA mycorrhiza and their effects on growth and nutrition of maize and ryegrass. Soil Biology Biochemistry 15: 705-709.
- BIANCIOTO, V. et. al. 1996. An Obligately Endosymbiotic Mycorrhizal Fungus It self Harbors Obligately Intracellular Bacteria. Washington, American Society for Microbiology. pp.3005-3010.
- BOVI, M.L.A., GODOY Jr. G.; SAES, L.A. 1987. Pesquisa com gêneros *Euterpe* e *Bactris* no Instituto Agronômico de Campinas. O Agronômico (Brasil) 39: 174.
- CARVALHO, P. E. R.; CARPANEZZI, A. A. 1982. Espécies florestais com associações simbióticas promissoras ou indicadas para o plantio no sul do Brasil. In: Seminário sobre Atualidades e Perspectivas Florestais e Microrganismos para o Aumento da Produtividade Econômica dos Reflorestamentos, Curitiba, 1982. Anais. Curitiba, EMBRAPA-UPFCS, Documentos 12. pp.53-65.
- DOBEREINER J.; BALDANI, V.L.D.; BALDANI, J.I. 1995. Como isolar e identificar bactérias fixadoras de nitrogênio em não leguminosas. Brasília, EMBRAPA-CNPB. 60p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA-CENTRO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA. 1990. Palmeiras nativas, da poesia para a economia. CENARGEN Informativo 5: 3.
- FERREIRA, A.C.; COZZOLINO, K.; CARVALHO, A.R.V.; DOBEREINER, J. 1995. Isolation and characterization of diazotrophic bacteria in oil palm trees. In International Symposium On Sustainable Agriculture For Tropics-the Role of Biological Nitrogen Fixation. 1995, Angra dos Reis. Proceedings. Rio de Janeiro, EMBRAPA-CNPB/UFRRJ. pp. 210-211.

- FUENTES-RAMIREZ, L. E. et al. 1993. *Acetobacter diazotrophicus*, an indoleacetic acid producing bacterium isolated from sugarcane cultivars of Mexico. *Plant & Soil* 154: 145-150.
- GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. 1963. Spores of mycorrhizal species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46: 235-246.
- GIOVANNETI, M.; MOSSE, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring VAM infection in roots. *New Phytopatologist* 84: 489-500.
- GOMES, F. P.; ALVIM, P.T. 1995. Exigências nutricionais da pupunheira em solos representantes do sudoeste da Bahia. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 25, Viçosa, 1995. Resumos. Viçosa, SBCS. v.2. pp.918-919.
- GRACE, C.; STRIBLEY, D.P. 1991. A safer procedure for routine staining of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycology* 95: 1160-1162.
- HO, I. 1988. Interactions between VA Mycorrhizal fungus and *Azotobacter* and their combined effects on growth of tall fescue. *Plant and soil* 105: 291-293.
- JANOS, D.P. 1980. Mycorrhizae influence tropical succession. *Biotrópica* 12: 83-95.
- JEKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Report* 48: 692.
- LIPMAN, J.G. 1904. Soil bacteriological studies. Further contributions to the physiology and morphology of members of the *Azotobacter* sp groups. New Jersey State Agriculture Experiment Station. Report 25: 237-289
- MAGALHÃES, F.M.M.; DOBEREINER, J. 1984. Ocorrência de *Azospirillum amazonense* em alguns ecossistemas da Amazônia. *Revista de Microbiologia* 15: 246-252.
- MC CLUNG, C.R. 1980. The effect of environmental factors on nitrogenase activity and root colonization by diazotrophic bacteria in non-nodulated angiosperms. M.Sc. Thesis. Canada, Dalhousie University.
- NEWMAN, E.J. 1966. A method of estimating the total length of root sample. *Journal of Ecology* 53: 139-145.
- PAULA, M.A.; SIQUEIRA, J.O. 1987. Efeito da umidade do solo sobre a simbiose endomycorrhízica em soja. II. Crescimento, nutrição e relação água-planta. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 11: 289-293.
- PAULA, M. A. 1992. Interação de fungos micorrízicos arbusculares e bactérias diazotróficas em batata doce. Tese de Doutorado. Itaguaí-RJ, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 168p.
- SCHONBECK, F. van. 1995. Fungi and their interactions with other microorganisms. New York, Springer Verlag. pp.189-196. (NATO-ASI, Ser. G. Ecology, 37).
- SUDO, A. et al. 1996. Produção de mudas de pupunheira colonizadas por fungos micorrízicos arbusculares. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 20: 529-532.
- TARRAND, J.J.; KRIEG, N.R.; DOBEREINER, J. 1978. A taxonomy study of the *Spirillum lipoferum* group with descriptions of new genes *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck), comb. nov. and *Azospirillum brasiliense*. *Journal of Microbiology* 24: 967-980.
- TEIXEIRA, N.T. et al. 1995. Extração de nutrientes no período de formação de mudas de Pupunha. In: Congresso Brasileiro de Ciência do Solo, 25, Viçosa, 1995. Resumos. Viçosa, SBCS. v.3. pp.1245-1246.
- UMALI-GARCIA, M. et al. 1980. Association of *Azospirillum* with grass roots. *Applied Environmental Microbiology* 39: 219-226.
- VANCURA, V. et al. 1989. Properties of bacteria in the hyphosphere of a vesicular arbuscular mycorrhizal fungus. *Agriculture Ecosystems and Environment* 29: 421-427.
- VOSE, P. B. et al. 1981. Potential N_2 -fixation by sugar cane, *Saccharum* sp, in solution culture-I. Effect of NH_4^+ vs. Nitrate, variety and nitrogen level. In: Vose, P.B., Ruschel, A. P. (eds). *Associative N_2 -fixation*. Boca Raton, CRC Press. v.2. pp.119-123.

INFLUÊNCIA DO BENOMYL E BENZILAMINOPURINA (BAP) SOBRE A PROLIFERAÇÃO *in vitro* DE ABACAXI

Anna Lygia de Rezende Maciel¹; Adriano Bortolotti da Silva¹; André Barreto Pereira²; Maria Aparecida Moreira¹ e Moacir Pasqual¹

¹Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Agricultura, Caixa Postal 37, 37200.000 - Lavras, Minas Gerais, Brasil. E-mail: lct@ufla.br; ²CEPLAC, Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), Seção de Fisiologia, 45600-970, Caixa Postal 07, Itabuna, Bahia, Brasil. E-mail: abpereira@cepec.gov.br

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do BAP e do benomyl na propagação *in vitro* de abacaxi (*Ananas comosus* L.). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 4, com 4 repetições e três tubos por parcela, cada um contendo um explante. As concentrações de BAP utilizadas foram 0; 1; 2 e 3 mg.L⁻¹ e as de benomyl 0, 50, 100, 200 e 400 mg.L⁻¹. As seguintes avaliações foram efetuadas: peso da matéria fresca e seca da parte aérea, número total de brotos, número de brotos maiores que 1,0 cm e número de raízes. Constatou-se que à medida que se eleva a concentração de BAP há correspondente aumento do número de brotos e peso da matéria fresca da parte aérea da planta. O maior número de raízes foi obtido com a dosagem de 50 mg.L⁻¹, de benomyl na ausência de BAP.

Palavras-chave: *Ananas comosus*, cultura de tecidos, reguladores de crescimento, avaliações.

Influence of Benomyl and Benzylaminopurine (BAP) on *in vitro* proliferation of pineapple buds. This work aiming to evaluate the effect of BAP and benomyl on *in vitro* propagation of *Ananas comosus* L. cv. Primavera. The experimental design was completely randomized in a 4 x 5 factorial scheme with 4 replications and 3 explants per plot. The BAP and benomyl concentrations used were 0, 1, 2 and 3 mg.L⁻¹ and 0, 50, 100, 200 and 400 mg.L⁻¹, respectively. After inoculation of the material under aseptic conditions in a MS medium supplemented according to the treatments, the test tubes were transferred to a growth room and kept at 27± 1°C temperature and 16 hours photoperiod. The evaluation was realized 120 days after the explants inoculation, covering the total number of shoots, number of shoots higher than 1,0 cm, fresh and dry weight of aerial part and number of roots. The increase of BAP concentration results a respective increase in number of buds. Benomyl do not have any effect on aerial part growth. More roots are obtained with benomyl 50 mg.L⁻¹ and BAP absent.

Key words: *Ananas comosus*, tissue culture, growth regulators, evaluations.

Introdução

A propagação do abacaxizeiro é feita vegetativamente, podendo-se utilizar diferentes partes da planta: coroa, filhote e rebentão. Esse processo vem ocasionando disseminação do patógeno causador da fusariose (*Fusarium moniliforme* Shilld. var. *subglutinans* Wr. e Reinking), principal doença fúngica que pode provocar

perdas de 80% dos frutos (Cabral et al., 1985).

A cultura de tecidos tem sido uma alternativa viável na propagação *in vitro* do abacaxi, produzindo mudas livres de patógenos e em grande número, reduzindo a mão-de-obra e contornando o baixo rendimento observado na propagação convencional. Possibilita até mesmo distinguir o grau de resistência de cultivares ao *Fusarium subglutinans* (Hidalgo et al., 1999).

Milhares de mudas de abacaxizeiro podem ser obtidas em curto espaço de tempo, utilizando como explantes gemas axilares extraídas de plantas adultas, mudas ou até mesmo da coroa (Drew, 1980; Zepeda e Sagawa, 1981; Kiss *et al.* 1995). Estudando a multiplicação *in vitro* de três cultivares de abacaxi (PR- 1-67, Perolera e Smooth Cayenne), Dewald *et al.* (1988) selecionaram três gemas de cada variedade e subcultivaram por treze meses. A produção de plântulas se iniciou nove meses após a primeira inoculação e as três cultivares responderam depois de um período de cinco meses, com 829 plântulas formadas para Perolera, 754 para PR-1-69 e apenas 181 para Smooth Cayenne. Aproximadamente 25 plântulas maiores que 2,5 cm foram colhidas por frasco de 125 ml a cada subcultivo adicional após o 13º mês. As três cultivares continuaram proliferando quatro anos após o início do trabalho.

Segundo Moore *et al.* (1992) para a micropropagação do abacaxi os melhores explantes são gemas axilares de coroas ou talos, o melhor meio é o MS básico suplementado com 3% de sacarose, 0,8% de ágar, 0,57 μM inositol, 1,2 μM de tiamina, 10,8 μM de ANA e 8,8 μM BAP com pH ajustado para 5,7. E são feitas subculturas num intervalo de 4 semanas. Neste aspecto, Pescador e Koller (1992), trabalhando com a cv. Pérola obtiveram taxas de multiplicação de 9,4; 12,0; e 10,1 brotações utilizando meio MS contendo variações de BAP e ANA.

As técnicas de micropropagação de abacaxi vêm sendo constantemente aprimoradas com o desenvolvimento de novos protocolos, que embora apresentem metodologias diferentes, resulta em grande produtividade, alta qualidade das mudas e custo de produção relativamente baixo (Escalona *et al.*, 1999; Guerra *et al.*, 1999).

O benomyl é um fungicida sistêmico, sendo absorvido e translocado por células e órgãos vegetais, não só atuando como um suplemento do meio de cultura, mas também na proteção do material vegetal contra contaminações fúngicas (Yang, 1976). Além de controlar as contaminações fúngicas, Becker, citado por Yang (1976), observou que esse fungicida possui algumas propriedades reguladoras de crescimento. Por sua vez, Moreira (1993) evidenciou efeitos positivos do benomyl sobre a propagação *in vitro* de *Citrus sunki*.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do BAP e do benomyl na proliferação *in vitro* de brotos de abacaxi.

