

Agrotropical

Volume 19, nº único, Janeiro a Dezembro de 2007



Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

Centro de Pesquisas do Cacau
Ilhéus - Bahia



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

Ministro: Reinhold Stephanes

Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira - CEPLAC

Diretor: Gustavo Costa Moura

Superintendência Regional da Bahia (SUEBA)

Superintendente: Geraldo Dantas Landim

Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC)

Chefe: Jonas de Souza

Centro de Extensão (CENEX)

Chefe: Cloildo Guanaes Mineiro

Superintendência Regional da Amazônia Ocidental - SUPOC

Superintendente: Francisco Chagas R. Sobrinho

Superintendência Regional da Amazônia Oriental - SUPOR

Superintendente: Jay Wallace da Silva Mota

Agrotropica, 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, Exerp Medical, Food Science & Technology Abstracts, Indíce Agricola de America Latina y el Caribe, Nutrition Abstracts, Protozool. Abstracts, Review of Applied Entomology, Seed Abstracts, Tropical Oil Seeds Abstracts).

POLÍTICA EDITORIAL

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

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

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

EDITORIAL POLICY

AGROTRÓPICA is a Journal published 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 A. Moreno Ruiz e Milton Macoto Yamada.

Editor: Miguel Antonio Moreno Ruiz

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

Normalização de referências bibliográficas: Maria Christina de C. Faria

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

Capa: Gildefran Alves Aquino de Assis

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. E-mail: sidoc@cepec.gov.br

Endereço para correspondência:

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

Telefone: (73) 3214 -3217

Fax: (73) 3214 - 3218

E-mail: agrotrop@cepec.gov.br

Tiragem: 500 exemplares

AGROTRÓPICA

V.19

Janeiro - dezembro

2007

N. único

CONTEÚDO

ARTIGOS

- 5 Mirmecofauna (Hymenoptera; Formicidae) da serapilheira de um cacau inundável do agrossistema do Rio Mucuri, Bahia: considerações sobre conservação da fauna e controle biológico de pragas. **J. H. C. Delabie, L. S. Ramos, J. R. M. dos Santos, S. Campiolo, C. L. Galvão Sanches.**
- 13 Biogeografia das formigas predadoras do gênero *Ectatomma* (Hymenoptera: Formicidae: Ectatomminae) no leste da Bahia e regiões vizinhas. **J. H. C. Delabie, H. S. R. Alves, V. C. França, P. T. de A. Martins, I. C. do Nascimento.**
- 21 Agricultura familiar: elementos teóricos e empíricos. **H. Schmitz, D. M. da Mota.**
- 31 Otimização de isolado de DNA da arequeira (*Areca catechu* L.) e a técnica do RAPD (em inglês). **Rajesh M. K., Bharathi M., Nagarajan P.**
- 35 Substratos para enraizamento e crescimento de clones de cacaueiro. **G. A. Sodrê, J. E. Corá, A. B. Pereira, J. T. de Magalhães.**
- 39 Substratos para enraizamento de miniestacas de cacaueiro. **G. A. Sodrê, J. E. Cora.**
- 43 Performance de cultivares de milho com base na análise de estabilidade fenotípica no Meio-Norte brasileiro. **M. J. Cardoso, H. W. L. de Carvalho, A. R. Santos Rodrigues, S. S. Rodrigues.**
- 49 Características patológicas e culturais de alguns fungos fitopatogênicos da bananeira. **M. M. C. Assunção, M. A. de Q. Cavalcanti, M. Menezes.**
- 57 Identificação de marcadores microssatélites potencialmente associados à resistência à vassoura-de-bruxa e podridão-parda numa população de cacaueiro (*Theobroma cacao* L.). **A. Dantas Neto, R. X. Corrêa, W. R. Monteiro, F. A. Gaiotto, U. V. Lopes.**
- 63 Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho na Zona agreste do Nordeste brasileiro na safra de 2006. **V. D. de Oliveira, H. W. L. de Carvalho, M. J. Cardoso, M. A. Lira, M. H. B. Cavalcante, S. S. Ribeiro.**

NOTAS CIENTÍFICAS

- 69 Fungos micorrízicos em solos cultivados com cacau na Mata Atlântica da Bahia, Brasil (em inglês). **Q. R. de Araujo, O. C. de Almeida, S. O. de Santana, B. T. Goto, U. M. T. Cavalcante, J. L. Bezerra, P. C. Lima Marrocos.**
- 73 Estabelecimento e otimização de protocolo para obtenção de marcadores microssatélites em *Theobroma cacao* utilizando o sistema multiplex em sequenciador ABI PRISM 377. **M. M. Yamada, K. P. Gramacho, F. G. Faleiro, A. Dantas Neto, R. F. dos Santos.**



**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 A. Moreno Ruiz and Milton Macoto Yamada.

Editor: Miguel Antonio Moreno Ruiz

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

Revision of bibliographical references: Maria Christina de C. Faria

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

Cover: Gildefran Alves Aquino de Assis

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. E-mail: sidoc@cepec.gov.br

Address for correspondence:

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

Telephone: 55 (73) 3214 - 3217

Fax: 55 (73) 3214-3218

E-mail: agrotrop@cepec.gov.br

Circulation: 500 copies.

CONTENTS

ARTICLES

- 5 The ant fauna (Hymenoptera; Formicidae) of the litter of an inundating cocoa plantation along the Mucuri River, Bahia: considerations on fauna conservation and biological control of pests (in Portuguese). **J. H. C. Delabie, L. S. Ramos, J. R. M. dos Santos, S. Campiolo, C. L. Galvão Sanches.**
- 13 Biogeography of the predator ants of the genus *Ectatomma* (Hymenoptera: Formicidae: Ectatomminae) in Eastern Bahia and neighbouring regions (in Portuguese). **J. H. C. Delabie, H. S. R. Alves, V. C. França, P. T. de A. Martins, I. C. do Nascimento.**
- 21 Peasant agriculture: theoretical and empirical viewpoints (in Portuguese). **H. Schmitz, D. M. da Mota.**
- 31 Optimization of DNA isolation and RAPD technique in Arecanut (*Areca catechu* L.). **Rajesh M. K., Bharathi M., Nagarajan P.**
- 35 Substrates to rooting and growing of cacao clones (in Portuguese). **G. A. Sodr , J. E. Cor , A. B. Pereira, J. T. de Magalhães.**
- 39 Substrates to rooting of cocoa minicuttings (in Portuguese). **G. A. Sodr , J. E. Cor .**
- 43 Corn cultivars performance with base in the phenotype stability analysis in the Brazilian Middle-North (in Portuguese). **M. J. Cardoso, H. W. L. de Carvalho, A. R. Santos Rodrigues, S. S. Rodrigues.**
- 49 Pathological and cultural characteristics of some phytopathogenic fungi of banana trees (in Portuguese). **M. M. C. Assun o, M. A. de Q. Cavalcanti, M. Menezes.**
- 57 Identification of microsatellite markers potentially linked to witches' broom and Phytophthora pod rot resistance genes (in Portuguese). **A. D. Neto, R. X. Corrêa, W. R. Monteiro, F. A. Gaiotto, U. V. Lopes.**
- 63 Adaptability and stability of corn cultivars in the Brazilian northeast agreste during 2006 agricultural year (in Portuguese). **V. D. de Oliveira, H. W. L. de Carvalho, M. J. Cardoso, M. A. Lira, M. H. B. Cavalcante, S. S. Ribeiro.**

SCIENTIFICS NOTES

- 69 Mycorrhizal fungi in soils cultivated with cocoa in Atlantic rain forest, Bahia, Brazil. **Q. R. de Araujo, O. C. de Almeida, S. O. de Santana, B. T. Goto, U. M. T. Cavalcante, J. L. Bezerra, P. C. Lima Marrocos.**
- 73 Establishment and protocol optimization to obtaining microsatellite markers in *Theobroma cacao* using multiplex system in ABI PRISM 377 sequencer (in Portuguese). **M. M. Yamada, K. P. Gramacho, F. G. Faleiro, A. Dantas Neto, R. F. dos Santos.**

Instruções aos Autores

1. O original para publicação em português, inglês ou espanhol, deve ter no máximo 18 páginas numeradas, em formato A4 (21,0 x 29,7 cm), fonte Times New Roman, corpo 12, espaço 1,5 (exceto Resumo e Abstract, em espaço simples), digitado em Word. O artigo deverá ser encaminhado à Comissão Editorial da revista em 4 vias impressas e também em CD. No rodapé da primeira página deverão constar o endereço postal completo e o endereço eletrônico do(s) autor(s). Em três das quatro vias impressas, deverão ser omitidos o(s) nome(s) do autor(es) e agradecimentos, pois essas vias serão enviadas a assessores científicos para análise. As figuras e tabelas devem vir à parte.

2. Os artigos devem conter: título, resumo, abstract, introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos e literatura citada.

3. Os artigos científicos e notas científicas devem conter introdução que destaque os antecedentes, a importância do tópico e revisão de literatura. Nos materiais e métodos deve-se descrever os materiais e métodos usados, incluindo informações sobre localização, época, clima, solo etc., bem como nomes científicos se possível completos de plantas, animais, patógenos etc., o desenho experimental e recursos de análise estatística empregados. Os resultados e discussão poderão vir juntos ou separados e devem incluir tabelas e figuras com suas respectivas análises estatísticas. As conclusões devem ser frases curtas, com o verbo no presente do indicativo, sem comentários adicionais e derivadas dos objetivos do artigo.

4. **Título** - Deve ser conciso e expressar com exatidão o conteúdo do trabalho, com no máximo 15 palavras.

5. **Resumo e Abstract** - Devem conter no máximo 200 palavras; Abstract deve ser tradução fiel do resumo.

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

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

8. **Figuras** - (gráficos, desenhos, mapas) devem ser apresentadas com qualidade que permita boa reprodução gráfica; devem ter 8,2 cm ou 17 cm de largura; as fotografias devem ser escaneadas com 300 dpi e gravadas em arquivo TIF, separadas do texto.

9. **Tabelas** - As tabelas devem ser apresentadas em Word ou Excel, e os dados digitados em Times New Roman 12.

10. **Literatura Citada** - No texto as referências devem ser citadas da seguinte forma: Silva (1990) ou (Silva, 1990).

A normalização das referências deve seguir os exemplos abaixo:

PERIÓDICO

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

LIVRO

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

PARTE DE LIVRO

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

DISSERTAÇÃO

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

TESE

ROHDE, G. M. 2003. Economia ecológica da emissão antropogênica de CO₂ - Uma abordagem filosófica-científica sobre a efetuação humana alopoiética da terra em escala planetária. Tese Doutorado. Porto Alegre, UFRGS/IB. 235p.

MONOGRAFIA SERIADA

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

PARTE DE EVENTO

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

A literatura citada deverá referir-se unicamente a trabalhos completos publicados nos últimos 5 anos.

11. **Correspondência de encaminhamento** do artigo deverá ser assinada pelo autor e co-autores.

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

Os autores receberão 10 separatas do seu artigo publicado.

Guidelines to Authors

1 - The manuscript for publication in Portuguese, English or Spanish, not exceed 18 numbered pages, format A4 (21.0 x 20.7 cm), in Times New Roman, 12, 1.5 spaced (except Resumo and Abstract, simple spaced) typed in Word. The article must be addressed to the Editorial Commission in 4 printed copies and also in CD copy. Complete mailing address and e-mail of the author(s) must appear at the bottom of first page. Three out of the four copies should not state the author's name or acknowledgements, since these copies will go to reviewers. Figures (drawings, maps, pictures and graphs) and tables should be sent separately and ready for publication;

2 - Articles must contain: title, abstract, introduction, material and methods, results and discussion, conclusions, acknowledgements and literature cited (references);

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

4 - Title - It must be concise (not exceed 15 words) and express the real scope of the work.

5 - Abstract - No more than 200 words.

6 - Key words - Six at most, and should not be present in the title.

7 - Measurement units - Use only the International System.

8 - Figures (drawings, maps, pictures and graphs) - They must possess good quality for graphic reproduction; size 8.2 cm or 17 cm wide; photos should be scanned at 300 dpi and recorded, out of the text, in TIF file.

9 - Tables - It should be present in Word or Excel and data typed in Times New Roman, 12.

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

PERIODICALS

REIS, E. L. 1996. Métodos de aplicação e

fracionamentos de fertilizantes no desenvolvimento da seringueira (*Hevea brasiliensis*) no Sul da Bahia. *Agrotrópica* (Brasil) 8(2): 39 - 44.

BOOKS

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

BOOK CHAPTERS

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

DISSERTATION

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

THESIS

ROHDE, G. M. 2003. Economia ecológica da emissão antropogênica de CO₂ - Uma abordagem filosófica-científica sobre a efetuação humana alopoiética da terra em escala planetária. Tese Doutorado. Porto Alegre, UFRGS/IB. 235p.

SERIAL MONOGRAPHS

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

PART OF MEETINGS

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

Literature cited should include only published papers in the last 5 years.