Material e Métodos

No trabalho utilizaram-se explantes pré-estabelecidos *in vitro* de abacaxi (*Ananas*

comosus L.), cv. Primavera, oriundos da Embrapa-CNPMP e multiplicados no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Lavras. No experimento foi utilizando o meio MS suplementado com cinco concentrações de benomyl, (0, 50, 100, 200 e 400 mg.L^{-1}) em combinação com quatro níveis de BAP, 0,0; 1,0; 2,0 e 3,0 mg.L^{-1} . BAP (benzilaminopurina). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5 x 4 com 4 repetições e 3 tubos por parcela.

O regulador de crescimento foi dissolvido em hidróxido de sódio (NaOH) a 1,0 N, enquanto o benomyl foi dissolvido em água, formando uma pasta, até a diluição final. O pH do meio foi ajustado para 5,9, sendo então solidificado com 7 g.L^{-1} de ágar. Foi inoculado um explante de 3 cm por tubo de ensaio (150 x 20 mm), e em seguida os tubos foram transferidos para sala de crescimento e mantidos à temperatura de 27 ± 1ºC, fotoperíodo de 16 horas e intensidade luminosa de 36 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Após 120 dias, foram avaliados os números totais de brotos, de brotos maiores que 1,0 cm, pesos das matérias fresca e seca da parte aérea e o número de raízes.

Resultados e Discussão

A análise de variância para cada uma das características avaliadas, com seus respectivos níveis de significância, é apresentada na Tabela 1. Verifica-se que para as características números totais de brotos, de brotos maiores que 1,0 cm, peso da matéria fresca da parte aérea e o número de raízes a interação BAP x Benomyl foi significativa, ou seja, dependendo das concentrações destes elementos no meio nutritivo o comportamento das características avaliadas variou, estimulando ou inibindo as respostas. As figuras 2, 3, 4 e 5 apresentam dados correspondentes a diferentes concentrações de benomyl. Optamos por apresentar apenas as equações que foram

Tabela 1 - Análise da variância para número total de brotos (NTB), número de brotos maiores que 1 cm (NBM), pesos da matéria fresca da parte aérea (PFA) e da matéria seca da parte aérea (PSA) e do número de raízes (NMR).

Causas de Variação	Quadrado Médio				
	NTB	NBM	PFA (g)	PSA (mg)	NMR
BAP	142,79**	13,05**	1,48**	2,5	81,72**
Benomyl	5,54	5,39*	0,41	0,8	6,68**
BAP x Benomyl	24,47	4,61**	0,48**	0,9	4,04**
Resíduo	15,26	1,91	0,17	1,1	1,36

* e ** Significativo a 5 ou 1% de probabilidade, respectivamente.

significativas, sendo assim, os gráficos a depender da característica não apresentaram todas as concentrações.

Houve significativo incremento no número total de brotos, à medida que se aumentou a concentração de BAP (Figura 1). Estes resultados diferem daqueles apresentados por Moreira (1993), que em citros observou efeito dos fatores estudados isoladamente e a interação entre eles. Ela verificou que na ausência de BAP, doses crescentes de benomyl promoveram aumento no número de brotações e o ponto máximo foi registrado com 2,08 mg.L⁻¹ de BAP e 100 mg.L⁻¹ de benomyl, correspondendo a 18 brotações. Por outro lado, os dados obtidos nesse experimento concordam com os de Kiss *et al.* (1985), que afirmaram que com a utilização de BAP houve aumento do número de brotos de abacaxi cultivados *in vitro*, mediante o método de estiolamento.

Concernente ao número total de brotos, à medida que se aumentou a concentração de BAP, houve significativo

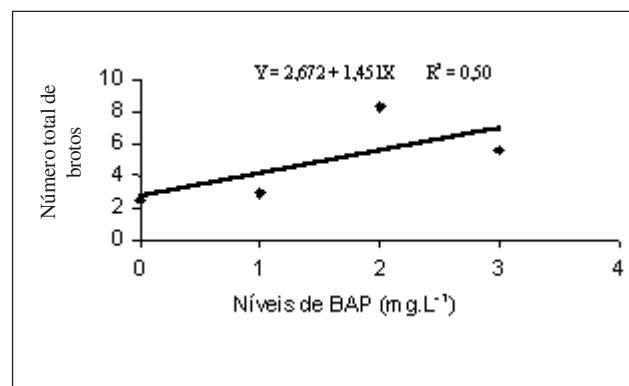


Figura 1 - Número total de brotos de abacaxi em função de diferentes níveis de BAP (0, 1, 2 e 3 mg.L⁻¹).

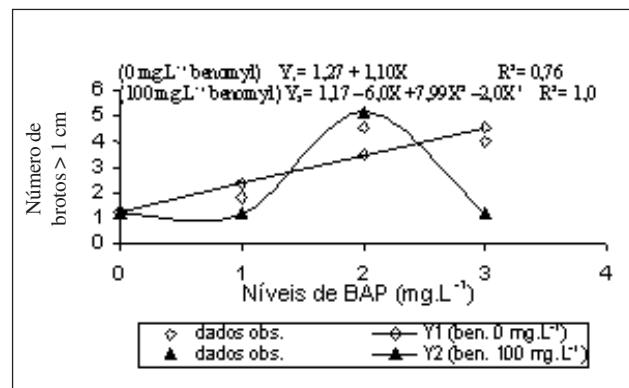


Figura 2 - Número de brotos de abacaxi maiores que 1 cm em função de diferentes níveis de BAP (0, 1, 2 e 3 mg.L⁻¹).

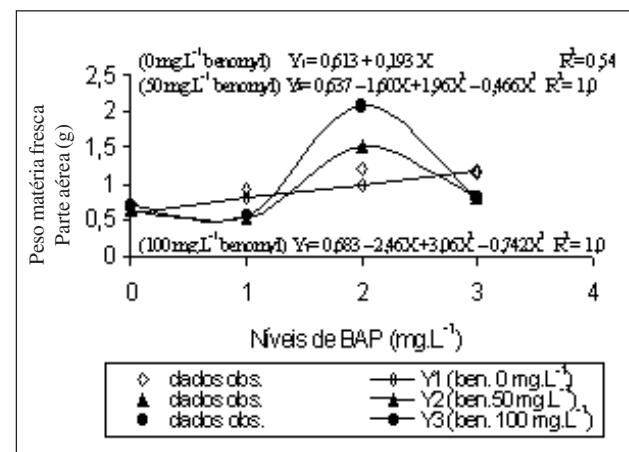


Figura 3 - Peso da matéria fresca da parte aérea de plântulas de abacaxi em função de diferentes níveis de BAP (0, 1, 2 e 3 mg.L⁻¹).

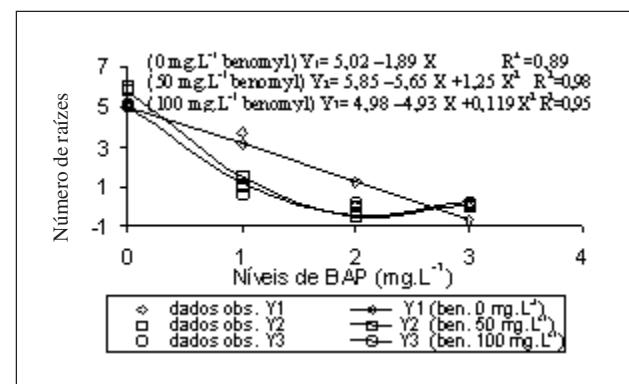


Figura 4 - Número de raízes em plântulas de abacaxi em função de diferentes níveis de BAP (0, 1, 2 e 3 mg.L⁻¹).

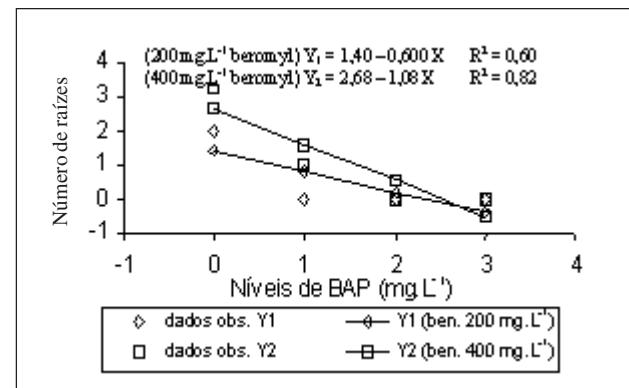


Figura 5 - Número de raízes em plântulas de abacaxi em função de diferentes níveis de BAP (0, 1, 2 e 3 mg.L⁻¹).

incremento no numero de brotos maiores que 1cm e no peso da matéria fresca (Figuras 2 e 3). Esta relação entre as duas características era de se esperar, pois um aumento no número de brotos maiores que 1cm, ou seja, brotos mais desenvolvidos, conseqüentemente mais pesados, acarretaram em aumento no peso da matéria fresca da parte aérea. Descartando assim uma influência do benomyl no aumento do peso fresco da parte aérea. Os dados observados não concordam com os de Moreira (1993), que registrou efeito significativo em *Citrus sunki*, percebendo tendência de aumento no número de brotos maiores que 1cm com elevação da concentração do produto (100 mg.L⁻¹), decrescendo com concentrações maiores (150 mg.L⁻¹). Por outro lado, Carvalho *et al.* (1996) não notaram influência do benomyl quando estudaram os efeitos fisiológicos deste fungicida e do BAP na proliferação *in vitro* de café.

Havia a expectativa de que o efeito do benomyl, observado em plantas no campo, especialmente de café, as quais se apresentaram bem enfolhadas e com coloração verde mais intensa, fosse verificado sobre a proliferação de brotos *in vitro*, porém, este fato não ocorreu.

Resultados similares aos registrados para a parte aérea, porém em sentido inverso, foram observados para o desenvolvimento do sistema radicular. O aumento da concentração de BAP levou a uma conseqüente redução no número de raízes, para todas as doses de benomyl utilizadas. Nas Figuras 4 e 5 pode-se perceber que para número de raízes o melhor resultado foi conseguido com a interação de benomyl (50 mg.L⁻¹) e BAP (0,0 mg.L⁻¹), atingindo o número máximo de aproximadamente 6 raízes.

Conclusões

À medida que se eleva a concentração de BAP há um aumento correspondente do número de brotos e peso da matéria fresca da parte aérea e redução do número de raízes.

Não há influência do benomyl no desenvolvimento da parte aérea da planta.

Maior número de raízes é obtido com benomyl 50 mg.L⁻¹ na ausência de BAP.

Literatura Citada

CABRAL, J.R.S.; MATOS, A.P. DE; SOUTO, G.F. 1985.

Reação de germoplasma de abacaxi à inoculação com *Fusarium moniliforme* var. Subglutinans. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 20(7): 787-791.

- CARVALHO, G. R. et al. 1996. Influência do Benomyl e Benzilaminopurina sobre a proliferação *in vitro* do café cv. Catuá. *Revista Ceres (Brasil)* 43(248): 402-408.
- DEWALD, M.G. et al. 1988. Production of pineapple plants *in vitro*. *Plant Cell Report* 7:535-538.
- DREW, R. A. 1980. Pineapple Tissue Culture: unequaled for rapid multiplication. *Queensland Agriculture Journal* 106(5): 447-451.
- ESCALONA, M. et al. 1999. Pineapple (*Ananans comosus* L. Merr.) micropropagation in temporary immersion systems. *Plant Cell Reports* 18(9):743-748.
- GUERRA, M. P. et al. 1999. Establishment of a regenerative protocol for the pineapple micropropagation. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 34(9): 1557-1563.
- HIDALGO O.B. et al. 1999. Phytotoxicity of *Fusarium subglutinans* culture filtrates on *in vitro* plantlets and calli of resistant and susceptible pineapple (*Ananas comosus*). *Plant Pathology* 48(6): 756-758.
- KISS, E.; KISS, J.; GYULAI, HESZKY, L.E. 1995. A novel method for rapid micropropagation of pineapple. *HortScience* 30(1): 127-129.
- MOREIRA, M.A. 1993. Efeito do benomyl e ácido indolbutírico na propagação *in vitro* do porta-enxerto *Citrus sunki* Hort. ex Tan. *Dissertação de Mestrado*. Lavras, ESAL. 56p.
- MOORE, G.A.; DEWALD, M.G.; EVANS, E. 1992. Micropropagation of pineapple (*Ananans comosus* L.). In: Bajaj, Y.P.S. (ed). *Biotechnology in Agriculture and Forestry 18; High-Tech and micropropagation II*. New York, Springer-Verlag. pp. 461-70.
- PESCADOR, R.; KOLLER, O. C. 1992. Propagação 'in vitro' do abacaxizeiro (*Ananans comosus* L. Merril) cv. Pérola. *Revista Brasileira de Fruticultura* 14(2):1-4.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15:473-497.
- PAIVA, P.D.O. et al. 1999. Efeito de BAP, Thidiazuron e Sulfato de Adenina na propagação *in vitro* de abacaxi. *Revista Ceres (Brasil)* 46(265): 231-237.
- YANG, H.J. 1976. Effects of benomyl on *Asparagus officinalis* L. shoot and root development in culture media. *HortScience* 11(5):473-474.
- ZEPEDA, C.; SAGAWA, Y. 1981. *In vitro* propagation of pineapple. *HortScience* 16(4):495.

NOTA CIENTÍFICA

FORMAÇÃO DE BASIDIOMAS EM CULTURAS DE *Crinipellis perniciosa* PAREADAS COM *Xylaria consociata*

João de Cássia do Bomfim Costa, José Luiz Bezerra e Ana Rosa R. Niella Cerqueira

CEPLAC/CEPEC/Seção de Fitopatologia, Caixa Postal 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil. jcbioctrl@ceplac.gov.br

A formação de basidiomas de *Crinipellis perniciosa* *in vitro* foi observada, pela primeira vez, em culturas pareadas com colônias de *Xylaria consociata*, um fungo endofítico do cacau. As observações foram feitas em dez placas de petri contendo meio de BDA nas quais as colônias de ambos os fungos foram pareadas. Após as colônias entrarem em contato formou-se uma zona púrpura de contato e ambos os fungos aparentemente pararam de crescer. Sessenta dias depois, primórdios de basidiomas de *C. perniciosa* desenvolveram-se na zona de antagonismo. O mecanismo de indução de basidiomas nesta interação precisa ser investigado.

Palavras-chave: antagonismo, fungo endofítico, *Theobroma cacao*.

Formation of basidiomata in cultures of *Crinipellis perniciosa* paired with *Xylaria consociata*. The formation of basidiomas *in vitro* was observed for the first time in paired cultures of *C. perniciosa* and *Xylaria consociata* Starb., an endophytic fungal species on cacao (*Theobroma cacao* L.). Observations were made in 10 petri plates containing PDA medium, in which the colonies of both fungi were paired.

Key words: antagonism, endophytic fungi, *Theobroma cacao*.

A formação de basidiomas de *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer em meio de cultura é um fenômeno errático e pouco compreendido apesar de intensamente pesquisado. Estímulos variados tais como: luz, temperatura, relações hídricas, oxigênio, CO₂, substâncias voláteis, acidez do meio, nutrição orgânica, nutrição nitrogenada, nutrição mineral, vitaminas e hormônios específicos, parecem induzir a formação de basidiomas *in vitro* e existem metodologias mais ou menos eficientes baseadas nas condições que regem o aparecimento das

frutificações *in vivo* (Cochrane, 1958; Salas and Hancock, 1972; Purdy and Dickstein, 1990; Griffith and Hedger, 1993; Stein et al., 1996; e Niella et al., 1999). É sabido que o contato de colônias de fungos de diferentes espécies pode induzir a formação de esporos numa das espécies confrontadas (Cochrane, 1958). Em *C. perniciosa* essa reação está sendo relatada pela primeira vez em culturas pareadas com *Xylaria consociata* Starb., uma espécie de fungo endofítico no cacau (*Theobroma cacao* L.) que apresenta potencial biocontrolador sobre *C. perniciosa*

(Bravo and Hedger, 1988). Utilizaram-se, no ensaio, dez placas-de-petri contendo meio de BDA, nos pareamentos entre isolados originados de culturas puras de ambos os fungos colocados em pontos eqüidistantes das placas. Após 12 dias de incubação a 26 ± 2 °C, com fotoperíodo de 12 horas, observou-se o contato entre os micélios e a formação de uma zona de antagonismo de coloração púrpura e uma aparente paralisação no crescimento de ambos os fungos em todas as placas (Figura 1). Sessenta dias após, observou-se, em uma placa, a formação de primórdios (Figura 2) e basidiomas de *C. perniciosa* nesta zona de contato (Figuras 3 e 4). De acordo com Cochrane (1958) o estímulo à esporulação de um fungo por outro fungo pode ser atribuída ao efeito de vitaminas e compostos fosfatados orgânicos produzidos pelo fungo indutor ou ainda pela neutralização de substâncias inibidoras de esporulação presentes no meio de cultura. No caso da interação entre *X. consociata* e *C. perniciosa* o mecanismo da indução da esporulação precisa ser estudado.

Conclui-se que *Xylaria consociata* induziu a formação de basidiomas em culturas de *Crinipellis perniciosa*.

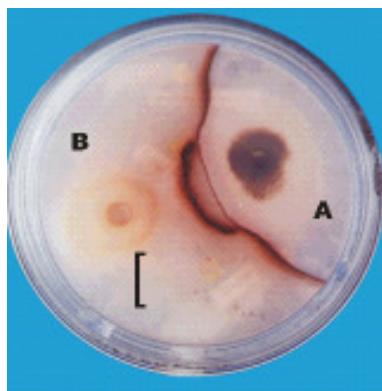


Figura 1 - Zona de antagonismo entre os micélios de *Xylaria consociata* (A) e *Crinipellis perniciosa* (B). Barra = 15mm.



Figura 2 - Primórdios de *Crinipellis perniciosa* in vitro (setas). Barra = 15 mm.

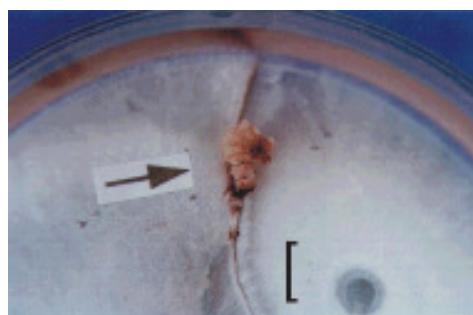


Figura 3 - Basidiomas de *Crinipellis perniciosa* em vista frontal, *in vitro* (setas). Barra = 15 mm.



Figura 4 - Basidiomas de *Crinipellis perniciosa* em vista lateral, *in vitro* (setas). Barra = 15 mm.

Agradecimento

Agradecemos a Dra. Stela Dalva Vieira Midlej Silva (CEPEC) pela doação do isolado de *Xylaria consociata*.

Literatura Citada

- BRAVO, E.; HEDGER, J. 1988. Microflora associated with "witches' broom" in cocoa and its potential role in the biological control of the pathogen *Crinipellis perniciosa*. In International Cocoa Conference, 10, 1987. Proceedings. Santo Domingo, República Dominicana, Cocoa Producers' Alliance. pp.345-353.
- COCHRANE, V.W. 1958. Physiology of fungi. New York, John Wiley & Sons. 524 p.
- GRIFFITH, G.W.; HEDGER, J. N. 1993. A novel method for producing basidiocarps of the cocoa pathogen *Crinipellis perniciosa* using a bran-vermiculite medium. Netherlands Journal of Plant Pathology 99:227-230.
- NIELLA, G. R. et al. 1999. Aperfeiçoamento da metodologia de produção artificial de basidiocarpos de *Crinipellis perniciosa*. Fitopatologia Brasileira 24(4):523-527.
- PURDY, L.H.; DICKSTEIN, E.R. 1990. Basidiocarp development on mycelial mats of *Crinipellis perniciosa*. Plant Disease 74 (7):493-496.
- STEIN, R.L.B. et al. 1996. Produção artificial de basidiocarpos de *Crinipellis perniciosa* do cupuaçuzeiro em meio de farelo-vermiculita. Belém, EMBRAPA/CPATU. Boletim de Pesquisa 167. 15p.
- SALAS, J.A.; HANCOCK, J.G. 1972. Production of perfect stage of *Mycena citricolor* (Berk. & Curt) Sacc. Hilgardia 41(9): 213-234.

NOTA CIENTÍFICA

OCORRÊNCIA DA FORMA SEXUADA DE *Trichoderma stromaticum* NA BAHIA

¹*José Luiz Bezerra, ¹João de Cássia do Bomfim Costa, ²Cleber Novaes Bastos e ³Fábio Gelape Faleiro

¹CEPLAC/CEPEC, Seção de Fitopatologia, Caixa Postal 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil. jlbezerra@cepec.gov.br

²CEPLAC/SUPOR/ERJOH, Caixa Postal 46, 67105-970, Bélem, PA, Brasil.

³Embrapa Cerrados, Caixa Postal 08223, 73301-970, Planaltina, Distrito Federal, Brasil.

*Bolsista CNPq

Estromas periteciais de *Hypocrea* formaram-se sobre a superfície de frutos mumificados e de vassouras secas de cacaueiros em áreas onde *Trichoderma stromaticum* tinha sido pulverizado, experimentalmente, para o controle biológico da vassoura-de-bruxa. Ascósporos obtidos dos estromas de *Hypocrea* originaram colônias idênticas às de *T. stromaticum*. Observaram-se similaridades genéticas de 0,82 a 0,84 entre os isolados ascospóricos e conidiais com base nos marcadores RAPD e de 0,06 a 0,09 entre estes e o isolado de *Fusarium* sp. *Hypocrea stromatica* Bezerra, Costa & Bastos sp. nov. é proposta como o teleomorfo de *T. stromaticum*.

Palavras-chave: Cacauero, *Theobroma cacao*, *Hypocrea stromatica*.

Occurrence of the sexual stage of *Trichoderma stromaticum*. Peritecial stromata of a *Hypocrea* species developed on the surface of mummified pods and dried brooms of cacao, in areas where *T. stromaticum* had been applied, experimentally, as a biological agent to control cacao witches' broom. Genetic similarities from 0,82 to 0,84 were observed between ascosporic and conidial isolates based on RAPD markers, and from 0,06 to 0,09 between these and the *Fusarium* isolate. The teleomorph of *T. stromaticum* is, thus, proposed as *Hypocrea stromatica* Bezerra, Costa & Bastos sp. nov.

Key words: Cacao, *Theobroma cacao*, *Hypocrea stromatica*.