11. Correspondence of guiding will have to be signed by the author and co-authors.

After attending the corrections of the reviewers the author should return to the Editor a definitive copy of the corrected version and CD copy in the software recommended by the editors.

Authors will receive 10 reprints of their published paper.

MIRMECOFAUNA (HYMENOPTERA; FORMICIDAE) DA SERAPILHEIRA DE UM CACAUAL INUNDÁVEL DO AGROSSISTEMA DO RIO MUCURI, BAHIA: CONSIDERAÇÕES SOBRE CONSERVAÇÃO DA FAUNA E CONTROLE BIOLÓGICO DE PRAGAS

Jacques Hubert Charles Delabie^{1,2}, Lucimeire Souza Ramos¹, José Raimundo Maia dos Santos¹, Sofia Campiolo^{1,3}, Charles Leonel Galvão Sanches^{1,2}

¹U.P.A. Laboratório de Mirmecologia. Convênio UESC/CEPLAC, Centro de Pesquisas do Cacau, C.P. 7, 45600-970, Itabuna-BA, Brasil. E-mail: delabie@cepec.gov.br

²Departamento de Ciências Agrônômicas e Ambientais, Universidade Estadual de Santa Cruz, Km 16 rod. Ilhéus-Itabuna, 45660-000 Ilhéus-BA, Brasil.

³Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz.

Na região de Mucuri, Bahia, área do domínio Mata Atlântica, a floresta primária praticamente desapareceu sendo substituída por pastagens e principalmente pela monocultura de eucaliptos. Nesta região, o cultivo de cacau se dá ao longo do Rio Mucuri, em áreas anteriormente ocupadas por mata de galeria. Os cacauzeiros da região foram estabelecidos no sistema cabruca, em solos aluviais quaternários extremamente férteis, sujeitos a inundações irregulares. Além do mais, encontram-se em relativo isolamento de áreas de remanescentes florestais e das demais regiões produtoras de cacau do sul da Bahia ou do Espírito Santo. O objetivo deste trabalho foi avaliar a fauna de formigas da serapilheira do agrossistema cacauzeiro de Mucuri, segundo critérios de conservação da fauna e da presença potencial de agentes de controle biológico. Observou-se que a fauna se encontra empobrecida quando comparada às áreas de cacau-cabruca mais extensas e mais próximas de remanescentes florestais. Apesar disso, ainda apresenta espécies de interesse conservacionista. Quanto à presença de agentes potenciais de controle biológico, observa-se a ausência de formigas predadoras importantes, normalmente presentes em outras regiões. Estes fatos podem se dar devido a três fatores principais: a) efeito das inundações irregulares que podem eliminar uma fração importante da fauna do solo; b) existência de um lençol freático pouco profundo, que impede a nidificação de numerosas espécies de formigas terrícolas; e c) isolamento de áreas que possam servir de fonte de recolonização de espécies, em caso de extinção local. Conclui-se que as cabucas em solos inundáveis e isoladas têm um interesse limitado para conservação da fauna de artrópodes hipogea e epigea, mas que seu valor para conservação de outros segmentos da fauna merece ser cautelosamente avaliado. Quanto aos aspectos de controle biológico, a ausência de importantes espécies predadoras pode levar a uma maior incidência de insetos fitófagos.

Palavras-chave: Formicidae, *Theobroma cacao*, sustentabilidade, solos inundáveis, comunidade.

The ant fauna (Hymenoptera; Formicidae) of the litter of an inundating cocoa plantation along the Mucuri River, Bahia: considerations on fauna conservation and biological control of pests.

In the Mucuri region, Bahia, Brazil, in the Mata Atlântica dominion, the primary forest has almost disappeared and has been substituted by pastures and mostly, eucalyptus monoculture. In this region, the cocoa is planted along the Mucuri River, in areas occupied before by gallery forests. The cocoa plantations have been established in the region according the cabruca system, on extremely fertile quaternary alluvial soils, that suffer irregular inundations. Furthermore, they are in a relative isolation from forest remnants and other cocoa producer regions of southern Bahia and Espírito Santo. The objective of this research is an evaluation of the leaf-litter ants in the Mucuri agrosystem, following criteria of fauna conservation and potential occurrence of biological control agents. It has been observed that the fauna is poorer when compared to more extensive areas of cocoa-cabruca, closer from forest remnants. Although that, it still maintain species of conservationist interest. From the point of view of biological control agents, it has been observed the absence of important predatory ants, normally present in other regions. These observations are due to three main factors: a) effect of irregular inundations that eliminate an important fraction of the soil fauna; b) occurrence of a superficial phreatic nape that does not allow the nesting of a range of terricolous species; and c) isolation from areas, possible sources of species recolonisation, in case of local extinction. It is concluded that the cabucas in inundated soils and isolated situation have a limited interest for the conservation of hypogeaic and epigeaic arthropod fauna, but that its value for conservation of other fauna segments deserves a careful evaluation. Regarding the biological control aspects, the absence of important predatory species may allow a larger incidence of phytophagous insects.

Key words: Formicidae, *Theobroma cacao*, sustentability, inundating soils, community.

Introdução

Devido à posição de organismos dominantes nos ecossistemas tropicais, a organização das comunidades de formigas (Hymenoptera : Formicidae) dos cacauais já foi objeto de inúmeras publicações. Pelas implicações diretas ou indiretas no controle biológico natural das pragas, o ambiente de cultivo do cacaueteiro, *Theobroma cacao* L. (Malvaceae), é, sem dúvida, o agrossistema tropical melhor estudado deste ponto de vista (Strickland, 1945; Bruneau de Mire, 1969; Leston, 1970, 1978; Room, 1971, 1973, 1975; Vello e Magalhães, 1971; Entwistle, 1972; Majer, 1972, 1976a, 1976b, 1982, 1986, 1993, 1994; Taylor, 1977; Winder, 1978; Delabie, 1988, 1990; Way e Khoo, 1992; Belshaw e Bolton, 1993; Majer e Delabie, 1993; Medeiros et al., 1993, 1999; Majer et al., 1994; Delabie e Fowler, 1993, 1995; Delabie et al., 1994a, 1999, 2000a e b; Fowler e Delabie, 1995; Valenzuela González et al., 1995; See e Khoo, 1996; Fowler et al., 1997; Ho e Khoo, 1997; Souza et al., 1998; Maia et al., 2001; Delabie e Mariano, 2001; Lucas et al., 2002, por exemplo). Uma grande parte das pesquisas realizadas em cacauais visa o estudo da estrutura da comunidade de espécies de formigas arborícolas, mas algumas, sobretudo entre os mais recentes, interessam-se mais particularmente pela fauna do solo e da serapilheira cuja natureza e estrutura organizacional são radicalmente diferentes (Belshaw e Bolton, 1993, 1994; Delabie e Fowler, 1993, 1995; Delabie et al., 1994a, 1997, 1999, 2000a-c; Majer e Delabie, 1994; Fowler e Delabie, 1995; Fowler et al., 2000; Johnson et al., 2001; Jahyny et al., 2002; Leponce et al., 2004). Entre os fatos que melhor justificam as pesquisas sobre as formigas dos cacauais no Brasil estão as características desse cultivo como fonte de desenvolvimento sustentável da região sul da Bahia e seu interesse como sistemas que contribuem à conservação da fauna, servindo como corredores ecológicos em áreas de Mata Atlântica (Conservation International, 2000; Saatschi et al., 2001; Bright & Mattoon, 2002). A sustentabilidade de um sistema agroflorestal é baseada no uso e na conservação de um conjunto de espécies animais e vegetais, raramente avaliados, e cuja ação no funcionamento do ecossistema é geralmente discreta, porém imprescindível. Neste contexto, a mirmecofauna é importante porque as cabruças (sistema de plantio onde o sub-bosque é substituído pelos cacaueteiros e as árvores de dossel são mantidas para sombreamento) estão entre os sistemas agroflorestais adaptados à uma das regiões tropicais em que se concentra uma das maiores parcelas da biodiversidade do planeta. O sistema cacaueteiro-cabruça é aquele que mais se assemelha a uma floresta. Além disto, sistemas agrícolas em que não sejam utilizados insumos químicos ou que colaborem para a conservação da biodiversidade local podem agregar valor aos seus

produtos, através da certificação ambiental (Bright, 2002).

Os três principais grupos de agentes na reciclagem dos nutrientes vegetais e animais e na reestruturação dos solos tropicais são as minhocas, os cupins e as formigas, conjuntamente rotulados como “Ecosystem Engineers” (ver Jiménez et al., 2001). Dentro deste contexto, o estudo da comunidade de espécies da serapilheira obteve nestes últimos anos importante sucesso entre os mirmecologistas, devido à importância da família Formicidae nesse estrato nos meios tropicais (vide Fittkau e Klinge, 1973) e, sobretudo, graças ao desenvolvimento da armadilha de Winkler (Besuchet et al., 1987; Agosti et al., 2000), inicialmente desenvolvida para coletas de fungos de solo e Coleoptera. É uma armadilha extremamente eficiente para capturar as formigas crípticas (no sentido ecológico) do solo e da serapilheira, em substituição ao funil de Berleze-Tullgren, mais tradicionalmente utilizado (Bachelier, 1978), cujo uso necessita energia elétrica e possui uma eficiência de extração da fauna um pouco inferior. Um estudo sobre a fauna da serapilheira de um cacaueteiro foi realizado em Ilhéus utilizando esta técnica então recente (Delabie et al., 2000a, 2000b). O aperfeiçoamento dos métodos de coletas das formigas da serapilheira e do solo, e de análise dos dados, tem sido, aliás, uma preocupação constante dos mirmecologistas nos últimos anos (Delabie, 1999; Agosti et al., 2000; Delabie et al., 2000a e b; Leponce et al., 2004).

Baseando-se no conceito de guilda e das suas preferências alimentares e ecológicas (vide Fowler et al., 1991), as formigas da serapilheira dos cacaueteiros já foram objetos de uma classificação em grupos funcionais (Delabie et al., 2000a) e foi feita uma análise das espécies que possuem potencial no controle biológico das pragas da lavoura (Delabie e Mariano, 2001). Além do mais, numerosos pesquisadores avaliam características da mirmecofauna local (“indicadores biológicos”) no intuito de medir o impacto das atividades humanas sobre o espaço natural (vide revisão de Silva e Brandão, 1999).

Não há estudos sobre a entomofauna dos cacaueteiros de Mucuri, a não ser um estudo sobre os coleópteros fitófagos do agrossistema desta região no Extreme-Sul do Estado da Bahia (Benton, 1984). O presente artigo apresenta, então, uma primeira análise da qualidade da fauna de formigas da serapilheira do ambiente cacaueteiro de Mucuri, cujas principais características são 1) seu relativo isolamento das demais regiões produtoras de cacaueteiro do sul da Bahia ou do Espírito Santo, 2) a distribuição tradicional do cultivo ao longo do Rio Mucuri, substituindo as matas de galeria numa região de onde o ecossistema nativo, a Mata Atlântica, praticamente desapareceu em prol da monocultura de eucaliptos; e 3) seu estabelecimento em solos de tipo aluviais quaternários extremamente férteis, mas sujeitos a inundações irregulares. O objetivo deste texto é avaliar a fauna de formigas da

serapilheira do agroecossistema cacauzeiro de Mucuri, fazendo inferências sobre seu potencial em conservação da fauna (como corredor ecológico) e a ocorrência de agentes naturais de controle biológico, ambas importantes fatores contribuindo com a sustentabilidade do agroecossistema.

Material e Método

A área coletada foi um plantio de cacauzeiros adultos do tipo cabruca de cerca de 20 ha (18°06'S 39°50'W), situado no município de Mucuri, extremo sul do Estado da Bahia, perto da divisa com o Estado do Espírito Santo. O cacau está incorporado num assentamento do MST, nas margens do Rio Mucuri, e está bordado por capoeira (vegetação nativa em fase inicial de recuperação) e pastagens. A região produtora de cacau de Mucuri forma uma unidade independente de produção, com cerca de 3.700 hectares plantados (CEPLAC, 1983), a maioria dos cacauais sendo distribuída nas margens do rio homônimo. A densidade de árvores de sombreamento na cabruca estudada é relativamente baixa e irregular, e as árvores são praticamente desprovidas de epífitas. O clima da região é de tipo Am a Aw, segundo a classificação de Köppen, a temperatura média anual varia entre 23 e 25°C, a precipitação pluviométrica, entre 1250 a 1750 mm por ano, com uma umidade relativa do ar incluída entre 80 e 90 % (Roeder, 1975).

As coletas foram realizadas em julho de 2001. Utilizou-se o método padrão de coletas usadas no Laboratório de Mirmecologia (Delabie, 1999), baseadas numa amostragem sistematizada da fauna da camada foliar usando uma armadilha de Winkler (vide Agosti et al., 2000). Foram tomadas 50 amostras de serapilheira (cerca de 3 cm de espessura) de 1 metro quadrado cada, sendo as amostras espaçadas por pelo menos 50 metros e a área total amostrada estimada em 12,5 hectares. O material foi colocado para extração da fauna na armadilha durante um período de 72 horas (sobre o método de extração, vide Agosti et al., 2000). Os insetos foram conservados em álcool para posterior estudo. O material biológico coletado foi triado no Laboratório de Mirmecologia e preparado para coleção entomológica, sendo posteriormente identificado ao nível de espécie ou morfoespécies. “Vouchers” de todos os táxons estão sendo conservados na coleção do Laboratório. A nomenclatura utilizada segue Bolton (1995, 1999, 2003).