Introdução

Trichoderma stromaticum foi descrita por Samuels *et al.* (2000), a partir de culturas levadas da Bahia e provenientes dos estados do Pará e Rondônia. A existência do seu teleomorfo não é mencionada na descrição original. O gênero *Trichoderma* é considerado anamorfo de *Hypocrea* Fr. (Chaverri *et al.*, 2000).

Estromas de *Hypocrea* em áreas pulverizadas com *T. stromaticum* foram coletados em 1998, sobre frutos mumificados de cacau (*Theobroma cacao*), cacau-do-peru (*T. bicolor*) e cupuaçú (*T. grandiflorum*) e sobre vassouras secas de cacauzeiro, em Ilhéus, Bahia, Brasil.

O objetivo deste trabalho foi demonstrar a conexão entre *T. stromaticum* e *Hypocrea*, com base em dados moleculares e morfológicos e descrevê-lo como uma nova espécie do gênero *Trichoderma*.

Material e Métodos

Isolados de *Hypocrea* foram obtidos a partir de vassouras secas de cacauzeiros, na Bahia, da seguinte forma: estromas ascígeros foram desinfestados, externamente, com álcool a 70%, hipoclorito de sódio a 1%, lavados em água estéril e colocados sob a tampa de placas-de-petri contendo agar-água ou meio de batata-dextrose-agar (BDA) acidificado. As placas foram incubadas a 25 °C (± 2 °C), no escuro, e examinadas na lupa, a cada 12 horas, para observação de ascósporos germinados. Após 24 horas, as pequenas colônias desenvolvidas a partir dos ascósporos ejetados sobre a superfície do meio foram repicadas para meio de BDA e estudadas quanto ao aspecto cor e esporulação das culturas desenvolvidas à mesma temperatura usada para o isolamento. DNA genômico de duas colônias provenientes de ascósporos de *Hypocrea*, duas de conídios de *T. stromaticum* e uma de *Fusarium* sp. (controle negativo) foi extraído e amplificado com os "primers" decâmeros OPA7, OPL5, OPL8, OPL16, OPM12, OPN16, OPO6 e OPO12 (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA) para obtenção de marcadores RAPD. Os coeficientes de similaridades entre isolados foram calculados com base no índice de Nei & Li (1979). Construiu-se um dendograma,

utilizando-se o método do centróide, matrizes de distâncias genéticas e análises de agrupamento.

Resultados e Discussão

Culturas obtidas de ascósporos de *Hypocrea* originaram colônias típicas de *T. stromaticum*. As características culturais dos isolados do teleomorfo e do anamorfo foram praticamente idênticas. As colônias aos 7 dias de crescimento em BDA, à temperatura de aproximadamente 25 °C, à luz ambiente, apresentaram micélio denso, esbranquiçado, rasteiro, com esporulação concentrada próximo às margens das colônias.

Os oito "primers" decâmeros geraram um total de 73 marcadores RAPD, sendo a média de 9,1 marcas por "primer". Observaram-se similaridades genéticas de 0,82 a 0,84 entre os isolados ascospóricos e conidiais com base nos marcadores RAPD e de 0,06 a 0,09 entre estes e o isolado de *Fusarium* sp. A análise de agrupamento mostrou a proximidade dos isolados de *T. stromaticum* e de *Hypocrea*, os quais ficaram distantes geneticamente do isolado de *Fusarium* sp. (Figura 2).

Os dados morfológicos e moleculares obtidos permitiram a proposição da seguinte nova espécie de *Hypocrea*:

***Hypocrea stromatica* Bezerra, Costa et Bastos, sp. nov.** (Figura 1).



Figura 1- *Hypocrea stromatica*. Vista frontal dos estromas. Barra: = 1,0 mm.

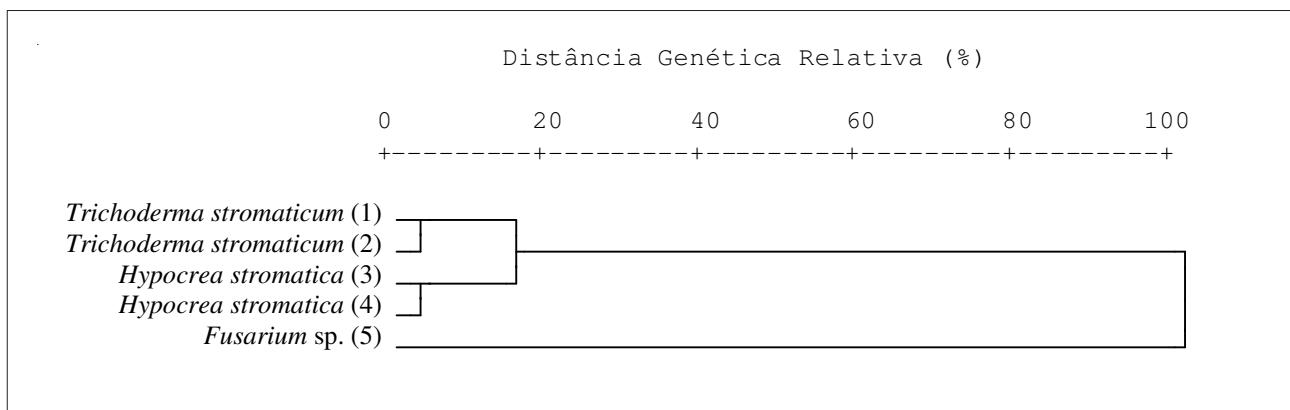


Figura 2 - Dendrograma de dois isolados de *Trichoderma stromaticum*, dois de *Hypocrea stromaticum* e um de *Fusarium* sp. baseada na matriz de distâncias genéticas, pelo método do centróide. Foram utilizados para o cálculo das distâncias genéticas 73 marcadores RAPD.

Stromata solitaria, ehracea vel pallide-brunnea, 0,5-1,3 mm. Asci cylindrici, 78-93 x 4,3-5,0 µm, apice incrassato praediti. Ascospores bicellulares, ad septum disarticulatae, ellipsoideae, 9,7-11,4 x 3,5-4,0 µm, parte distali, 4,5-5,7 x 3,5-4,0 µm, parte proximali, 4,0-5,7 x 3,4-4,0 µm, hyalinae, verrucosae. HOLOTYPE: Herb CEPLAC/CEPEC/SEFIT, 128.

Anamorfo – *Trichoderma stromaticum* Samuels & Pardo-Schultheiss, Mycological Research 104 (6): 760-764. 2000.

Estromas dispersos, pulvinados, de cor amarelada a castanho-alaranjada, KOH -, de contorno quase circular, 0,5-1,3 mm, de base constricta, com cerca de 15 a 20 peritécios por estroma. Parede do estroma pseudoparenquimática, de textura angular, 35,8-57,2 µm de espessura, formada de células subhialinas, 7,2-18,6 x 5,7-11,4 µm, com paredes 0,57-0,86 µm de espessura. Peritécios subglobosos 114-160 µm de altura e 114-143 µm de largura, com ostíolo papilado, 86-93 µm de altura e 33-57 µm de largura. Ascóspores cilíndricos, octospóricos, 78,0-93,0 x 4,3-5,0 µm, levemente espessados no ápice. Ascóspores oblongos a elipsóides, bicelulares, fortemente constrictos no septo, de paredes ásperas, 9,7-11,4 x 3,5-4,0 µm, separando-se em duas células desiguais hialinas; célula apical subglobosa 4,5-5,7 x 3,5-4,0 µm e célula basal levemente atenuada 4,0-5,7 x 3,4-4,0 µm. Conídios hialinos, tornando-se amarelados, castanho-claros, verdes ou amarelo-esverdeados em massa. Conidiomas pulvinados a hemisféricos, 1-3 mm de diâmetro. Fiáldes agrupadas, subglobosas a ampuliformes, constrictas no ápice, 5-7 µm de

comprimento e 3-4 µm de largura na região mediana. Setas aciculares de ápice estéril ou fértil até 70 µm de comprimento e cerca de 6 µm de largura, originando-se dos conidiomas. Conídios hialinos, oblongos a elipsóides, lisos, verdes em massa, 4,0-5,0 x 2,5-3,0 µm. Clamidosporos globosos a subglobosos terminais ou intercalares, cerca de 8 µm de diâmetro.

Habitat – *Hypocrea stromaticica* ocorre em frutos mumificados de cacau e outras esterculiáceas, bem como, em vassouras secas de cacaueiro. O *T. stromaticum* tem sido isolado da serrapilheira do cacaueiro e também da superfície de folhas vivas da copa do cacaueiro. O teleomorfo é conhecido apenas na região cacaueira do estado da Bahia e o anamorfo tem ocorrência conhecida também nos estados do Pará e Rondônia.

Holótipo – BRASIL. BAHIA: Município de Ilhéus, Centro de Pesquisa do Cacau, 14° 45' S e 39° 13' W, 03 de junho de 1998, sobre frutos secos de cacau, J.L. Bezerra (Herbário Fitopatológico /CEPLAC/ CEPEC/ SEFIT nº 128; Micoteca da SEFIT nº 3106, cultura isolada de *H. stromaticica* sobre vassouras secas de cacau).

Literatura Citada

CHAVERRI, P.; SAMUELS, G.J.; STEWART, E.L. 2000. Convergent evolution of *Gliocladium* morphology in *Hypocrea*. Mycologia 92(Suppl): 24.

- NEI, M.; Li, W.H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of American* 76:5269-5273.
- SAMUELS, G.J. et al. 2000. *Trichoderma stromaticum* sp. nov., a parasite of the cacao witches broom pathogen. *Mycological Research* 104 (6): 760-764.



Preparado por

Jurema Correa Santos, Selenê Badaró e Jacqueline Amaral

ÍNDICE DE AUTORES

AGOSTINI, M. A. V.	167	MENDONÇA, E. de S.	105, 135
ALBUQUERQUE, M. M.	21	MENEZES, M.	63
ALMEIDA, C. M.V. C. de	129	MICHEREFF, S. J.	87
ALMEIDA, S. A.	119	MISRA, A.	81
ARAGÃO, W. M.	119	MONTEIRO, W. R.	45
ASSIS, S. P. M.	63	MORAES, E. P. de F.	65
BALDANI, V.L.D.	181	MORAES, H. G. de	147
BARROS, N. F. de	105, 135	MORAES, V. H. de F.	41, 45
BASTOS, C. N.	59, 195	MOREIRA, M. A.	189
BEZERRA, J. L.	193, 195	MOTA, D. M. da	49
CANTARUTTI, R. B.	105, 135	MOURA, R. M.	63
CARDOSO, M. J.	21, 95, 151	NAGARAJU, V.	163
CARVALHO, A. R. V. de	181	NETO, F. A.	129
CARVALHO, B. C. L. de	21, 29, 95	OLIVEIRA, M. L. de	7, 111
CARVALHO, H. W. L. de	15, 21, 29, 95, 1 51	PARTHASARATHY, U.	125
CARVALHO, P. C. L. de	15	PARTHASARATHY, V. A.	125, 163
CERQUEIRA, A. R. N.	193	PASQUAL, M.	189
CORTÉZ M., H.	143	PATRA, N. K.	81
COSTA, J. de C. do B.	193, 195	PEDROSA, R. A.	87
DOBEREINER, J.	181	PEREIRA, A. B.	189
DOURADO, V. V.	29	RAMALHO NETO, E.	63
ENCARNAÇÃO, A .M. V. da	65	ROCHA, E. M. de M.	29
FALEIRO, F. G.	195	ROSSETTI, A. G.	35
FERNANDES, M. F.	173	SAMPAIO, G. V.	29
FONTES, M.P. F.	105, 135	SANCHEZ, S. S.	143
FREITAS, M.A. de	65	SANTANA, C. J. L de	75
GALVÃO, A. L.	63	SANTOS, D. M. dos	21
GURIES, R.P.	1	SANTOS, M. X. dos	15, 21, 29, 95, 151
HAZARIKA, B. N.	163	SCHMITZ, H.	49
LEAL, M. de L. da S.	15, 21, 29, 95, 151	SHARMA, S.	81
LEITE, J. de O.	67	SILVA, A. B. da	189
LIRA, M. A.	95	SILVA, D. W.	63
LUZ, E. D. M. N.	167	SILVA, I. O.	29
MACIEL, A. L. de R.	189	SILVA, S. D.V. M	167
MAFFIA, L. A.	87	SINGH, A.	81
MAGALHÃES, L. E. L.	49	SODRÉ, G. A.	105, 135
MARQUES, H. da S.	29	SOUZA, E.M.R. de	181
MARQUES, J. R. B.	45	TABOSA, J.N.	21, 95
MARTINS, P. S.	119	TREVIZAN, S.D.P.	147

ÍNDICE DE PALAVRAS-CHAVE

ABACAXI/ Influência do Benomyl e Benzilaminopurina (BAP) sobre a proliferação <i>in vitro</i> de	189	/CACAU/ Formação de basidiomas em culturas de <i>Crinipellis perniciosa</i> pareadas com <i>Xylaria consociata</i>	193
ACLIMATAÇÃO de plântulas de <i>Citrus</i> micro-propagadas/ Efeito do uso de antitranspirantes e da redução da umidade na	163	/CACAUERO/ Danos causados pela <i>Hemeroblemma mexicana</i> (Guenee) (Lepidoptera:Noctuidae) no cultivo do cacaueiro em Tabasco, México	143
AGRICULTORES e suas organizações/ Participação e parceria no trabalho com	49	CACAU: uma avaliação quantitativa/ Trabalhadores do	147
ALMOFADAS FLORAIS do cacaueiro por <i>Crinipellis perniciosa</i> <i>Trichoderma stromaticum</i> sp. nov. na produção de basidiomas e infecções de ramos e	59	CACAUERO na região Sul da Bahia/ Seleção de fungicidas <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> para o controle da vassoura-de-bruxa do	111
/Anacardium occidentale/ Tamanho de área e precisão de experimentos de campo com cajueiro em função do número de repetições	35	CACAUERO por <i>Crinipellis perniciosa</i> <i>Trichoderma stromaticum</i> sp. nov. na produção de basidiomas e infecções de ramos e almofadas florais do	59
ANÁLISE ELETROFORÉTICA de isoenzimas de cacau (<i>Theobroma cacao</i> L.)/ Metodologia, polimorfismo e	1	CACAUERO , à reação de <i>Crinipellis perniciosa</i> Efeito do método de inoculação e estádio da plântula de	167
ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL de folhas da manta orgânica de diferentes coberturas vegetais, submetidas à oxidação com H_2O_2	135	CAJUEIRO em função do número de repetições/ Tamanho de área e precisão de experimentos de campo com	35
/Ananas comosus/ Influência do Benomyl e Benzilaminopurina (BAP) sobre a proliferação <i>in vitro</i> de abacaxi	189	Callistomys pictus (Rodentia; Echimyidae) e aspectos de sua história natural na Bahia/ Nova ocorrência de	65
ANTITRANSPIRANTES e da redução da umidade na aclimatação de plântulas de <i>Citrus</i> micropagadas/ Efeito do uso de	163	CANCRO DO CAULE DO INHAME , uma nova doença ocorrendo no Brasil, causada por <i>Rhizoctonia solani</i>	63
BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS e fungo micorrízico <i>Glomus clarum</i> em mudas de pupunheira (<i>Bactris gasipaes</i> H.B.K.)	181	/Chrysanthemum cinerariaefolium/ Influência do pH baixo e do Fe sobre piretro recentemente introduzidos em altitudes elevadas	81
Bactris gasipaes H.B.K.)/ Bactérias diazotróficas e fungo micorrízico <i>Glomus clarum</i> em mudas de pupunheira (BAHIA/ Relações entre a precipitação, o lençol freático e a produção de cacau na	67	Citrus micropagadas/ Efeito do uso de antitranspirantes e da redução da umidade na aclimatação de plântulas de	163
BAHIA/ Nova ocorrência de <i>Callistomys pictus</i> (Rodentia; Echimyidae) e aspectos de sua história natural na	65	CLONES de copa de seringueira/ Avaliação preliminar de	41
BAHIA, no triênio 1995/96/97/ Comportamento e estabilidade de produção de cultivares de milho no Estado da	29	CLONES diplóides e novos poliplóides putativos em condições de jardim clonal/ Poliploidia em seringueira: III - Estudo comparativo entre	45
BAHIA/ Lixiviação potencial de nutrientes da manta orgânica de diferentes coberturas vegetais no Sudeste da	105	LIXIVIAÇÃO potencial de nutrientes da manta orgânica de diferentes coberturas vegetais no Sudeste da Bahia	105
BAHIA/ Seleção de fungicidas <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> para o controle da vassoura-de-bruxa do cacaueiro na região Sul da	111	ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL de folhas da manta orgânica de diferentes coberturas vegetais, submetidas à oxidação com H_2O_2	135
BASIDIOMAS em culturas de <i>Crinipellis perniciosa</i> pareadas com <i>Xylaria consociata</i> Formação de	59	COBRE residual em solos de plantações de cacau (<i>Theobroma cacao</i> L.)	75
BENOMYL e Benzilaminopurina (BAP) sobre a proliferação <i>in vitro</i> de abacaxi/ Influência do	193	/CONTROLE BIOLÓGICO/ <i>Trichoderma stromaticum</i> sp. nov. na produção de basidiomas e infecções de ramos e almofadas florais do cacaueiro por <i>Crinipellis perniciosa</i>	59
BENZILAMINOPURINA (BAP) sobre a proliferação <i>in vitro</i> de abacaxi / Influência do Benomyl e	189	/CONTROLE QUÍMICO/ Seleção de fungicidas <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> para o controle da vassoura-de-bruxa do cacaueiro na região Sul da Bahia	111
BRASIL , causada por <i>Rhizoctonia solani</i> / Cancro do caule do inhame, uma nova doença ocorrendo no	189	COPA de seringueira/ Avaliação preliminar de clones de	41
BRASIL/ Custo de produção de sementes de variedades híbridas de cacau em Rondônia,	189	CRESCIMENTO inicial e sobrevivência de mangabeiras (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) a nível de campo, em diferentes substratos	173
/BRASIL/ Adaptabilidade e estabilidade de híbridos de milho no Nordeste brasileiro no ano agrícola 1998/1999	63	Crinipellis perniciosa pareadas com <i>Xylaria consociata</i> / Formação de basidiomas em culturas de	193
/BRASIL/ Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Nordeste brasileiro no ano agrícola de 1998/99	129	Crinipellis perniciosa/ Métodos e protocolos para eletroforese em gel de amido de isoenzimas de	7
/BRASIL/ Estimativas de parâmetros genéticos na variedade de milho BR 5028 - São Francisco no Nordeste brasileiro	95	/Crinipellis perniciosa/ Seleção de fungicidas <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> para o controle da vassoura-de-bruxa do cacaueiro na região Sul da Bahia	111
CACAU (<i>Theobroma cacao</i> L.)/ Cobre residual em solos de plantações de	21	Crinipellis perniciosa/ <i>Trichoderma stromaticum</i> sp. nov. na produção de basidiomas e infecções de ramos e almofadas florais do cacaueiro por	59
CACAU (<i>Theobroma cacao</i> L.)/ Metodologia, polimorfismo e análise eletroforética de isoenzimas de	15	Crinipellis perniciosa/ Efeito do método de inoculação e estádio da plântula de cacaueiro, à reação de	167
CACAU em Rondônia, Brasil/ Custo de produção de sementes de variedades híbridas de	129	CULTIVARES de milho no Estado da Bahia, no triênio 1995/96/97/ Comportamento e estabilidade de produção de	29
CACAU na Bahia/ Relações entre a precipitação, o lençol freático e a produção de	67	CULTIVARES de milho no Nordeste brasileiro no ano agrícola de 1998/99/ Adaptabilidade e estabilidade de	21
		CULTIVO do cacaueiro em Tabasco, México/ Danos causados pela <i>Hemeroblemma mexicana</i> (Guenee) (Lepidoptera:Noctuidae) no	143