O mesmo método permite ainda a separação das espécies características do grupo das espécies raras e “turistas” (acidentalmente encontradas no grupo de armadilhas e não características do ambiente ou do estrato amostrados, segundo Belshaw e Bolton (1993). Esta análise está baseada na riqueza específica, na frequência relativa das espécies encontradas e em comparação com outros

experimentos da região de Ilhéus, cujos dados já foram publicados (Delabie et al., 2000a).

Resultados

Foram coletadas 38 espécies de formigas (média = 5,36 espécies por amostra), distribuídas em 22 gêneros, sendo três espécies em dois gêneros da sub-família Formicinae, 24 espécies em 14 gêneros de Myrmicinae e 11 espécies em seis gêneros de Ponerinae (Tabela 1).

Tabela 1- Formigas coletadas na serapilheira de um cacau de Mucuri, Bahia, armadilhas de Winkler, julho de 2001, ordenação segundo a frequência, n = 50 amostras. Sub-família: EC: Ectatomminae; FO: Formicinae; MY: Myrmicinae; PO: Ponerinae; Guilda: FG: fungívoro (Attini) PE: predador especialista; PG: predador generalista, O: Omnívoro. Guildas classificadas segundo Delabie et al. (2000a).

Espécie	Sub-Família	Guilda	%
<i>Pachycondyla harpax</i>	PO	PG	58
<i>Strumigenys elongata</i>	MY	PE	54
<i>Odontomachus haematodus</i>	PO	PG	50
<i>Hypoponera trigona</i>	PO	PG	42
<i>Megalomyrmex goeldii</i>	MY	OM	36
<i>Solenopsis</i> sp.09	MY	OM	32
<i>Paratrechina</i> sp.12	FO	OM	30
<i>Solenopsis</i> sp.04	MY	OM	30
<i>Pheidole fimbriata</i>	MY	OM	28
<i>Wasmannia auropunctata</i>	MY	OM	24
<i>Hypoponera</i> sp.	PO	PG	20
<i>Rogeria</i> sp.	MY	OM	20
<i>Pyramica eggersi</i>	MY	PE	18
<i>Wasmannia lutzii</i>	MY	OM	14
<i>Pheidole</i> sp.30	MY	OM	10
<i>Lachnomyrmex plaumanni</i>	MY	?OM	8
<i>Pheidole</i> sp.01	MY	OM	8
<i>Odontomachus meinerti</i>	PO	PG	6
<i>Creumatogaster</i> sp.09	MY	OM	4
<i>Eurhopalothrix clypeata</i>	MY	?OM	4
<i>Leptogenys</i> sp.	PO	PG	4
<i>Thaumatomyrmex mutilatus</i>	PO	PE	4
<i>Acromyrmex subterraneus brunneus</i>	MY	FG	2
<i>Gyptomyrmex longinosus</i>	MY	?OM	2
<i>Brachymyrmex</i> sp.07	FO	OM	2
<i>Gnamptogenys moelleri</i>	EC	PG	2
<i>Hylomyrma sagax</i>	MY	?OM	2
<i>Hypoponera</i> sp.	PO	OM	2
<i>Octostruma rugifera</i>	MY	?OM	2
<i>Pachycondyla striata</i>	PO	PG	2
<i>Pachycondyla constricta</i>	PO	PG	2
<i>Paratrechina</i> sp.11	FO	OM	2
<i>Pheidole</i> sp.18	MY	OM	2
<i>Pyramica schulzi</i>	MY	PE	2
<i>Pyramica denticulata</i>	MY	PE	2
<i>Strumigenys dolichognatha</i>	MY	PE	2
<i>Strumigenys</i> sp.	MY	PE	2
<i>Wasmannia</i> sp.	MY	OM	2

Uma análise dos mesmos resultados, classificando as espécies pelo seu grupo funcional (Delabie et al., 2000a), permitiu a identificação de 16 espécies predadoras (7 especialistas e 9 generalistas), 21 espécies onívoras e uma única espécie dependente de um fungo simbiótico, uma Attini do gênero *Acromyrmex*, grupo ao qual pertencem as formigas cortadeiras (sobre as preferências alimentares das formigas, que justificam esta classificação, ver Hölldobler e Wilson, 1990; Fowler et al., 1991; Masuko, 1992; Delabie et al., 2000a). Entre os predadores especializados, os dos gêneros *Pyramica* e *Strumigenys* pertencem à tribo Dacetini (Myrmicinae) e são conhecidos como predadores de Collembola (Masuko, 1992; Delabie et al., 2000a), enquanto a Ponerinae do gênero *Thaumatomyrmex* encontrada é especializada na predação de miriápodes milípedes (Brandão et al., 1991; Delabie et al., 2000c; Jahyny et al., 2002).

As demais Ponerinae encontradas são predadores generalistas, isto é, têm um comportamento bastante oportunista, sendo capazes de atacar qualquer presa potencial a seu alcance. São ocasionalmente observadas em fontes alimentares de outra natureza, tais como cadáveres de insetos ou glândulas de néctar de plantas. Por sua vez, com exceção da formiga cortadeira *Acromyrmex subterraneus brunneus* e das Dacetini acima referenciadas, todas as Myrmicinae encontradas no cacauai são presumidamente onívoras.

Discussão

A biodiversidade de Formicidae desempenha um papel regulador contínuo sobre as populações de fitófagos do cacauieiro e das árvores de sombreamento (Leston, 1970; Delabie e Mariano, 2001). A manutenção da serapilheira é extremamente importante na medida que esta é o lugar onde vive a fração mais significativa da biodiversidade em formigas mantida em cacauais (ver Delabie et al., 1994). Uma comparação entre a diversidade de formigas da serapilheira de um cacauai, com o solo bem estruturado, em Ilhéus e o de Mucuri mostra uma importante diferença: o número de espécies por amostra é de 8,05 espécies no CEPEC (Delabie et al. 2000a) contra somente 5,36 em Mucuri (Figura 1). Esta diferença é provavelmente devida às inundações irregulares do Rio Mucuri que, certamente, eliminam uma fração importante da fauna de artrópodos do solo, e da existência do lençol freático a pouca profundidade que impede a nidificação de numerosas espécies terrícolas, assim como da distância de ambientes bem estruturados ecologicamente e que possam servir como fonte de espécies recolonizadoras.

Um grupo de formigas ausentes na amostragem da cabruca estudada e que ilustra bem esta questão, é o das *Ectatomma*. Sabe-se da ocorrência de diversas espécies desses predadores generalistas na região, entre estas, *E.*

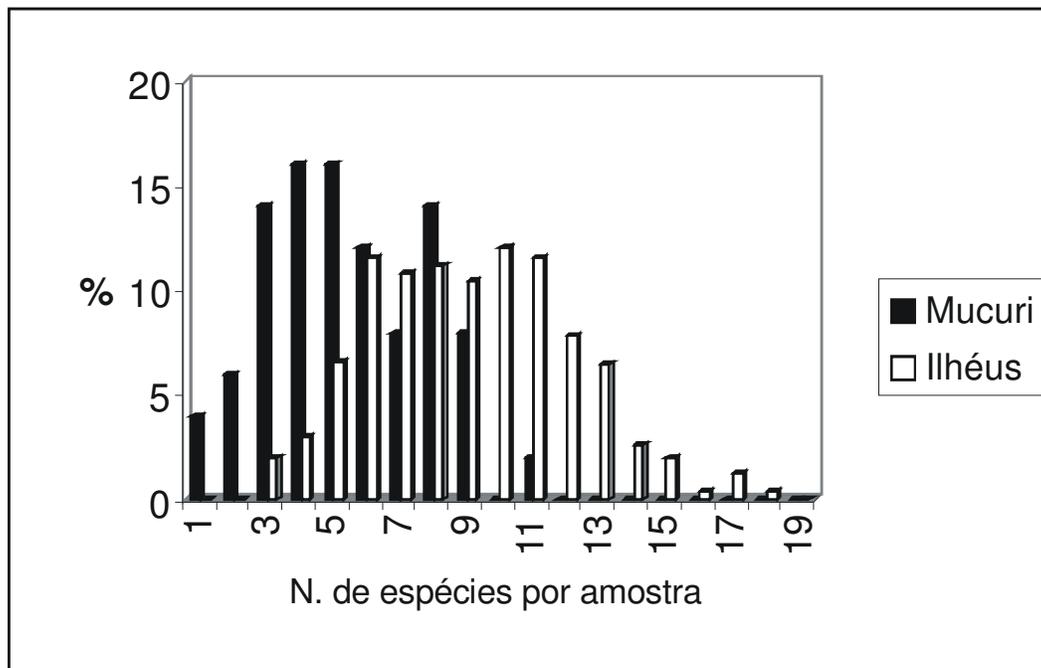


Figura 1- Comparação entre as frequências relativas de distribuição do número de espécies por amostra em solos de cacauais drenados (CEPEC, Ilhéus, Bahia) (Delabie, 2000a) e inundável (Mucuri, Bahia).

tuberculatum, freqüente em cacauais onde exerce importante atividade de controle biológico natural de insetos na copa do cacaueteiro e de outras plantas onde forrageia (Weber, 1946; Delabie, 1990; Delabie e Mariano, 2001). Esta formiga está ausente da amostragem, certamente em razão do seu comportamento de nidificação em formigueiro subterrâneo e de não ter condição de sobrevivência em terrenos inundáveis ou ainda, pelo fato do lençol freático estar perto da superfície. No entanto, diversas Ponerinae estão presentes e devem exercer intensa atividade predatória, como é o caso de *Pachycondyla harpax* e *Odontomachus haematodus*, que forrageiam principalmente na superfície do solo e de forma excepcional na vegetação baixa, no caso de *O. haematodus*.

A ausência de Attini da amostragem é quase total, a não ser uma espécie de *Acromyrmex* (sabe-se, no entanto, da ocorrência de pelo menos duas espécies de *Atta* na região de Mucuri), enquanto nos cacauais de Ilhéus, observa-se com freqüência elevada espécies dos gêneros *Cyphomyrmex* e *Sericomyrmex* (Delabie et al. 2000a), mas também de *Apterostigma* e *Mycocepurus*, para os quais presume-se grande importância na ciclagem dos componentes orgânicos e na oxigenação dos solos. Outras espécies têm certamente importância similar e são ausentes no cacaual de Mucuri: são as *Acropyga* que, apesar de criar Pseudococcidae simbióticos nas raízes das plantas cultivadas, são agentes muito importantes na oxigenação dos tecidos das raízes do cacaueteiro nas áreas onde ocorrem, devido à intensa rede de galerias que constróem na rizosfera superficial (Delabie et al., 1991; Johnson et al., 2001).

A serapilheira é um estrato normalmente visitado pelas formigas de correição (Ecitoninae), um dos grupos de formigas que mais impactam os ambientes nas regiões onde abundam, regulando a população de numerosos outros grupos de invertebrados do solo e que forrageiam acompanhadas de uma coorte de organismos diversos, de aves a ácaros (Hölldobler e Wilson, 1990). Não foi observado nenhum representante deste grupo de formigas, porém a armadilha utilizada na amostragem está de fato pouco adaptada ao estudo das formigas de correição. Informações da coleção do Laboratório de Mirmecologia mostram, no entanto que, pelo menos, *Labidus coecus* e *Labidus praedator*, ambas predadores generalistas, estão presentes em Mucuri. A inexistência de Ecitoninae nessa amostragem, assim como de representantes dos gêneros *Neivamyrmex* e *Eciton*, que pertencem ao mesmo grupo de espécies e provenientes do município na coleção do Laboratório, sugere que estas formigas estão mal representadas nos cacauais de Mucuri e que seu impacto como agentes reguladores da fauna de insetos do solo e da serapilheira, assim como nas comunidades animais em geral, é casual na região.

A conectividade entre habitats é um caráter importante para a região, porque caracteriza a interligação entre áreas de mata primária ou secundária, ou ainda cultivos agroflorestais, permitindo o fluxo de espécies entre ambientes arbóreos. A vegetação que borda o Rio Mucuri é de fato de importância estratégica na política atual de desenvolvimento do Corredor do Descobrimento ou Corredor Central da Mata Atlântica (Conservation International, 2000; Bright e Mattoon, 2002). Com a escassez da vegetação nativa na beira do rio, a não ser capoeiras esparsas como a que existe nas imediações da cabruca estudada, ou ainda cacauais e eucaliptais, suspeita-se que deve existir um forte gradiente de recolonização de espécies a partir de lugares mais elevados, com solos drenados e com uma vegetação mais complexa (com uma diversidade de formigas naturalmente maior, vide por exemplo Majer e Delabie, 1994) para as áreas mais baixas propensas às inundações, fato ocasional no agrossistema (com uma diversidade sempre sujeita à mortalidade catastrófica, onde as espécies que sobrevivam são mais agressivas ecologicamente e/ou têm uma maior aptidão à disseminação). A freqüência relativamente pequena de *Wasmannia auropunctata* mostra no entanto que o impacto do cultivo e desse tipo de perturbação natural sobre a fauna nativa é relativamente limitado, uma vez que freqüências elevadas deste taxon demonstram normalmente perturbação antrópica do habitat (Delabie, 1990). Por sua vez, a ocorrência de espécies raras ou típicas de ambientes florestais como *Gyptomyrmex longinodus*, *Eurhopalothrix clypeata*, *Lachnomyrmex plaumanni* e *Hylomyrma sagax* confirmam o vínculo da cabruca amostrada com o bioma Mata Atlântica e o interesse deste tipo de área à vocação agrícola para manutenção da biodiversidade, apesar da sua aptidão limitada a preservar a diversidade, devido às condições peculiares do meio.

Conclui-se que as cabruças em solos inundáveis, tais como as da região de Mucuri, têm um interesse limitado para conservação da mesofauna, quando comparadas ao mesmo tipo de agrossistema no maciço cacaueteiro principal da Bahia. Quanto à presença de agentes potenciais naturais de controle biológico, observou-se a ocorrência de diversas espécies relevantes. No entanto, espécies predadoras características abundantes neste tipo de habitat em outras regiões não estão presentes no agrossistema, e sua ausência deixa possível uma maior incidência de insetos fitófagos.

Agradecimentos

Os autores agradecem a José Crispim Soares do Carmo pelo auxílio prestado durante a amostragem no campo. J.H.C.D é bolsista do CNPq (projetos 520910 / 96-6 & 55071/02-8).

Literatura Citada

- AGOSTI, G. et al., org. 2000. Ants: Standart Methods for Measuring and Monitoring Biodiversity, Smithsonian Institution. Washington. 248p.
- BACHELIER, G. 1978. La faune des sols, son écologie et son action. Paris, ORSTOM. 391p.
- BELSHAW, R.; BOLTON, B. 1993. The effect of forest disturbance on leaf litter ant fauna in Ghana. *Biodiversity and Conservation* 2: 656-666.
- BELSHAW, R.; BOLTON, B. 1994. A survey of the leaf litter ant fauna in Ghana, West Africa (Hymenoptera:Formicidae). *Journal of Hymenoptera Research* 3: 5-16.
- BENTON, F.P. 1984. Abundância estacional dos coleópteros fitófagos do cacauero no sul da Bahia e no Espírito Santo. *Revista Theobroma (Brasil)* 14 (2): 85-102.
- BESUCHET, C., BURCKHARDT, D. H.; LOBLE, I. 1987. The "Winkler/Moczarski" elector as an efficient extractor for fungus and litter Coleoptera. *The Coleopterist's Bulletin* 41: 392-394.
- BOLTON, B. 1995. A new general catalogue of the ants of the world. Cambridge, Massachusetts, Harvard University Press. 504p.
- BOLTON, B. 1999. Ant genera of the tribe Dacetoniini (Hymenoptera: Formicidae). *Journal of Natural History* 33: 1639-1689.
- BOLTON, B. 2003. Synopsis and classification of Formicidae. The American Entomological Institute. 370p.
- BRANDÃO, C.R.F., DINIZ, J.L.M. ; TOMOTAKE, E.M. 1991. *Thaumatomyrmex* strips millipedes for prey: a novel predatory behaviour in ants, and the first case of sympatry in the genus (Hymenoptera: Formicidae). *Insectes Sociaux* 38 : 335-344.
- BRIGHT, C. 2002. O chocolate pode resgatar a floresta. *World-Watch* 14 (6): 17-28.
- BRIGHT, C.; MATTOON, A. 2002. A recuperação de um hotspot. *World-Watch* 14 (6): 8-16.
- BRUNEAU DE MIRE, P. 1969. Une fourmi utilisée au Cameroun dans la lutte contre les mirides du cacaoyer, *Wasmannia auropunctata* Roger. *Café, Cacao, Thé* 13: 209-212.
- COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CAUEIRA. DIVISÃO DE COMUNICAÇÃO. 1983. Mucuri. Ilhéus, CEPLAC/DICOM. Cidades do Cacau Nº 40. 16p.
- CLARK, D.B. et al. 1982. The tramp ant *Wasmannia auropunctata*: autoecology and effects on ant diversity and distribution on Santa Cruz Island, Galapagos. *Biotropica* 14: 196-207.
- CONSERVATION INTERNATIONAL. 2000. Designing sustainable Landscapes – Planejando Paisagens Sustentáveis. Washington. Center for Applied Biodiversity Science at Conservation International, IESB. 29p.
- DELABIE, J.H.C. 1988. Ocorrência de *Wasmannia auropunctata* (Hymenoptera, Formicidae, Myrmicinae) em cacauais na Bahia, *Revista Theobroma (Brasil)* 18 (1): 29-37.
- DELABIE, J.H.C. 1990. The ant problems of cocoa farms in Brazil. In: R K Vander Meer, K Jaffe and A Cedeño ed., *Applied Myrmecology: A World Perspective*. Colorado, Westview Press, Boulder (U.S.A.). pp.555-569.
- DELABIE, J.H.C. 1999. Comunidades de formigas (Hymenoptera; Formicidae): métodos de estudo e estudos de casos na Mata Atlântica. *Resumos, Encontro de Zoologia do Nordeste*, 12, Feira de Santana - BA. pp.58-68.
- DELABIE, J.H.C; AGOSTI, D. NASCIMENTO, I.C. do. 2000a. Litter ant communities of the Brazilian Atlantic rain forest region. *Sampling Ground-dwelling Ants: Case Studies from the World's Rain Forests*. Curtin, Perth, Australia, University, School of Environmental Biology Bulletin nº 18. pp.1-17.
- DELABIE, J.H.C; et al. 1994. Stratification de la communauté de fourmis (Hymenoptera: Formicidae) dans une cacaoyère brésilienne et conséquences pour le contrôle naturel des ravageurs du cacaoyer. *In: International Cocoa Research Conference, 11th*. Yamousoukro, Costa do Marfim, *Proceedings, Lagos, Nigeria, Cocoa Producer's Alliance*. pp.823-831.
- DELABIE, J.H.C, FISHER, B.L.; MAJER, J.D.; WRIGHT, I.W. 2000b. Sampling effort and choice of methods. *Ants: Standart Methods for Measuring and Monitoring Biodiversity*. Washington, Smithsonian Institution. pp.145-154.
- DELABIE, J.H.C; FOWLER, H.G. 1993. Physical and biotic correlates of population fluctuations of dominant soil and litter ant species (Hymenoptera: Formicidae) in Brazilian cocoa plantations. *Journal of the New York Entomological Society* 101 (1): 135-140.
- DELABIE, J.H.C.; FOWLER, H.G. 1995. Soil and litter cryptic ant assemblages of Bahian cocoa plantations, *Pedobiologia* 39: 423-433.
- DELABIE, J.H.C.; FRESNEAU, D.; PEZON, A. 2000c. Notes on the ecology of *Thaumatomyrmex* spp. (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae) in southeast Bahia, Brazil. *Sociobiology* 36 (3): 571-584.

- DELABIE, J.H.C.; MANTOVANI, J.E.; CAZORLA, I.M. 1991. Observações sobre a biologia de duas espécies de *Acropyga* (Formicidae, Formicinae, Plagiolepidini) associadas a rizosfera do cacau. *Revista Brasileira de Biologia* 51 (1): 185-192.
- DELABIE, J.H.C.; MARIANO, C.S.F. 2001. Papel das formigas (Insecta: Hymenoptera: Formicidae) no controle biológico natural das pragas do cacau na Bahia: síntese e limitações. *In: International Cocoa Research Conference*, 13. Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia, 2000. Sabah, Malásia, Cocoa Producer's Alliance. Vol.1. pp. 725-731.
- DELABIE, J.H.C. et al. 1997. Biogeografia das formigas cortadeiras (Hymenoptera; Formicidae; Myrmicinae; Attini) de importância econômica no leste da Bahia e nas regiões periféricas dos Estados vizinhos. *Agrotropica (Brasil)* 9 (2): 49-58.
- DELABIE, J.H.C.; NASCIMENTO, I.C. do; MARIANO, C dos S. F. 1999. Importance de l'agriculture cacaoyère pour le maintien de la biodiversité: étude comparée de la myrmécophage de différents milieux du sud-est de Bahia, Brésil (Hymenoptera; Formicidae). *In: International Cocoa Research Conference*, 12. Salvador, BA. Lagos, Nigéria, Cocoa Producer's Alliance. pp.23-30.
- ENTWISTLE, P.F. 1972. *Pests of Cocoa*. London, Longman Group Ltd. 779p.
- FITTKAU, E.J.; KLINGE, H. 1973. On biomass and trophic structure of the central Amazonian rain forest ecosystem. *Biotropica* 5: 2-14.
- FOWLER, H.G.; DELABIE, J.H.C. 1995. Resource partitioning among epigeic and hypogeic ants (Hymenoptera: Formicidae) of a Brazilian cocoa plantation. *Ecologia Austral* 5: 117-124.
- FOWLER, H.G.; DELABIE, J.H.C.; MOUTINHO, P.R.S. 2000. Hypogeic and epigeic ant (Hymenoptera: Formicidae) assemblages of Atlantic coastal rainforest and dry mature and secondary Amazon forest in Brazil: continuums or communities. *Tropical Ecology* 41: 73-80.
- FOWLER, H.G. et al. 1991. *Ecologia Nutricional de formigas*, In: AR Panizzi e JRP Parra eds., *Ecologia Nutricional de Insetos e suas Implicações no Manejo de Pragas*. São Paulo. Editora Manole e CNPq. pp.131-223.
- FOWLER, H.G.; MEDEIROS, M.A. de; DELABIE, J.H.C. 1997. Carton nest allometry and spatial patterning of the arboreal ant *Azteca chartifex spiriti* (Hymenoptera, Formicidae). *Revista brasileira de Entomologia* 40 (3/4): 337-339.
- HO, C.T.; KHOO, K.C. 1997. Partners in biological control of cocoa pests: mutualism between *Dolichoderus thoracicus* (Hymenoptera: Formicidae) and *Cataenococcus hispidus* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Bulletin of Entomological Research* 87 (5): 461-470.
- HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E.O. 1990. *The ants*. Cambridge, Belknap Press. 732p.
- JAHYNY, B.; DELABIE, J.H.C.; FRESNEAU, D. 2002. Mini-sociétés sans reine chez le genre Néotropical *Thaumatomyrmex* Mayr, 1887 (Formicidae: Ponerinae). *Actes des Colloques Insectes Sociaux* 15: 33-36.
- JIMÉNEZ, J.J.; DECAËNS, T.; THOMAS, R.J. ; LAVELLE, P. 2001. Soil macrofauna: an available but little-known natural resource. *Nature's Plow: Soil Macroinvertebrate Communities in the Neotropical Savannas of Colombia*. Cali, Colombia. CIAT. pp.1-16.
- JOHNSON, C. et al. 2001. *Acropyga* and *Azteca* ants (Hymenoptera: Formicidae) with scale insects (Stenomorphina: Coccoidea): 20 million years of intimate symbiosis. *American Museum Novitates*, 3335, 18p.
- LEPONCE, M.; THEUNIS, L.; DELABIE, J.H.C.; ROISIN, Y. 2004. Scale dependence of diversity measures in a leaf-litter ant assemblage. *Ecography* 27: 253-257.
- LESTON, D. 1970. Entomology of the cocoa farm. *Annual Review of Entomology* 15: 275-294.
- LESTON, D. 1978. A Neotropical ant mosaic. *Annals of the Entomological Society of America* 71: 649-653.
- LUCAS, C. et al. 2002. A multidisciplinary approach to discriminating different taxa in the species complex *Pachycondyla villosa* (Formicidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 75: 249-259.
- MAIA, V.B.; BUSOLI, A.C.; DELABIE, J.H.C. 2001. Seletividade fisiológica de endossulfam e deltametrina às operárias de *Azteca chartifex spiriti* For. (Hymenoptera: Formicidae) em agrossistema cacauero do sudeste da Bahia. *Neotropical Entomology* 30 (3): 449-454.
- MAJER, J.D. 1972. The ant mosaic in Ghana cocoa farms. *Bulletin of Entomological Research* 62: 151-160.
- MAJER, J.D. 1976a. The maintenance of the ant mosaic in Ghana cocoa farms. *Journal of applied Ecology* 13: 123-144.
- MAJER, J.D. 1976b. The ant mosaic in Ghana cocoa farms: further structural considerations. *Journal of applied Ecology* 13: 145-155.
- MAJER, J.D. 1982. The foraging activity of some West African cacao farm ants. *Revista Theobroma (Brasil)* 12 (3): 155-162.
- MAJER, J.D. 1986. Utilizing economically beneficial ants.