/CULTURA DE TECIDO/ Influência do Benomyl e Benzilaminopurina (BAP) sobre a proliferação <i>in vitro</i> de abacaxi	189	ISOENZIMAS de cacau (<i>Theobroma cacao</i> L.)/ Metodologia, polimorfismo e análise eletroforética de	1
/CULTURA DE TECIDO/ Resposta morfogenética de embriões de dendê (<i>Elaeis guineensis</i> var. <i>Pisifera</i>) a meios de cultura e suplementações	125	ISOENZIMAS de <i>Crinipellis perniciosa</i> Métodos e protocolos para eletroforese em gel de amido de	7
<i>Curvularia eragrostidis</i> , na Zona da Mata de Pernambuco/ Progresso e arranjo espacial da queima das folhas do inhame, causada por	87	LENÇOL FREATICO e a produção de cacau na Bahia/ Relações entre a precipitação, o	67
CUSTO DE PRODUÇÃO de sementes de variedades híbridas de cacau em Rondônia, Brasil	129	LEPIDOPTERA: Noctuidae) no cultivo do cacau no Tabasco, México/ Danos causados pela <i>Hemeroblemma mexicana</i> (Guenee) (143
DENDÊ (<i>Elaeis guineensis</i> var. <i>Pisifera</i>) a meios de cultura e suplementações/ Resposta morfogenética de embriões de <i>Desmanthus virgatus</i> (L.) Willd. no Estado de Sergipe/ Coleta de germoplasma de	125	LIXIVIAÇÃO potencial de nutrientes da manta orgânica de diferentes coberturas vegetais no Sudeste da Bahia	105
<i>Dioscorea cayennensis</i> / Cancro do caule do inhame, uma nova doença ocorrendo no Brasil, causada por <i>Rhizoctonia solani</i>	119	MANGABEIRAS (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) a nível de campo, em diferentes substratos/ Crescimento inicial e sobrevivência de	173
<i>Dioscorea cayennensis</i> / Progresso e arranjo espacial da queima das folhas do inhame, causada por <i>Curvularia eragrostidis</i> , na Zona da Mata de Pernambuco	63	MANTA ORGÂNICA de diferentes coberturas vegetais, submetidas à oxidação com H_2O_2 / Análise térmica diferencial de	135
DOENÇA ocorrendo no Brasil, causada por <i>Rhizoctonia solani</i> / Cancro do caule do inhame, uma nova	63	MANTA ORGÂNICA de diferentes coberturas vegetais no Sudeste da Bahia/ Lixiviação potencial de nutrientes da	105
ECHIMYIDAE) e aspectos de sua história natural na Bahia/ Nova ocorrência de <i>Callistomys pictus</i> (87	MÉXICO / Danos causados pela <i>Hemeroblemma mexicana</i> (Guenee) (Lepidoptera:Noctuidae) no cultivo do cacau no Tabasco,	143
<i>Elaeis guineensis</i> var. <i>Pisifera</i>) a meios de cultura e suplementações/Resposta morfogenética de embriões de	125	MICROPROPAGAÇÃO/ Efeito do uso de antitranspirantes e da redução da umidade na aclimatação de plântulas de <i>Citrus</i> micropagadas	163
ELETROFORESE EM GEL de amido de isoenzimas de <i>Crinipellis perniciosa</i> Métodos e protocolos para	7	MILHO BR 5028 - São Francisco no Nordeste brasileiro/ Estimativas de parâmetros genéticos na variedade de	15
EMBRIÕES de dendê (<i>Elaeis guineensis</i> var. <i>Pisifera</i>) a meios de cultura e suplementações/ Resposta morfogenética de	125	MILHO no Estado da Bahia, no triênio 1995/96/97/ Comportamento e estabilidade de produção de cultivares de	29
/FERRO/ Influência do pH baixo e do Fe sobre piretro recentemente introduzidos em altitudes elevadas	81	MILHO no Estado do Piauí no ano agrícola de 1998/1999/ Estabilidade de variedades e híbridos de	151
FOLHAS da manta orgânica de diferentes coberturas vegetais, submetidas à oxidação com H_2O_2 / Análise térmica diferencial de	135	MILHO no Nordeste brasileiro no ano agrícola 1998/1999/ Adaptabilidade e estabilidade de híbridos de	95
FUNGICIDAS <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> para o controle da vassoura-de-bruxa do cacau no Sul da Bahia/ Seleção de	111	MILHO no Nordeste brasileiro no ano agrícola de 1998/99/ Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de	21
FUNGO MICORRÍZICO <i>Glomus clarum</i> em mudas de pupunheira (<i>Bactris gasipaes</i> H.B.K.)/ Bactérias diazotróficas e	181	MUDAS de pupunheira (<i>Bactris gasipaes</i> H.B.K.)/ Bactérias diazotróficas e fungo micorrízico <i>Glomus clarum</i> em	181
GERMOPLASMA de <i>Desmanthus virgatus</i> (L.) Willd. no Estado de Sergipe/ Coleta de	119	NOCTUIDAE) no cultivo do cacau no Tabasco, México/ Danos causados pela <i>Hemeroblemma mexicana</i> (Guenee) (Lepidoptera:	143
<i>Glomus clarum</i> em mudas de pupunheira (<i>Bactris gasipaes</i> H.B.K.)/ Bactérias diazotróficas e fungo micorrízico	181	NORDESTE brasileiro/ Estimativas de parâmetros genéticos na variedade de milho BR 5028 - São Francisco no	15
/HABITAT/ Nova ocorrência de <i>Callistomys pictus</i> (Rodentia; Echimyidae) e aspectos de sua história natural na Bahia	65	NORDESTE brasileiro no ano agrícola 1998/1999/ Adaptabilidade e estabilidade de híbridos de milho no	95
<i>Hancornia speciosa</i> (Gomes) a nível de campo, em diferentes substratos/ Crescimento inicial e sobrevivência de mangabeiras (173	NORDESTE brasileiro no ano agrícola de 1998/99 / Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no	21
<i>Hemeroblemma mexicana</i> (Guenee) (Lepidoptera: Noctuidae) no cultivo do cacau no Tabasco, México/ Danos causados pela	143	NUTRIENTES da manta orgânica de diferentes coberturas vegetais no Sudeste da Bahia/ Lixiviação potencial de	105
<i>Hevea brasiliensis</i> / Poliploidia em seringueira: III - Estudo comparativo entre clones diplóides e novos poliploidies putativos em condições de jardim clonal	45	OXIDAÇÃO com H_2O_2 / Análise térmica diferencial de folhas da manta orgânica de diferentes coberturas vegetais, submetidas à	135
<i>Hevea spp.</i> / Avaliação preliminar de clones de copa de seringueira	41	PARÂMETROS GENÉTICOS na variedade de milho BR 5028 - São Francisco no Nordeste brasileiro/ Estimativas de	15
HÍBRIDAS de cacau em Rondônia, Brasil/ Custo de produção de sementes de variedades	129	PARCERIA no trabalho com agricultores e suas organizações/ Participação e	49
HÍBRIDOS de milho no Estado do Piauí no ano agrícola de 1998/1999/ Estabilidade de variedades e	151	PERNAMBUCO/ Progresso e arranjo espacial da queima das folhas do inhame, causada por <i>Curvularia eragrostidis</i> , na Zona da Mata de	87
HÍBRIDOS de milho no Nordeste brasileiro no ano agrícola 1998/1999/ Adaptabilidade e estabilidade de	95	pH baixo e do Fe sobre piretro recentemente introduzidos em altitudes elevadas/ Influência do	81
INFECÇÕES DE RAMOS e almofadas florais do cacau no por <i>Crinipellis perniciosa</i> / <i>Trichoderma stromaticum</i> sp. nov. na produção de basidiomas e	59	PIAUÍ no ano agrícola de 1998/1999/ Estabilidade de variedades e híbridos de milho no Estado do	151
INOCULAÇÃO e estádio da plântula de cacau no por <i>Crinipellis perniciosa</i> Efeito do método de	167	PIRETO recentemente introduzidos em altitudes elevadas/ Influência do pH baixo e do Fe sobre	81
		PLÂNTULA de cacau, à reação de <i>Crinipellis perniciosa</i> / Efeito do método de inoculação e estádio da	167
		PLÂNTULAS de <i>Citrus</i> micropagadas/ Efeito do uso de antitranspirantes e da redução da umidade na aclimatação de	163

POLIMORFISMO e análise eletroforética de isoenzimas de cacau (<i>Theobroma cacao</i> L.)/ Metodologia,	1	<i>Theobroma cacao/</i> Danos causados pela <i>Hemeroblemma mexicana</i> (Guenee) (Lepidoptera:Noctuidae) no cultivo do cacaueiro em Tabasco, México	143
POLIPLOIDIA em seringueira: III - Estudo comparativo entre clones diplóides e novos poliplóides putativos em condições de jardim clonal	45	/Theobroma cacao/ Efeito do método de inoculação e estádio da plântula de cacaueiro, à reação de <i>Crinipellis perniciosa</i>	167
PRECIPITAÇÃO , o lençol freático e a produção de cacau na Bahia/ Relações entre a	67	/Theobroma cacao/ Formação de basidiomas em culturas de <i>Crinipellis perniciosa</i> pareadas com <i>Xylaria consociata</i>	193
PRODUÇÃO de cacau na Bahia/ Relações entre a precipitação, o lençol freático e a	67	<i>Theobroma cacao/</i> Métodos e protocolos para eletroforese em gel de amido de isoenzimas de <i>Crinipellis perniciosa</i>	7
PUPUNHEIRA (<i>Bactris gasipaes</i> H.B.K.)/ Bactérias diazotróficas e fungo micorrízico <i>Glomus clarum</i> em mudas de	181	<i>Theobroma cacao/</i> Seleção de fungicidas <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> para o controle da vassoura-de-bruxa do cacaueiro na região Sul da Bahia	111
QUEIMA DAS FOLHAS DO INHAME , causada por <i>Curvularia eragrostidis</i> , na Zona da Mata de Pernambuco/ Progresso e arranjo espacial da	87	/Theobroma cacao/ <i>Trichoderma stromaticum</i> sp. nov. na produção de basidiomas e infecções de ramos e almofadas florais do cacaueiro por <i>Crinipellis perniciosa</i>	59
Rhizoctonia solani/ Cancro do caule do inhame, uma nova doença ocorrendo no Brasil, causada por	63	/TRABALHADOR RURAL/ Trabalhadores do cacau: uma avaliação quantitativa	147
RODENTIA ; Echimyidae) e aspectos de sua história natural na Bahia/ Nova ocorrência de <i>Callistomys pictus</i> (65	TRABALHO com agricultores e suas organizações/ Participação e parceria no	49
RONDÔNIA , Brasil/ Custo de produção de sementes de variedades híbridas de cacau em	129	<i>Trichoderma stromaticum</i> sp. nov. na produção de basidiomas e infecções de ramos e almofadas florais do cacaueiro por <i>Crinipellis perniciosa</i>	59
SEMENTES de variedades híbridas de cacau em Rondônia, Brasil/ Custo de produção de	129	UMIDADE na aclimatação de plântulas de <i>Citrus</i> micropagadas/ Efeito do uso de antitranspirantes e da redução da	163
SERGIPE/ Coleta de germoplasma de <i>Desmanthus virgatus</i> (L.) Willd. no Estado de	119	VARIEDADE de milho BR 5028 - São Francisco no Nordeste brasileiro/ Estimativas de parâmetros genéticos na	15
SERINGUEIRA/ Avaliação preliminar de clones de copa de SERINGUEIRA: III - Estudo comparativo entre clones diplóides e novos poliplóides putativos em condições de jardim clonal/ Poliploidia em	41	VARIEDADES e híbridos de milho no Estado do Piauí no ano agrícola de 1998/1999/ Estabilidade de	151
SOBREVIVÊNCIA de mangabeiras (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) a nível de campo, em diferentes substratos/ Crescimento inicial e	45	VASSOURA-DE-BRUXA do cacaueiro na região Sul da Bahia/ Seleção de fungicidas <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> para o controle da	111
SOLOS de plantações de cacau (<i>Theobroma cacao</i> L.)/ Cobre residual em	75	/VASSOURA-DE-BRUXA/ Efeito do método de inoculação e estádio da plântula de cacaueiro, à reação de <i>Crinipellis perniciosa</i>	167
SUDESTE da Bahia/ Lixiviação potencial de nutrientes da manta orgânica de diferentes coberturas vegetais no	105	/VASSOURA-DE-BRUXA/ <i>Trichoderma stromaticum</i> sp. nov. na produção de basidiomas e infecções de ramos e almofadas florais do cacaueiro por <i>Crinipellis perniciosa</i>	59
SUL da Bahia/ Seleção de fungicidas <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> para o controle da vassoura-de-bruxa do cacaueiro na região	111	<i>Xylaria consociata/</i> Formação de basidiomas em culturas de <i>Crinipellis perniciosa</i> pareadas com	193
TABASCO , México/ Danos causados pela <i>Hemeroblemma mexicana</i> (Guenee) (Lepidoptera:Noctuidae) no cultivo do cacaueiro em	143	/Zea mays/ Adaptabilidade e estabilidade de híbridos de milho no Nordeste brasileiro no ano agrícola 1998/1999	95
TAMANHO DE ÁREA e precisão de experimentos de campo com cajueiro em função do número de repetições	35	/Zea mays/ Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Nordeste brasileiro no ano agrícola de 1998/99	21
<i>Theobroma cacao</i> L.)/ Metodologia, polimorfismo e análise eletroforética de isoenzimas de cacau (1	/Zea mays/ Comportamento e estabilidade de produção de cultivares de milho no Estado da Bahia no triênio de 1995/96/97	29
/Theobroma cacao/ Relações entre a precipitação, o lençol freático e a produção de cacau na Bahia	67	/Zea mays/ Estabilidade de variedades e híbridos de milho no Estado do Piauí no ano agrícola de 1998/1999	151
<i>Theobroma cacao</i> L.)/ Cobre residual em solos de plantações de cacau (75	/Zea mays/ Estimativas de parâmetros genéticos na variedade de milho BR 5028 - São Francisco no Nordeste brasileiro	15
/Theobroma cacao/ Custo de produção de sementes de variedades híbridas de cacau em Rondônia, Brasil	129		

KEY WORD INDEX

ACCLIMATIZING micropropagated <i>Citrus</i> plantlets/ Effect of reduced humidity and antitranspirants in <i>Ananas comosus</i> / Influence of benomyl and Benzylaminopurine (BAP) on <i>in vitro</i> proliferation of pineapple buds	163 COCOA by <i>Crinipellis perniciosa/ Trichoderma stromaticum</i> sp. nov. on the production of basidiomatas and on infections of shoots and cushion flowers of	59	
ANTITRANSPIRANTS in acclimatizing micropropagated <i>Citrus</i> plantlets/ Effect of reduced humidity and	189	/CHEMICAL CONTROL/ Screening of fungicides, <i>in vitro</i> an <i>in vivo</i> , for the control of witche's broom disease of cacao in the cacao growing region of Bahia, Brazil	111
ARBUSCULAR MYCORRIZAL FUNGI in plantlets of peyjibae (<i>Bactris gasipaes</i> H.B.K.) diazotrophic bacteria and <i>Bactris gasipaes</i> H.B.K.) diazotrophic bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi in plantlets of peyjibae (BAHIA and aspects of its natural history/ New occurrence of <i>Callistomys pictus</i> (Rodentia; Echimyidae) in BAHIA / Potential nutrient leaching from litter under different plant covers in Southeast of BAHIA / Relationships of rainfall, water table fluctuation and cacao production in BAHIA State from 1995 to 1997/ Behavior and stability of corn cultivars in BAHIA , Brazil/ Screening of fungicides, <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> , for the control of witches' broom disease of cacao in the cacao growing region of BASIDIOMATA in cultures of <i>Crinipellis perniciosa</i> paired with <i>Xylaria consociata</i> / Formation of BASIDIOMATAS and on infections of shoots and cushion flowers of cocoa by <i>Crinipellis perniciosa/ Trichoderma stromaticum</i> sp. nov. on the production of BENOMYL and Benzylaminopurine (BAP) on <i>in vitro</i> proliferation of pineapple buds/ Influence of BENZYLAMINOPURINE (BAP) on <i>in vitro</i> proliferation of pineapple buds/ Influence of benomyl and BIOLOGICAL CONTROL/ Trichoderma stromaticum sp. nov. on the production of basidiomatas and on infections of shoots and cushion flowers of cocoa by <i>Crinipellis perniciosa</i> BRAZIL / Screening of fungicides, <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> , for the control of witches' broom disease of cacao in the cacao growing region of Bahia, BRAZIL / Production cost of hybrid cacao seeds in Rondonia, BRAZIL caused by <i>Rhizoctonia solani</i> / Yam stem canker, a new disease occurring in BRAZIL / Adaptability and stability of maize hybrids in the brazilian northeast region in the season 1998/1999 BRAZIL / Estimatives of genetics parameters of the BR 5028 - São Francisco corn variety for brazilian Northeast BRAZIL / Adaptability and stability of maize in the brazilian Northeast region in the season 1998/99 CACAO (<i>Theobroma cacao</i> L.) isozymes/ Methodology, polymorphism and eletrophoretic analysis of CACAO in the cacao growing region of Bahia, Brazil/ Screening of fungicides, <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> , for the control of witches' broom disease of CACAO production in Bahia/ Relationships of rainfall, water table fluctuation and CACAO seeds in Rondonia, Brazil/ Production cost of hybrid CACAO/ Ocurrence of the sexual stage of <i>Trichoderma stromaticum</i> CACAO (<i>Theobroma cacao</i> L.) plantations soils/ Residual copper in <i>Callistomys pictus</i> (Rodentia; Echimyidae) in Bahia and aspects of its natural history/ New occurrence of <i>Citrus</i> plantlets/ Effect of reduced humidity and antitranspirants in acclimatizing micropropagated CLONES of rubber tree/ Preliminary evaluation of crown CLONES/ Polyploidy in rubber tree: III - comparative study among diploid and the new putative polyploids clones under the conditions of clonal garden	163 COCOA by <i>Crinipellis perniciosa/ Trichoderma stromaticum</i> sp. nov. on the production of basidiomatas and on infections of shoots and cushion flowers of	59	
	181	/Chrysanthemum cinerariaefolium/ Influence of low pH and Fe on newly introduced pyrethrum for high altitude	81
	181	COCOA crop in Tabasco, Mexico/ Damage caused by <i>Hemeroblemma mexicana</i> (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) to	143
	65	COCOA seedlings to <i>Crinipellis perniciosa</i> / Effect of inoculation methods and plants development stage on the reaction of COCOA workers: a quantitative evaluation	167
	105	COCOA/ Formation of basidiomata in cultures of <i>Crinipellis perniciosa</i> paired with <i>Xylaria consociata</i>	147
	67	COPPER in cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) plantations soils/ Residual	75
	29	CORN variety for Brazilian Northeast/ Estimatives of Genetics parameters of the BR 5028 - São francisco	15
	111	CORN cultivars in Bahia State from 1995 to 199/ Behavior and stability of	29
	193	CORN varieties and hybrid corn in Piaui State during agricultural year 1998/1999/ Stability of	151
	59	Crinipellis perniciosa/ Methods and protocols for starch gel electrophoresis of isozymes of	7
	189	Crinipellis perniciosa paired with <i>Xylaria consociata</i> Formation of basidiomata in cultures of	193
	189	Crinipellis perniciosa/ Effect of inoculation methods and plants development stage on the reaction of cocoa seedlings to	167
	59	Crinipellis perniciosa/ Screening of fungicides, <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> , for the control of witches' broom disease of cacao in the cacao growing region of Bahia, Brazil	111
	111	Crinipellis perniciosa/ Trichoderma stromaticum sp. nov. on the production of basidiomatas and on infections of shoots and cushion flowers of cocoa by	59
	129	CROWN clones of rubber tree/ Preliminary evaluation of	41
	63	/CULTIVAR/ Adaptability and stability of maize in the brazilian Northeast region in the season 1998/99	21
	95	CULTIVARS in Bahia State from 1995 to 1997/ Behavior and stability of corn	29
	15	Curvularia eragrostidis , in "Zona da Mata" region of Pernambuco/ Progress and spatial pattern of yam leaf blight, caused by	87
	21	CUSHION FLOWERS of cocoa by <i>Crinipellis perniciosa/ Trichoderma stromaticum</i> sp. nov. on the production of basidiomatas and on infections of shoots and	59
	111	Desmanthus virgatus germplasm in the Sergipe State/ Collection of DIAZOTROPHIC BACTERIA and arbuscular mycorrhizal fungi in plantlets of peyjibae (<i>Bactris gasipaes</i> H.B.K.)	119
	67	/Dioscorea cayennensis/ Progress and spatial pattern of yam leaf blight, caused by <i>Curvularia eragrostidis</i> , in "Zona da Mata" region of Pernambuco	87
	129	/Dioscorea cayennensis/ Yam stem canker, a new disease occurring in Brazil caused by <i>Rhizoctonia solani</i>	63
	195	DISEASE occurring in Brazil caused by <i>Rhizoctonia solani</i> / Yam stem canker, a new	63
	75	ECHIMYIDAE) in Bahia and aspects of its natural history/ New occurrence of <i>Callistomys pictus</i> (Rodentia;	65
	65	Elaeis guineensis var. <i>Pisifera</i>) embryos to media and supplementation / Morphogenetic response of oil palm (ELETROPHORETIC ANALYSIS of cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) isozymes/ Methodology, polymorphism and EMBRYOS to media and supplementation/ Morphogenetic response of oil palm (<i>Elaeis guineensis</i> var. <i>Pisifera</i>)	125

ESTABLISHMENT of mangaba (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) trees in different substrates/ Initial growth and	173	OIL PALM (<i>Elaeis guineensis</i> var. <i>Pisifera</i>) embryos to media and supplementation/ Morphogenetic response of	125
EXPERIMENTAL AREA size and precision of perennial arboreal plants trials/ Influence of the plot and number of replicates on the	35	OXIDATION by H_2O_2 / Differential thermal analysis of litter leaves from different plant covers submitted to	135
/FARMERS/ Participation and partnership in the work with growers and their organizations	49	PARTNERSHIP in the work with growers and their organizations/ Participation and	49
FE on newly introduced pyrethrum for high altitude/ Influence of low pH and	81	PERENNIAL ARBOREAL PLANTS trials/ Influence of the plot and number of replicates on the experimental area size and precision of	35
FUNGICIDES , <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> , for the control of witches' broom disease of cacao in the cacao growing region of Bahia, Brazil/ Screening of	111	PERNAMBUKO/ Progress and spatial pattern of yam leaf blight, caused by <i>Curvularia eragrostidis</i> , in "Zona da Mata" region of	87
GEL ELECTROPHORESIS of isozymes of <i>Crinipellis perniciosa</i> / Methods and protocols for starch	7	PEYJIBAE (<i>Bactris gasipaes</i> H.B.K.) diazotrophic bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi in plantlets of	181
GENETICS PARAMETERS of the BR 5028 - São Francisco corn variety for brazilian Northeast/ Estimatives of	15	pH and Fe on newly introduced pyrethrum for high altitude/ Influence of low	81
GERMPLASM in the Sergipe State/ Collection of <i>Desmanthus virgatus</i>	119	PIAUI State during agricultural year 1998/1999/ Stability of corn varieties and hybrid corn in	151
GROWTH and establishment of mangaba (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) trees in different substrates/ Initial	173	PINEAPPLE buds/ Influence of benomyl and Benzylaminopurine (BAP) on <i>in vitro</i> proliferation of	189
/HABITATS/ New occurrence of <i>Callistomys pictus</i> (Rodentia; Echimyidae) in Bahia and aspects of its natural history	65	PLANT COVERS in Southeast of Bahia/ Potential nutrient leaching from litter under different	105
<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) trees in different substrates/ Initial growth and establishment of mangaba (173	PLANT COVERS submitted to oxidation by H_2O_2 / Differential thermal analysis of litter leaves from different	135
Hemerolemma mexicana (Guenée) (Lepidoptera: Noctuidae) to cocoa crop in Tabasco, Mexico/ Damage caused by	143	PLANTLETS/ Effect of reduced humidity and antitranspirants in acclimatizing micropropagated <i>Citrus</i>	163
/Hevea brasiliensis/ Polyploidy in rubber tree: III - comparative study among diploid and the new putative polyploids clones under the conditions of clonal garden	45	PLANTLETS of peyjibae (<i>Bactris gasipaes</i> H.B.K.) diazotrophic bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi in	181
/Hevea spp./ Preliminary evaluation of crown clones of rubber tree	41	POLYMORPHISM and elektrophoretic analysis of cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) isozymes/ Methodology,	1
HUMIDITY and antitranspirants in acclimatizing micropropagated <i>Citrus</i> plantlets/ Effect of reduced	163	POLYPLOIDY in rubber tree: III - comparative study among diploid and the new putative polyploids clones under the conditions of clonal garden	45
HYBRID cacao seeds in Rondonia, Brazil/ Production cost of	129	PRODUCTION COST of hybrid cacao seeds in Rondonia, Brazil	129
HYBRID corn in Piaui State during agricultural year 1998/1999/ Stability of corn varieties and	151	PRODUCTION in Bahia /Relationships of rainfall, water table fluctuation and	67
HYBRIDS in the brazilian northeast region in the season 1998/1999/ Adaptability and stability of maize	95	PYRETHRUM for high altitude/ Influence of low pH and Fe on newly introduced	81
/Hypocrea stromatica/ Ocurrence of the sexual stage of <i>Trichoderma stromaticum</i>	195	RAINFALL , water table fluctuation and cacao production in Bahia/ Relationships of	67
INOCULATION methods and plants development stage on the reaction of cocoa seedlings to <i>Crinipellis perniciosa</i> / Effect of	167	Rhizoctonia solani/ Yam stem canker, a new disease occurring in Brazil caused by	63
ISOZYMES/ Methodology, polymorphism and elektrophoretic analysis of cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	1	RODENTIA ; Echimyidae) in Bahia and aspects of its natural history/ New occurrence of <i>Callistomys pictus</i> (65
ISOZYMES of <i>Crinipellis perniciosa</i> / Methods and protocols for starch gel electrophoresis of	7	RONDONIA , Brazil/ Production cost of hybrid cacao seeds in	129
LEACHING from litter under different plant covers in Southeast of Bahia/ Potential nutrient	105	RUBBER TREE/ Preliminary evaluation of crown clones of	41
LEPIDOPTERA: Noctuidae) to cocoa crop in Tabasco, Mexico/ Damage caused by <i>Hemerolemma mexicana</i> (Guenée) (143	RUBBER TREE: III - comparative study among diploid and the new putative polyploids clones under the conditions of clonal garden polyploidy in	45
LEAVES from different plant covers submitted to oxidation by H_2O_2 / Differential thermal analysis of litter	135	/RURAL WORKERS/ Cocoa workers: a quantitative evaluation	147
LITTER leaves from different plant covers submitted to oxidation by H_2O_2 / Differential thermal analysis of	135	SEEDLINGS to <i>Crinipellis perniciosa</i> / Effect of inoculation methods and plants development stage on the reaction of cocoa	167
LITTER under different plant covers in Southeast of Bahia/ Potential nutrient leaching from	105	SEEDS in Rondonia, Brazil/ Production cost of hybrid cacao	129
MAIZE hybrids in the brazilian northeast region in the season 1998/1999/ Adaptability and stability of	95	SERGIPE State/ Collection of <i>Desmanthus virgatus</i> germplasm in the	119
MAIZE in the brazilian Northeast region in the season 1998/99/ Adaptability and stability of	21	SHOOTS and cushion flowers of cocoa by <i>Crinipellis perniciosa</i> / <i>Trichoderma stromaticum</i> sp. nov. on the production of basidiomatas and on infections of	59
MANGABA (<i>Hancornia speciosa</i> Gomes) trees in different substrates/ Initial growth and establishment of	173	SOILS/ Residual copper in cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) plantations	75
MEXICO/ Damage caused by <i>Hemerolemma mexicana</i> (Guenée) (Lepidoptera:Noctuidae) to crop in Tabasco,	143	TABASCO , Mexico/ Damage caused by <i>Hemerolemma mexicana</i> (Guenée) (Lepidoptera:Noctuidae) to crop in	143
/MICROPROPAGATION/ Effect of reduced humidity and antitranspirants in acclimatizing micropropagated <i>Citrus</i> plantlets	163	/Theobroma cacao/ Damage caused by <i>Hemerolemma mexicana</i> (Guenée) (Lepidoptera:Noctuidae) to crop in	143
NOCTUIDAE/ to cocoa crop in Tabasco, Mexico/ Damage caused by <i>Hemerolemma mexicana</i> (Guenée) (Lepidoptera:	143	Theobroma cacao L.) isozymes/ Methodology, polymorphism and elektrophoretic analysis of cacao (1
NUTRIENT leaching from litter under different plant covers in Southeast of Bahia/ Potential	105		