- Economic impact and control of social insects. New York, Praeger. pp.314-331.
- MAJER, J.D. 1993. Comparison of the arboreal ant mosaic in Ghana, Brazil, Papua New Guinea and Australia – its structure and influence on ant diversity. Hymenoptera and biodiversity. Oxford, CAB International. pp.115-141.
- MAJER, J.D. 1994. Introduction of ants as potential biological control agents, with particular reference to cocoa. *Harvest* 16 (1): 1-4.
- MAJER, J.D.; DELABIE, J.H.C. 1993. An evaluation of Brazilian cocoa farm ants as potential biological control agents, *Journal of Plant Protection in the Tropics* 10 (1): 43-49.
- MAJER, J.D.; DELABIE, J.H.C. 1994. Comparison of the ant communities of annually inundated and terra firme forests at Trombetas in the Brazilian Amazon. *Insectes Sociaux* 41: 343-359.
- MAJER, J.D.; DELABIE, J.H.C.; SMITH, M.R.B. 1994. Arboreal ant community patterns in Brazilian cocoa farms. *Biotropica* 26 (1): 73-83.
- MASUKO, K. 1992. Ants as leading predators and their skill of hunting. The Symposium on Neuroethology and Behavior (1990). Japão, Kyoto University. pp.122-134.
- MEDEIROS, M.A. de; FOWLER, H.G.; DELABIE, J.H.C. 1993. Interactions of Black Pod Disease (*Phytophthora* spp) and the ant, *Azteca chartifex spiriti*, in Bahian cocoa plantations. *Agrotropica (Brasil)* 5 (3): 65-68.
- MEDEIROS, M.A. de; FOWLER, H.G.; DELABIE, J.H.C. 1999. Formiga ataca pragas do cacau. *Ciência Hoje* 26 (152): 59-61.
- ROEDER, M. 1975. Reconhecimento climatológico. Ilhéus, IICA / CEPLAC. Diagnóstico Socioeconômico da Região Cacaueira. 4. 89p.
- ROOM, P.M. 1971. The relative distribution of ant species in Ghana's cocoa farms. *Journal of Animal Ecology* 40: 735-751.
- ROOM, P.M. 1973. Control by ants of pest situations in tropical tree crops: a strategy for research and development. *Papua New Guinea Agricultural Journal* 24 (3): 98-103.
- ROOM, P.M. 1975. Diversity and organization of the ground foraging ant faunas of forest, grassland and tree crops in Papua New Guinea. *Australian Journal of Zoology* 23: 71-89.
- SAATCHI, S.; et al. 2001. Examining fragmentation and loss of primary forest in the southern Bahian Atlantic Forest of Brazil with radar imagery. *Conservation Biology* 15 (4): 867-875.
- SEE, Y.A.; KHOO, K.C. 1996. Influence of *Dolichoderus thoracicus* (Hymenoptera: Formicidae) on cocoa pod damage by *Conopomorpha cramerella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in Malaysia. *Bulletin of Entomological Research* 86 (4): 467-474.
- SILVA, R.R. da; BRANDÃO, C.R.F. 1999. Formigas (Hymenoptera: Formicidae) como indicadores da qualidade ambiental e da biodiversidade de outros invertebrados terrestres. *Biotemas* 12 (2): 55-73.
- SOUZA, A.L.B.; DELABIE, J.H.C.; FOWLER, H.G. 1998. *Wasmannia* spp. (Hym., Formicidae) and insect damages to cocoa in Brazilian farms. *Journal of Applied Entomology* 122: 339-341.
- STRICKLAND, A.H. A survey of the arthropod soil and litter fauna of some forest reserves and cacao estates in Trinidad, British West Indies. *Journal of Animal Ecology* 1945, 14 (1): 1-11.
- TAYLOR, B. 1977. The ant mosaic on cocoa and other tree crops in Western Nigeria. *Ecological Entomology* 2 : 245-255.
- VALENZUELA GONZÁLEZ, J.; LÓPEZ-MÉNDEZ, A.; LACHAUD, J.P. 1995. Activity patterns and foraging activity in nests of *Ectatomma tuberculatum* (Hymenoptera: Formicidae) in cacao plantations. *Southwestern Entomologist* 20: 507-515.
- VELLO, F.; MAGALHÃES, W.S. 1971. Estudos sobre a participação da formiga caçarema (*Azteca chartifex spiriti* Forel) na polinização do cacaueiro na Bahia. *Revista Theobroma (Brasil)* 1: 29-42.
- WAY, M.J.; KHOO, K.C. 1992. Role of ants in pest management. *Annual Review of Entomology* 37: 479-503.
- WEBER, N.A. 1946. Two common ponerinae ants of possible economic significance, *Ectatomma tuberculatum* (Olivier) and *E. ruidum* (Roger). *Proceedings of the Entomological Society*. 48: 1-16.
- WINDER, J.A. 1978. The role of non-dipterous insects in the pollination of cocoa in Brazil. *Bulletin of Entomological Research* 68: 559-574.

BIOGEOGRAFIA DAS FORMIGAS PREDADORAS DO GÊNERO *ECTATOMMA* (HYMENOPTERA: FORMICIDAE: ECTATOMMINAE) NO LESTE DA BAHIA E REGIÕES VIZINHAS

Jacques Hubert Charles Delabie¹, Hilda Susele Rodrigues Alves¹, Viviane Conceição França¹, Patrick Thomaz de Aquino Martins¹ e Ivan Cardoso do Nascimento²

¹U.P.A. Laboratório de Mirmecologia. Convênio UESC/CEPLAC, Caixa Postal 7. 45600-970, Itabuna-Bahia, Brasil.
E-mail:delabie@cepec.gov.br

²Universidade Federal de Viçosa. 36571-000, Viçosa-Minas Gerais, Brasil.

O gênero de formigas Neotropicais predadoras *Ectatomma* inclui 14 espécies que se distribuem do México até a Argentina, sendo que oito ocorrem na Bahia e nos Estados vizinhos. É destacada a importância desse grupo de formigas no controle biológico natural das pragas dos cultivos tropicais. Foi estudada em detalhes a distribuição geográfica das espécies que ocorrem no leste da Bahia, em Sergipe, assim como nas regiões próximas de Minas Gerais e Espírito Santo. Foram utilizadas as informações de coletas da coleção de Formicidae do Laboratório de Mirmecologia, construindo mapas de distribuição com o auxílio do SIG ArcView. Duas espécies, *E. brunneum* e *E. tuberculatum*, são praticamente ubíquas. A primeira é certamente um invasor recente que se espalhou através da eliminação das áreas de florestas nativas em benefício às pastagens, enquanto a segunda é típica de capoeiras e florestas. Duas espécies são tipicamente xerófilas: *E. muticum* é endêmica da caatinga e das restingas ao norte de Salvador, enquanto *E. opaciventre* ocorre perto e ao norte de Salvador, onde vive em áreas com vegetação fortemente degradada. Três espécies ocorrem ao sul da região: *E. edentatum* e *E. permagnum* com distribuição contínua até o sul da Mata Atlântica, assim como *E. planidens* de ocorrência localizada ao extremo sul da Bahia, existindo também informações da ocorrência em diversas localidades de Minas Gerais. *Ectatomma suzanae* está presente em todo o norte, assim como no planalto baiano, ocorrendo também em Linhares, Espírito Santo, sabendo-se da existência de populações desta espécie mais ao sul. A linha que segue de Salvador até Vitória da Conquista e que acompanha a encosta do Planalto Baiano é aparentemente um excelente divisor faunístico no caso das *Ectatomma*. Sua distribuição atual pode ser interpretada através das alterações climáticas que ocorreram desde o final do terciário na região e pela antropização dos ambientes nativos na época moderna.

Palavras-chave: distribuição geográfica, predador, fauna do solo, controle biológico.

Biogeography of the predator ants of the genus *Ectatomma* (Hymenoptera: Formicidae: Ectatomminae) in Eastern Bahia and neighbouring regions. The Neotropical genus of predatory ants *Ectatomma* includes 14 species, which are distributed from Mexico to Argentina, having eight at Bahia and neighbouring States. The importance of this group of ants in natural biological control of tropical crop pests is pointed out. The geographic distribution of the species that occur in eastern Bahia, Sergipe, as well as in the neighbouring regions of Minas Gerais and Espírito Santo was studied in details. It has been then used the information available in the collection of the Myrmecology Laboratory and distribution maps have been built using the ArcView SIG. Two species, *E. brunneum* and *E. tuberculatum*, are almost completely ubiquitous. The first one is certainly a recent invader that has its distribution area growing according the elimination of the native forests to the benefice of pastures, while the second is typical of secondary growths and forests. Two species are true xerophile: *E. muticum* is endemic of the caatinga and littoral vegetation at the north of Salvador, while *E. opaciventre* occurs near at the north of Salvador in strongly degraded lands. Three species occur at the south of the region: *E. edentatum* and *E. permagnum* occur until the south of the Atlantic rain forest biome, as well as *E. planidens*, which is localized in the far south of Bahia, having other information of the occurrence of this ant in several places of Minas Gerais. *Ectatomma suzanae* occurs in the whole north of the region, as well as on the Bahian Plateau, and exists also at Linhares, Espírito Santo, having information of this species more in the south too. The line drawn between Salvador to Vitória da Conquista, following the piedmont of the Bahian Plateau, is apparently an excellent faunistic divisor in the case of *Ectatomma*. The genus actual distribution should be explained both through the regional climatic alterations since the end of Tertiary and the alterations suffered by the native environment in modern times.

Key words: geographic distribution, predator, soil fauna, biological control

Introdução

O gênero de formigas Neotropicais *Ectatomma* inclui 14 espécies válidas (Kugler e Brown, 1982; Almeida Filho, 1986, 1987; Brandão, 1991; Bolton, 1995), com biologia bastante homogênea e que se distribui do sul do México até a Argentina (Brown, 1958; Kempf, 1972; Kugler e Brown, 1982; Brandão, 1991; Fernández, 1991). Entre estas, onze espécies ocorrem no Brasil, sendo que, com a exceção de *Ectatomma lugens* Emery, *Ectatomma ruidum* (Roger) e de *Ectatomma vizottoi* Almeida, oito estão presentes no Estado da Bahia e regiões periféricas (Kempf, 1972; Kugler e Brown, 1982; Delabie *et al.*, 1998): *Ectatomma brunneum* Fr. Smith, *Ectatomma edentatum* Roger, *Ectatomma muticum* Mayr, *Ectatomma opaciventre* Roger, *Ectatomma permagnum* Forel, *Ectatomma planidens* Borgmeier, *Ectatomma suzanae* Almeida (registrada para esta região pela primeira vez), e *Ectatomma tuberculatum* (Olivier).

As *Ectatomma* são formigas relativamente grandes, variando de cerca de 6 mm de comprimento em *E. planidens* a 12 mm em *E. opaciventre*. Todas as espécies nidificam no subsolo, construindo galerias a profundidades variáveis (até 2,00 m em algumas espécies), constituído de um poço vertical onde se abrem várias câmaras horizontais nas quais as operárias cuidam da cria (Overall, 1986; Paiva e Brandão, 1989; Delabie, 1990; Lachaud, 1990; Valenzuela-González *et al.*, 1995; Antonialli-Junior e Giannotti, 1997). No fundo do ninho, encontra-se uma câmara que contém o lixo (Paiva e Brandão, 1989; Delabie, 1990; Antonialli-Junior e Giannotti, 1997), às vezes invadida pelas raízes de plantas vizinhas ao ninho. O ninho se abre na superfície em um buraco simples (maioria das espécies) (Overall, 1986; Lachaud, 1990; Paiva e Brandão, 1989) ou por uma chaminé de barro, como em *E. opaciventre* (Antonialli-Junior e Giannotti, 1997), ou ainda por uma chaminé de detritos vegetais, encostada a uma árvore, como em *E. tuberculatum*, única espécie predominantemente arborícola do gênero (Wheeler, 1986; Delabie, 1989, 1990).