<i>Theobroma cacao</i> L.) plantations soils/ Residual copper in cacao	75	VARIETY for brazilian Northeast/ Estimatives of genetics parameters of the BR 5028 - São Francisco corn variety for brazilian Northeast	15
<i>/Theobroma cacao/</i> Methods and protocols for starch gel electrophoresis of isozymes of <i>Crinipellis perniciosa</i>	7	WATER TABLE fluctuation and cacao production in Bahia/ Relationships of rainfall,	67
<i>/Theobroma cacao/</i> Effect of inoculation methods and plants development stage on the reaction of cocoa seedlings to <i>Crinipellis perniciosa</i>	167	WITCHES' BROOM disease of cacao in the cacao growing region of Bahia, Brazil/ Screening of fungicides, <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> , for the control of	111
<i>/Theobroma cacao/</i> Formation of basidiomata in cultures of <i>Crinipellis perniciosa</i> paired with <i>Xylaria consociata</i>	193	/WITCHES' BROOM/ Effect of inoculation methods and plants development stage on the reaction of cocoa seedlings to <i>Crinipellis perniciosa</i>	167
<i>/Theobroma cacao/</i> Ocurrence of the sexual stage of <i>Trichoderma stromaticum</i>	195	/WITCHES' BROOM/ <i>Trichoderma stromaticum</i> sp. nov. on the production of basidiomatas and on infections of shoots and cushion flowers of cocoa by <i>Crinipellis perniciosa</i>	59
<i>/Theobroma cacao/</i> Production cost of hybrid cacao seeds in Rondonia, Brazil	129	WORK with growers and their organizations/ Participation and partnership in the	49
<i>/Theobroma cacao/</i> Screening of fungicides, <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> , for the control of witches' broom disease of cacao in the cacao growing region of Bahia, Brazil	111	<i>Xylaria consociata/</i> Formation of basidiomata in cultures of <i>Crinipellis perniciosa</i> paired with	193
<i>Theobroma cacao/</i> <i>Trichoderma stromaticum</i> sp. nov. on the production of basidiomatas and on infections of shoots and cushion flowers of cocoa by <i>Crinipellis perniciosa</i>	59	YAM LEAF BLIGHT , caused by <i>Curvularia eragrostidis</i> , in "Zona da Mata" region of Pernambuco/ Progress and spatial pattern of	87
<i>/Theobroma cacao/</i> Relationships of rainfall, water table fluctuation and cacao production in Bahia	67	YAM STEM CANKER , a new disease occurring in Brazil caused by <i>Rhizoctonia solani</i>	63
TISSUE CULTURE/ Influence of benomyl and Benzylaminopurine (BAP) on <i>in vitro</i> proliferation of pineapple buds	189	/Zea mays/ Behavior and stability of corn cultivars in Bahia State from 1995 to 1997	29
TISSUE CULTURE/ Morphogenetic response of oil palm (<i>Elaeis guineensis</i> var. <i>Pisifera</i>) embryos to media and supplementation	125	/Zea mays/ Adaptability and stability of maize in the brazilian Northeast region in the season 1998/99	21
<i>Trichoderma stromaticum</i> sp. nov. on the production of basidiomatas and on infections of shoots and cushion flowers of cocoa by <i>Crinipellis perniciosa</i>	59	Zea mays/ Estimatives of genetics parameters of the BR 5028 - São Francisco corn variety for brazilian Northeast	15
VARIETIES and hybrid corn in Piauí State during agricultural year 1998/1999/ Stability of corn	151	/Zea mays/ Stability of corn varieties and hybrid corn in Piauí State during agricultural year 1998/1999	151

AGRADECIMENTOS AOS CONSULTORES CIENTÍFICOS

Em 2000, a Comissão de Editoração do CEPEC contou com a colaboração de especialistas, pertencentes ou não ao quadro da CEPLAC, que, como consultores científicos, revisaram os trabalhos recebidos para publicação, contribuindo, dessa maneira, para melhorar o seu conteúdo e apresentação.

A todos eles, essa Comissão expressa os seus mais sinceros agradecimentos, esperando continuar recebendo deles a sua valiosa colaboração.

- Acelino Couto Alfenas (1) UFV/BIOAGRO
- André Mauricio Vieira de Carvalho (1) CEPLAC/CEPEC
- Angelo Mansur Mendes (1) EMBRAPA/CPAF - RO
- Antônio Figueira (2) CENA/USP
- Arnaldo Colozzi Filho (1) EMBRAPA/IAPAR - PR
- Carmem Suarez (2) INIAP - Ecuador
- Cleber Novais Bastos (4) CEPLAC/SUPOR
- Edna Dora Martins N. Luz (1) CEPLAC/CEPEC
- Elio José Alves (1) EMBRAPA/CNPMF
- Elisabete Rodrigues (1) CEPLAC/CEPEC
- Fábio Gelape Faleiro (1) CEPLAC/CEPEC
- Francisco José L. Aragão (1) EMBRAPA/CENARGEN
- Francisco X. de Souza (1) EMBRAPA Agroindústria Tropical
- George Andrade Sodré (1) CEPLAC/CEPEC
- Gilberto Mascarenhas (2) CEPLAC/CEPEC
- Helomar Ramalho Duarte (2) CEPLAC/CENEX
- Hermes Alves de Almeida (1) UESC/BA
- Hilmar H. de Santana (1) UESC/DCEC-BA
- Hortência Pousada Batista (1) UNEB/IBGE
- Jacques H. C. Delabie (1) CEPLAC/CEPEC
- João de Cássia do Bomfim Costa (1) CEPLAC/CEPEC
- José Antônio Cordeiro (1) UNESP/SP
- José Antônio Peter (3) CEPLAC/CEPEC
- José Luiz Bezerra (3) CEPLAC/CEPEC
- José Luis Pires (1) CEPLAC/CEPEC
- José Marques Pereira (1) CEPLAC/CEPEC
- José Raimundo Bonadie Marques (1) CEPLAC/CEPEC
- Lindolfo P. dos Santos Filho (1) CEPLAC/CEPEC
- Luiz Carlos B. Nasser (2) EMBRAPA/CPAC
- Luiza H. I. Nakayama (2) CEPLAC/SUPOC
- Marcio Carvalho Marques Porto (1) EMBRAPA/CNPMF
- Manoel Malheiros Tourinho (1) FCAP - Belém - PA
- Marco Antônio Galeas Aguillar (2) CEPLAC/CEPEC
- Marcos S. Bernardes (1) USP/ESALQ
- Marival Lopes de Oliveira (2) CEPLAC/CEPEC
- Miguel Moreno Ruiz (3) CEPLAC/CEPEC
- Milton Macoto Yamada (3) CEPLAC/CEPEC
- Nilton Junqueira (1) EMBRAPA/CPAC
- Olivia Cordeiro de Almeida (1) CEPLAC/CEPEC
- Paulo César Lima Marrocos (5) CEPLAC/CEPEC
- Paulo de Souza Gonçalves (1) IAC – Campinas/SP
- Paulo Sérgio B. de Albuquerque (1) CEPLAC/SUPOR
- Paulo dos Santos Terra (2) UESC/BA
- Quintino Reis Araújo (1) CEPLAC/CEPEC
- Rafael E. Chepote (1) CEPLAC/CEPEC
- Ranulfo Correia Caldas (1) EMBRAPA/CNPMF
- Raul René Valle (3) CEPLAC/CEPEC
- Reginaldo da Silva Romeiro (1) UFV/MG
- Rita Bordignon (3) IAC/ Campinas/SP
- Rogério de Melo Costa Pinto (5) UESC/DCAA-BA
- Rosalina Midlej (1) CEPLAC/CEPEC
- Salvador D. P. Trevizan (1) UESC/BA
- Sirio Wietholter (1) EMBRAPA/CNPT/Passo Fundo/RS
- Sizernando Luiz de Oliveira (1) EMBRAPA/CNPMF
- Stela Dalva Vieira Midlej Silva (1) CEPLAC/CEPEC
- Vicente H. de F. Morais (1) EMBRAPA/CPAA
- Victor Ferreira de Souza (1) EMBRAPA/Rondônia
- Walter Maia (1) CEPLAC/CEPEC

* Os números entre parênteses, após os consultores, indicam o número de trabalhos revisados.

Pau Brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.)

Da 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 constitui-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).



Abis/70

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