As espécies do gênero *Ectatomma* são certamente, entre as formigas, as que mais contribuem para o controle biológico natural das populações de insetos no Brasil e de outros países da Região Neotropical. A importância ecológica destes agentes predadores ainda não está totalmente apreciada nos meios agrônômicos, pois ainda carece-se de estudos que avaliam em termos econômicos o papel da maior parte das espécies e seu impacto sobre pragas agrícolas. Uma ou duas espécies são quase sempre freqüentes localmente, mesmo em meio urbano. A densidade de formigueiros chega a ser, às vezes, impressionante: Lachaud *et al.* (1990) estimam a cerca de

2.700, o número de colônias de *E. ruidum* por hectare no México, enquanto Levings e Franks (1982) estimam entre 1.800 e 6.100 por hectare no Panamá. As operárias responsáveis pelo forrageamento executam tal função individualmente, não ocorrendo o recrutamento de outros indivíduos (Lachaud, 1990; Marques *et al.*, 1995). A aptidão à predação durante as atividades de forrageamento foi observada em diversas espécies de *Ectatomma*, tais como *E. brunneum* (referida como *E. quadridens* Fabricius) na Bahia (Marques *et al.*, 1995) e no Pará (Overall, 1986), *E. opaciventre* em São Paulo (Antonialli-Junior e Giannotti, 1997), *E. permagnum* (Paiva e Brandão, 1989), *Ectatomma ruidum* (Roger) no México (Lachaud, 1985, 1990; Lachaud *et al.*, 1990; Schatz *et al.*, 1997) e outros países das Américas Central e do Sul (Weber, 1946), *E. tuberculatum* na Bahia (Delabie, 1989, 1990, 1999), no México (Valenzuela e Lachaud, 1982; Dejean *et al.*, 1989; Valenzuela-González *et al.*, 1995), no Panamá (Wheeler, 1986) e diversos outros países das Américas Central e do Sul (Weber, 1946). Em particular, a importância das formigas deste gênero no controle biológico natural das pragas do cultivo do cacauzeiro já foi destacada no México (Valenzuela e Lachaud, 1982; Lachaud, 1990; Valenzuela-González *et al.*, 1995), assim como no Brasil (Delabie, 1990, 1999).

Um modo peculiar de caçar, “posição de espreita”, foi sinalizado no caso de *E. tuberculatum* (Delabie, 1989, 1990), enquanto *E. ruidum* foi reportada como ocasionalmente cleptobiótica [rouba outras espécies de formigas quando estas carregam algum item alimentar na trilha de volta ao formigueiro] (Perfecto e Vander Meer, 1993; De Carli *et al.*, 1998). Semelhante a outras espécies de formigas, é certo que as *Ectatomma* recolham os cadáveres de outros insetos e demais animais para sua alimentação (Fowler *et al.*, 1991). No entanto, essas formigas são predominantemente predadoras generalistas diurnas (Paiva e Brandão, 1989; Lachaud, 1990; Fowler, 1994), tendo preferência por presas médias a grandes, incluindo outras espécies de Formicidae, mas também outros insetos como Coleoptera (por exemplo: Chrysomelidae e Scarabeidae), Lepidoptera (lagartas), Diptera, Hemiptera (Auchenorrhyncha e Sternorrhyncha, = ‘Homoptera’), Orthoptera, Isoptera, mas também ocasionalmente predam Myriapoda, Arachnida, Isopoda, Gastropoda, Annelida e recolhem com freqüência fragmentos de vegetais como frutos e flores no chão (Weber, 1946; Kugler e Brown, 1982; Valenzuela e Lachaud, 1982; Wheeler, 1986; Paiva e Brandão, 1989; Lachaud, 1990; Marques *et al.*, 1995; Valenzuela-González *et al.*, 1995; Antonialli-Junior e Giannotti, 1997; Delabie, 1999). Lachaud *et al.* (1990) estimam que 150.000 insetos são capturados por dia e por hectare pelas sociedades de

E. ruidum no México. Frequentemente, as *Ectatomma* são vistas carregando líquidos de origem vegetal e mantêm, através relações mutualísticas (vide Delabie, 2001), pequenas populações de ‘Homoptera’ produtores de “honeydew” na vegetação próxima ao formigueiro, das quais dependem como fontes de carboidratos (Weber, 1946; Carroll e Janzen, 1974; Kugler e Brown, 1982; Valenzuela e Lachaud, 1982; Wheeler, 1986; Delabie, 1990, 2001; Dietrich e MacKamey, 1990; Lachaud, 1990; Valenzuela-González et al., 1995).

O objetivo deste trabalho foi estudar a distribuição das espécies do gênero *Ectatomma* que são encontradas no leste do Estado da Bahia e nas regiões vizinhas: Estado de Sergipe, norte do Estado do Espírito Santo e leste do Estado de Minas Gerais, no intuito de complementar as pesquisas já realizadas, fornecendo assim subsídios a pesquisas a serem desenvolvidas a médio e longo prazo, potencializando o seu importante papel de controle biológico natural de pragas em cultivos regionais, até o momento imperfeitamente entendido e aplicado.

Material e Métodos

Foram utilizadas as informações disponíveis na coleção do Laboratório de Mirmecologia (CPDC) do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPLAC/CEPEC) sobre as espécies do gênero *Ectatomma* que existem na região de estudo, localizada entre as latitudes 10° a 20° Sul e longitude 36° a 42° Oeste, e que inclui a metade leste do Estado da Bahia, o Estado de Sergipe, a metade norte do Estado do Espírito Santo e uma pequena faixa ao leste do Estado de Minas Gerais (Figura 1), totalizando uma área de 328.000 km². Foi construído um banco de dados contendo as seguintes informações: município, local, coletor, número de indivíduos, número de registro, data, coordenadas geográficas em graus (latitude e longitude), nome da espécie e número de referência na coleção. As coordenadas geográficas foram fornecidas pelo programa IBGE – PRCIVI 95, ou obtidas na época da coleta em campo com o auxílio de GPS (Global Position System). O banco de dados foi importado posteriormente para o programa Arcview no intuito de georreferenciar as informações disponíveis na área de estudo, espécie por espécie, a partir das quais foram elaborados os mapas de distribuição geográfica de cada táxon. As interpretações desses mapas se deram, considerando o quadro físico-natural da região estudada, através do cruzamento entre diferentes mapas temáticos disponíveis no Laboratório (ecossistemas, uso de solos, climas segundo a classificação de Köppen, precipitações pluviométricas, geomorfologia, altitude) com os mapas de distribuição geográfica das espécies.

Resultados

As informações são apresentadas separadamente por espécie, com o mapa de distribuição correspondente e um comentário sobre os diferentes habitats ocupados pelas formigas, conforme a seguir:

E. brunneum: Existe em toda a região de estudo (Figura 2), abrangendo a baixada litorânea, a encosta do planalto e o planalto Sul baiano/Serra Geral, a Chapada Diamantina/Espinhaço e o pediplano, conseqüentemente em altitudes que variam de 0 a mais de 1.000 m, com temperaturas médias anuais de 18 a 26°C, climas de tipos Am, As, Aw, Bsh, Cfa, Cwa e Cwb e precipitações pluviométricas entre 700 e 2.000 mm. Não constam registros na coleção desta espécie na extremidade norte da região estudada, mas sua ocorrência é certa, já que é notória sua presença em todos os estados do Nordeste (Kempf, 1972) e sua adaptação a ambientes antropizados. Além do mais, existem na coleção muitos registros do taxon ao norte da região considerada. Os habitats onde se encontra são as formações de restinga não arbórea, a caatinga e todas as formações vegetais secundárias dos demais ecossistemas onde predominam gramíneas ou ciperáceas.

E. edentatum: É uma espécie que ocorre na Mata Atlântica ao sul do Recôncavo Baiano, principalmente nas áreas mais úmidas perto da costa (Figura 2). É comum na Região Cacaueira da Bahia, mas ocorre esporadicamente na região de transição, assim como no Espírito Santo. Vive em áreas arbóreas de climas quentes e úmidos com ou sem estação seca dos tipos Am, Aw e Bsh com temperaturas médias anuais de 18 a 23°C e precipitações pluviométricas superiores a 1.000 mm.

E. muticum: É uma espécie típica de habitat xerófilo, de clima quente e úmido a semi-árido dos tipos Am, As, Aw, Bsh e Cfa presente principalmente na parte norte da região em estudo (Figura 2): caatinga, no rebordo do planalto, no planalto sul baiano/Serra Geral e na Chapada Diamantina (campos de altitude). Ocorre também nas restingas no litoral norte de Salvador até Sergipe com ampla distribuição em diversos estados da Região Nordeste (Kempf, 1972).

E. opaciventre: Esta espécie é xerófila (Brown, 1958) e ocorre ao norte da Baía de Todos os Santos (Figura 2). É relativamente rara, e localmente presente no norte da Bahia e em Sergipe, assim como em Minas Gerais (principalmente ao sul da região de estudo), sendo abundante em determinadas localidades do cerrado no centro-sul do Brasil. Vive em áreas de vegetação bastante degradada em regiões de clima quente e úmido com ou sem estação seca dos tipos Am, As, Aw e Bsh com temperaturas médias anuais de cerca de 22-23° C e precipitações pluviométricas superiores a 1.000 mm.

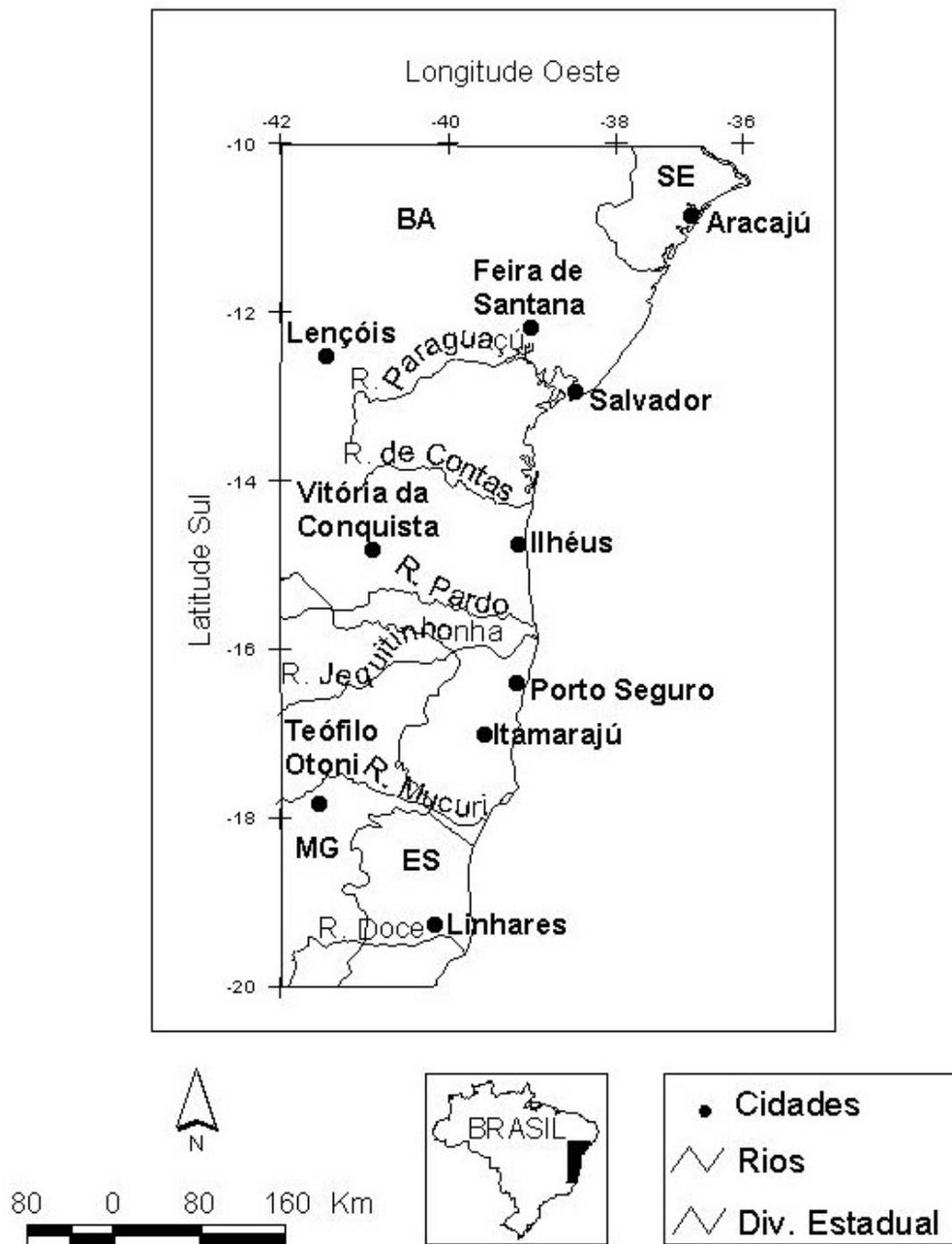


Figura 1 - Área de estudo, destacando principais cidades, rios e divisões estaduais.

E. permagnum: Ocorre na vegetação litorânea e na Floresta Ombrófila Densa e outras formações florestais da Mata Atlântica na metade sul da região estudada (Figura 3), aproximadamente ao sul da Baía de Camamu que é o limite norte conhecido da distribuição da espécie. É totalmente ausente do Planalto Baiano e das suas encostas, mas registra-se a espécie em todo o sul da Bahia, no Espírito Santo e na Serra do Espinhaço em Minas Gerais. Vive nas regiões de clima quente e úmido dos tipos Am, Aw, Cwa, e

Cwb com temperaturas médias anuais de 22-23°C, e precipitações pluviométricas superiores a 1.000 mm.

E. planidens: É conhecida somente no extremo sul do Estado da Bahia na região estudada (Figura 3). No entanto, tem-se registros desta mesma espécie de diversas localidades de Minas Gerais (fora da área alcançada pelo mapa) e de São Paulo. Vive em áreas de vegetação litorânea, e formações secundárias da Mata Atlântica, tendo sido coletada pelo menos em uma oportunidade em meio urbano.

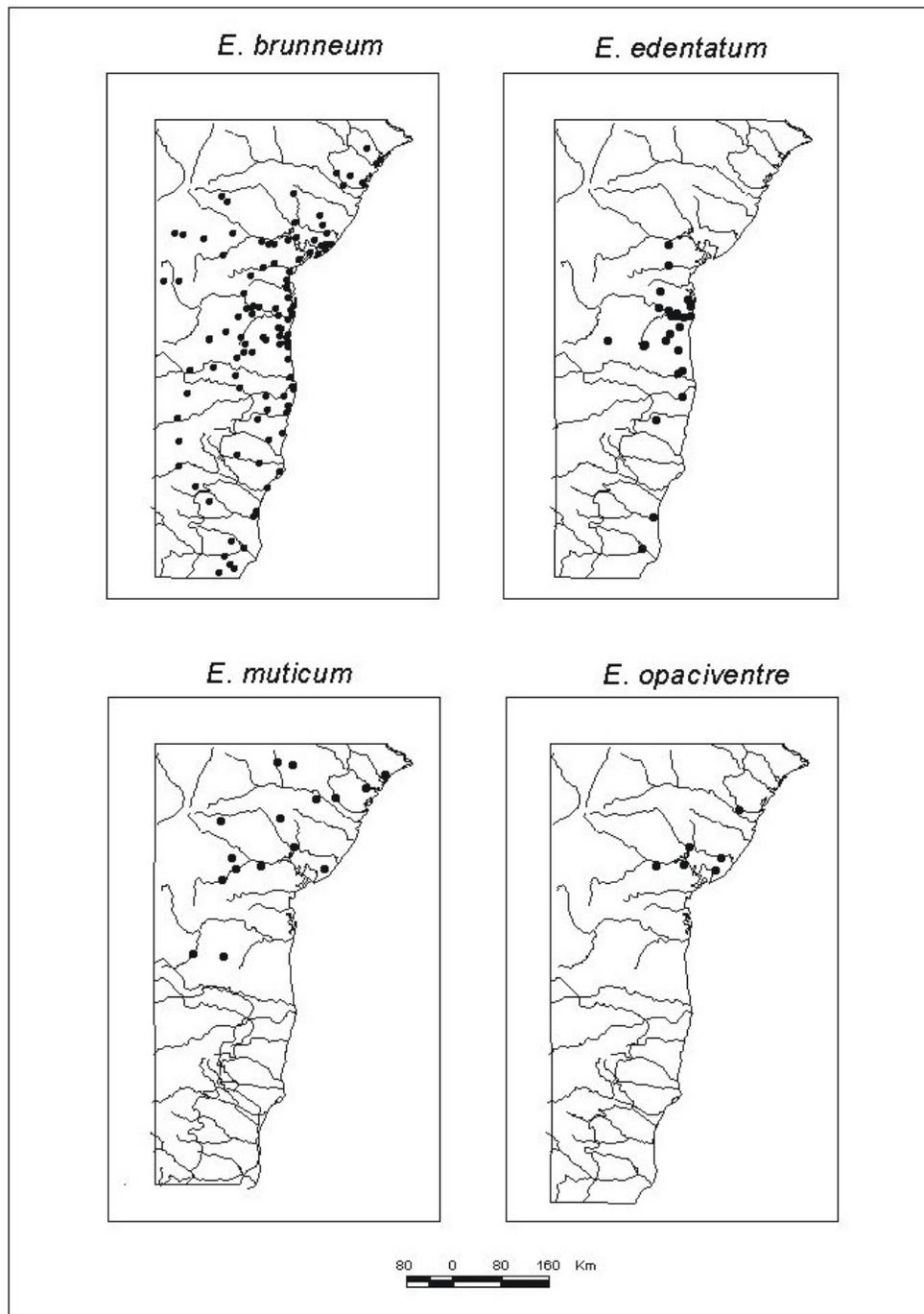


Figura 2 - Mapa de distribuição das espécies do gênero *Ectatomma* ocorrendo na região estudada. Cada ponto corresponde a um local de coleta.

Sua ocorrência na região em estudo corresponde a um clima quente e úmido do tipo Aw com temperaturas médias anuais de cerca de 23° C e precipitações pluviométricas superiores a 1500 mm.

E. suzanae: É uma espécie típica do Planalto baiano e de sua encosta, sendo abundante também no Recôncavo Baiano e na região litorânea ao norte de Salvador, está

presente também na Chapada Diamantina. Uma população ocorre em Linhares (Espírito Santo) (Figura 3). Esta formiga vive mais no sul, tendo sido descrita em São Paulo (Almeida, 1983). Ocorre em diferentes tipos de ecossistemas: formações vegetais da Mata Atlântica (região da encosta do planalto), restingas, campos rupestres e caatinga, em tipos de clima variando do semi-

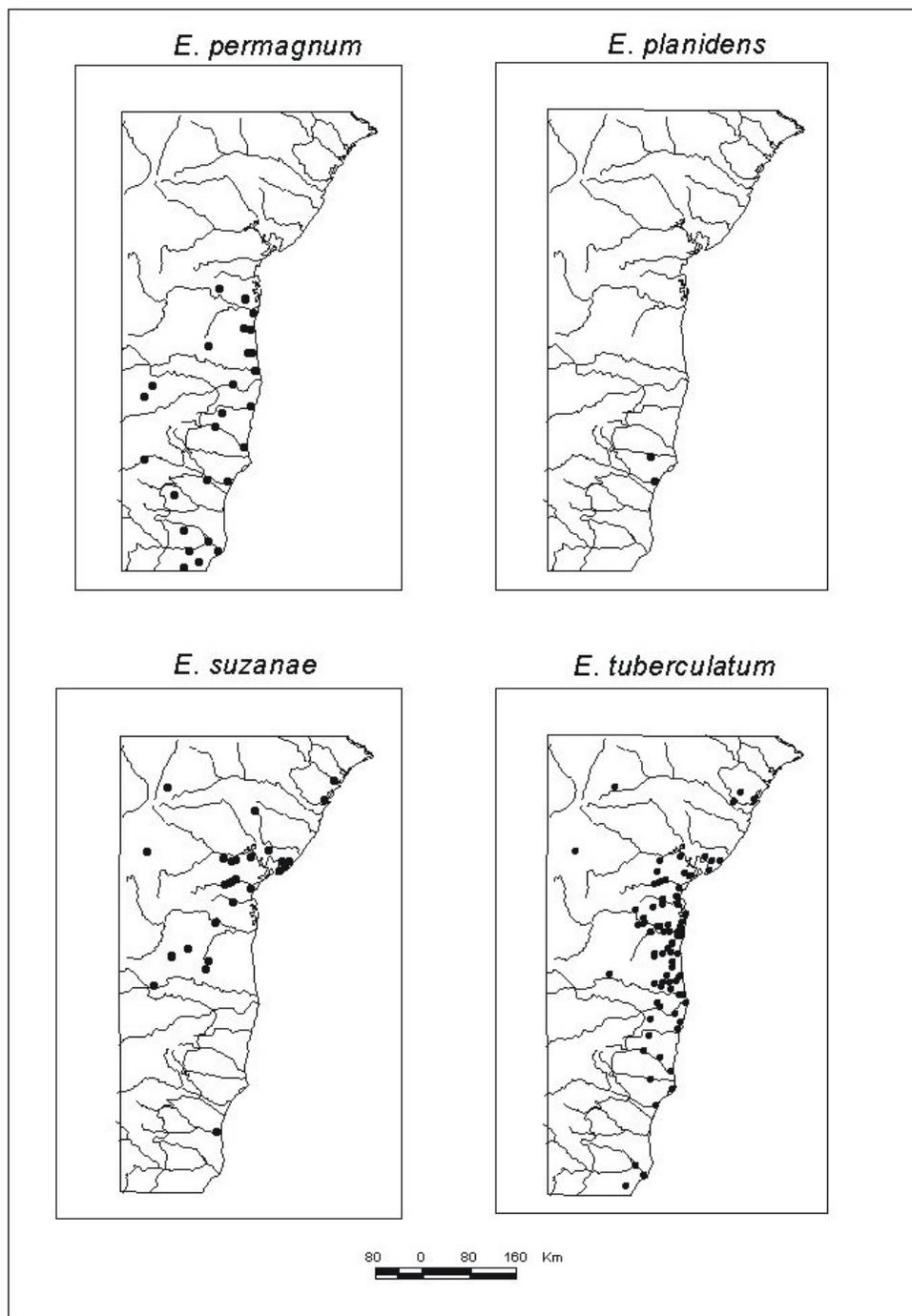


Figura 3 - Mapa de distribuição das espécies do gênero *Ectatomma* ocorrendo na região estudada. Cada ponto corresponde a um local de coleta

árido ao quente e úmido, de tipos Am, As, Aw e Bsh com ou sem estação seca, temperaturas médias anuais de 18 a 26°C e precipitações pluviométricas de 700 a 1500 mm.

E. tuberculatum: Possui praticamente a mesma distribuição geográfica (Figura 3) que *E. brunneum*, mas forrageia em árvores (é a única do gênero que é

arborícola), nos tipos climáticos As, Am, Aw e Bsh. Esta espécie é extremamente comum, principalmente nos cacauais do sudeste da Bahia e nas capoeiras em toda a região estudada, no entanto, é muito mais rara nos habitats xerófilos como as restingas e a caatinga, de onde há poucos registros.

Discussão

Três grandes conjuntos de distribuição geográfica das espécies se destacam dessa análise: 1) Espécies ubíquas: *E. brunneum* em áreas abertas com vegetação rala e pastagens, e *E. tuberculatum* em áreas arbóreas, florestas e, principalmente, capoeiras; 2) Espécies ocorrendo ao norte da encosta do Planalto Baiano e do Recôncavo Baiano: *E. opaciventre* em áreas mais secas do norte de Salvador, *E. muticum* da caatinga, dos campos rupestres e das restingas e *E. suzanae* que existe através de toda esta região e desce na encosta do Planalto em direção à área de transição da Mata Atlântica; 3) Espécies com distribuição alopatrica às anteriores, ocorrendo ao sul do Recôncavo Baiano e da encosta do Planalto Baiano: *E. permagnum* e *E. edentatum*, ambas praticamente simpátricas, e muito mais localmente no sul, *E. planidens*. Sobrepondo as diferentes distribuições das espécies, deduz-se que ocorrem entre duas a quatro espécies em qualquer localidade da região estudada. Por sua vez, a linha que segue de Salvador até Vitória da Conquista e que acompanha a encosta do Planalto Baiano parece ser um excelente divisor faunístico no caso das *Ectatomma*, o qual separa os conjuntos 2 e 3 acima definidos.

Ao contrário da maior parte das demais espécies Neotropicais da subfamília Ectatomminae (que inclui também, na sua concepção atual [vide Bolton, 2003], os gêneros *Gnamptogenys* e *Typhlomyrmex* na Região Neotropical) que são sempre localmente discretas ou raras, as *Ectatomma* têm uma presença marcada em todos os ambientes regionais, assim como observado por Kugler e Brown (1982) para toda a Região Neotropical. No entanto, a abundância de algumas espécies destas formigas em determinados habitats é certamente o produto das transformações recentes dos ambientes nativos brasileiros e sua distribuição atual deve ser interpretada considerando as alterações climáticas que ocorreram desde o final do terciário e, também, pela antropização dos ambientes nativos na época moderna (desde a colonização portuguesa): *E. brunneum*, por exemplo, é provavelmente originária de um ambiente de tipo campo ou restinga, e está certamente beneficiada pelo desmatamento geral para expandir sua área de distribuição. Por sua vez, *E. suzanae* pode ser uma espécie originária de um ambiente de tipo cerrado e que tem se expandindo na encosta do Planalto Baiano em época recente, aproveitando o drástico desmatamento feito nesta região. Também, é certo de que as espécies xerófilas, como *E. muticum* e *E. opaciventre*, estão expandindo sua área de ocorrência em função das modificações pós-colonização de ocupação dos solos pela vegetação nativa ou cultivada.

A atuação das *Ectatomma* como agentes naturais de controle biológico de pragas de culturas faz com que as espécies pertencentes a esse gênero apareçam

frequentemente em estudos desenvolvidos por entomologistas que avaliam os aspectos do impacto de formigas em diversos tipos de manejo ou atividades agrícolas na Região Neotropical (Mackay *et al.*, 1991; Bestelmeyer e Wiens, 1996). Sua importância nos principais cultivos regionais como cacau, café, cana-de-açúcar, frutas cítricas e outras frutas de interesse local, assim como em pastagens, é muito grande, apesar de ter sido imperfeitamente avaliada até o momento, e estudos complementares se fazem necessários para que estes insetos úteis possam ser melhores aproveitados em prol de uma agricultura sustentável que deve absolutamente procurar minimizar o uso de inseticidas.

Agradecimentos

Os autores agradecem a J. C. S. do Carmo, J. R. M. dos Santos pela coleta das formigas no campo e as estagiárias pela montagem do material. J.H.C.D, V.C.F., H.S.R.A. e I.C.N. são bolsistas de diversas modalidades do CNPq. Projetos CNPq 520910/96/6 & 55071/02-8.

Literatura Citada

- ANTONIALI-JUNIOR, W.F.; GIANNOTTI, E. 1997. Nest architecture and population dynamics of the Ponerinae ant, *Ectatomma opaciventre* Roger (Hymenoptera: Formicidae). *Journal Advanced Zoology* 18: (2): 64-71.
- ALMEIDA FILHO, A. J. de. 1983. Estudo sobre *Ectatomma Smith*, 1858 (Hymenoptera, Formicidae, Ponerinae) da região neotropical. Tese de Mestrado. Curitiba, UFPR. 193p.
- ALMEIDA FILHO, A. J. de. 1986. Descrição de quatro machos do gênero *Ectatomma* Smith, 1858 (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae). *Quid*. 6: 24-38.
- ALMEIDA FILHO, A. J. de. 1987. Descrição de seis fêmeas do gênero *Ectatomma* Smith, 1858 (Hymenoptera, Formicidae, Ponerinae). *Annual da Sociedade Nordestina Zoológica* 1: 175-183.
- BESTELMEYER, B. T. 1996. The effects of land use on the structure of ground-foraging ant communities in the Argentine Chaco. *Ecological Application* 6: 1225-1240
- BOLTON, B. 1995. A new general catalogue of the ants of the World. Cambridge. Harvard University Press, 504p.
- BOLTON, B. 2003. Synopsis and classification of Formicidae. The American Entomological Institute, Gainesville. FL. 370p.
- BRANDÃO, C.R.F. 1991. Adendos ao catálogo abreviado das formigas da região Neotropical (Hymenoptera: Formicidae). *Revista Brasileira de Entomologia* 35: 319-412.
- BROWN, W.L. 1958. Contributions towards a reclassification of the Formicidae. II. Tribe Ectatommini. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* 118: 175-362.
- CAROLL, C.R.; JANZEN, D.H. 1974. Ecology of foraging by ants. *Annual Ver. Ecology System* 4: 231-257.
- DE CARLI, P.; et al. 1998. Études en milieu naturel du comportement

- de cleptobiose chez la fourmi néotropical *Ectatomma ruidum* (Hymenoptera, Ponerinae). Actes Collection Insect. Society 11: 29-32.
- DEJEAN, A., LACHAUD, J. P.; FRESNEAU, D. 1989. Mise en place du comportement de prédation au cours de la fondation de la société chez *Ectatomma tuberculatum* (Hymenoptera, Formicidae, Ponerinae). Actes Collection Insect. Society 5: 215-223.
- DEJEAN, A.; LACHAUD, J. P. 1992. Growth related changes in predation behavior in incipient colonies of the Ponerine ant *Ectatomma tuberculatum* (Olivier). Insect. Society 39: 129-43.
- DELABIE, J.H.C. 1989. Estratificação do formigueiro e do território de *Ectatomma tuberculatum* (Formicidae: Ponerinae). Resumos. In: I Simpósio Latinoamericano sobre Insetos Sociais Neotropicais. Rio Claro, UNESP. p23.
- DELABIE, J.H.C. 1990 The ant problems of cocoa farms in Brazil, In: R K Vander Meer, K Jaffe and A Cedeño eds., Applied Myrmecology: A World Perspective. Boulder, Colorado, USA, Westview Press. pp.555-569.
- DELABIE, J.H.C. 1999. Aspectos da mirmecofagia na Região neotropical. Naturalia (Brasil) 24 (n.esp.): 225-231.
- DELABIE, J.H.C. 2001. Trophobiosis between Formicidae and Hemiptera (Sternorrhyncha and Auchenorrhyncha): an overview. Neotropical Entomology 30 (4): 501-516.
- DELABIE, J.H.C.; MARIANO, C.S.F.; NASCIMENTO, I.C. 1998. As formigas do Município de Ilhéus (Insecta: Hymenoptera: Formicidae). Especiaria 1(2): 133-152.
- DIETRICH, C.H.; MCKAMEY, S.H. 1990. Three new idiocerine leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) from Guyana with notes on ant-mutualism and subsociality. Proceedings Entomology Society Washington 92: 214-223.
- FERNÁNDEZ, F. 1991. Las hormigas cazadoras del género *Ectatomma* (Formicidae: Ponerinae) en Colombia. Caldasia 16: 551-564.
- FOWLER, H.G., et al. Ecologia nutricional de formigas. 1991. In: Panizzi, A. R.; Parra, J. R. P. ed., Ecologia Nutricional de insetos e suas aplicações no manejo de pragas. São Paulo. Ed. Malone e CNPq. pp.141-233.
- FOWLER, H.G. 1994. Interference competition between ants (Hymenoptera: Formicidae) in Amazonian clearings. Ecologia Austral 4: 35-39.
- KEMPF, W.W. 1972. Catalogo abreviado das formigas da Região Neotropical. Studia Entomologica 15: 3-344.
- KUGLER, C.; BROWN JR, W. L. 1982. Revisionary and other studies on the ant genus *Ectatomma*, including the description of two new species. Search Agriculture 24: 1-8.
- LACHAUD, J.P. 1985. Recruitment by selective activation: an archaic type of mass recruitment in a Ponerine ant (*Ectatomma ruidum*). Sociobiology 11 (2): 133-142.
- LACHAUD, J. P. 1990. Foraging activity and diet in some Neotropical ponerine ants. I. *Ectatomma ruidum* Roger (Hymenoptera: Formicidae). Folia Entomologica Mexicana 78: 241-256.
- LACHAUD, J.P.; VALENZUELA, J.; LOPEZ, A. 1982. Foraging activity of the ant *Ectatomma ruidum* in plants of coffee and cacao. Breed, M.D.; Michener, C.D.; Evans, H.E. The Biology of Social Insects. 35p.
- LACHAUD, J.P., et al. 1990. La prédation chez *Ectatomma ruidum*: étude de quelques paramètres environnementaux. Actes Collection Insect. Soc. 6: 151-155.
- LACHAUD, J.P., et al. 1996. Comparaison de l'impact de prédation de deux ponérines du genre *Ectatomma* dans un agrosystème néotropical. Actes Coll. Insect. Society 10: 67-74.
- LEVINGS, S.C.; FRANKS, N.R. 1982. Patterns of nest dispersion in a tropical ground ant community. Ecology 63: 338-344.
- MACKAY, W. P.; et al. 1991. Impact of the slashing and burning of a tropical rain forest on the native ant fauna (Hymenoptera: Formicidae). Sociobiology 18 (3): 257-268.
- MARQUES, O.M.; et al. 1995. Hábitos de nidificação e alimentação de *Ectatomma quadridens* (Fabricus, 1773) (Hymenoptera, Formicidae) em Cruz das Almas. Insecta 4 (1): 1-9.
- OVERAL, W.L. 1986. Recrutamento e divisão de trabalho em colônias naturais da formiga *Ectatomma quadridens* (Fabr.) (Hymenoptera: Formicidae: Ponerinae). Bol. Mus. Para. Emilio Goeldi Serie Zoologia 2: 113-135.
- PAIVA, R. V. S.; BRANDÃO, C. R. F. 1989. Estudos sobre a organização social de *Ectatomma permagnum* Forel, 1908 (Hymenoptera: Formicidae). Revista Brasileira de Biologia 49: 783-792.
- PERFECTO, I.; VANDERMEER, J.H. 1993. Cleptobiosis in the ant *Ectatomma ruidum* in Nicaragua. Insect Sociology 40:295-299.
- SCHATZ, B.; LACHAUD, J. P.; BEUGNON, G. 1997. Graded recruitment and hunting strategies linked to prey weight and size in the ponerine ant *Ectatomma ruidum*. Behav. Ecology Sociobiology 40 (6): 337-349.
- VALENZUELA, J.; LACHAUD, J. R. 1982. Las presas de *Ectatomma tuberculatum* Roger sobre plantas de café y cacao en El Sonconusco, Chis. (Hymenoptera Formicidae). Folia Entomologica Mexicana 54: 76-77.
- VALENZUELA GONZÁLEZ, J.; LÓPEZ-MÉNDEZ, A.; LACHAUD, J.P. 1995. Activity patterns and foraging activity in nests of *Ectatomma tuberculatum* (Hymenoptera, Formicidae) in cacao plantations. Southwest. Entomology 20: 507-515.
- WEBER, N.A. 1946. Two common ponerine ants of possible economic significance, *Ectatomma tuberculatum* (Olivier) and *E. ruidum* Roger. Proceedings Entomology Society 48: 1-16.
- WHEELER, D.E. 1986. *Ectatomma tuberculatum*: foraging biology and association with *Crematogaster* (Hymenoptera: Formicidae). Annual Entomology Society America 79: 300-303.



AGRICULTURA FAMILIAR: ELEMENTOS TEORICOS E EMPÍRICOS

Heribert Schmitz¹, Dalva Maria da Mota²

¹ Doutor em Ciências Agrárias, Professor de Sociologia, Universidade Federal do Pará (UFPA), Belém-PA; Bolsista de Produtividade do CNPq; heri@amazon.com.br

² Dra. em Sociologia, Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA; Bolsista de Produtividade do CNPq; dalva@cpatu.embrapa.br

O objetivo deste artigo é instigar o debate sobre o conceito de agricultura familiar através da análise de aspectos teóricos e empíricos. Na primeira parte, a trajetória dos conceitos campesinato, pequena produção e agricultura familiar é analisada através da revisão da contribuição de diferentes autores ao longo das últimas décadas. Na segunda, é mostrada a importância da agricultura familiar para a produção de alimentos, geração de ocupações e renda no espaço rural, através da análise de dados de diferentes origens, finalizando por evidenciar o seu destaque na região Nordeste, onde encontra-se a metade dos estabelecimentos familiares do Brasil. Por último, é discutida a questão: Por que os agricultores familiares continuam nessa atividade apesar da baixa remuneração do seu trabalho?

Palavras-chave: Agricultura familiar, campesinato, pequena produção, estabelecimento agrícola familiar, segurança alimentar

Peasant agriculture: theoretical and empirical viewpoints. This article discusses the concept of peasant agriculture (*agricultura familiar*) from both a theoretical and empirical viewpoint. First, it traces the evolution of the concepts "campesinato", smallholder production (*pequena produção*) and peasant agriculture, reviewing the contribution of different authors over the last few decades. Second, using data from different sources, it demonstrates the importance of peasant agriculture in rural settings, in terms of food production, employment and income, and concludes by highlighting its relative importance in the Northeast of Brazil, where at least half the peasant farms are located. Finally, it discusses why, despite the low pay, peasants continue working in agriculture.

Key words: Peasant agriculture, campesinato, smallholder production, family farm, food security

Introdução

A agricultura familiar, hoje reconhecida como categoria social e de ação política (Neves, 2002:135-139) no debate acadêmico e nas políticas públicas, durante muito tempo não foi considerada relevante para o desenvolvimento rural. Frequentemente, usava-se a expressão pequenos produtores para descrever esta categoria que parecia ter o seu futuro irremediavelmente marcado pela eliminação, cedendo lugar às empresas agropecuárias, no processo de modernização capitalista. Experiências durante a década de 1980, especialmente no sul do Brasil (Graziano da Silva, 1982; Fleischfresser, 1988), alimentaram esta visão, baseada em trabalhos teóricos de inspiração marxista que não viam a possibilidade de sobrevivência de um segmento social que pela sua duplicidade de condição (ao mesmo tempo proprietário e trabalhador) não acirrava a relação capital-trabalho. Estas diferentes visões não se limitaram ao debate acadêmico, mas tiveram impactos fulminantes, a exemplo do que ocorreu com a desapropriação e coletivização da agricultura nos países do chamado socialismo real, provocando diferentes estratégias de resistência ou fuga dos agricultores.

A análise deste segmento social, diferente da agricultura patronal, mostrou, entre diversas escolas, controvérsias enormes. Uma parte dos cientistas considerava estes agricultores como empresários que pretendiam maximizar os lucros. Outros achavam que se tratava de um segmento caracterizado pela irracionalidade de gerenciamento das unidades de produção, pelo atraso tecnológico e por seu enraizamento profundo na tradição. Outros, como Schultz (1995) (Primeira publicação: Schultz, T.W. *Transforming Traditional Agriculture*. New Haven, Yale University Press, 1964.) insistiram, depois de muitos anos de pesquisa e extensão rural, na racionalidade do agricultor.

Vários autores tiveram que recorrer a diferentes estudos sobre o desenvolvimento dos países europeus (Alemanha, França, Polônia), asiáticos (Japão, Coreia, Filipinas, Indonésia) e norte-americanos (Estados Unidos, Canadá) para demonstrar a importância da agricultura familiar para o desenvolvimento da sociedade. Pode-se mencionar Hayami & Ruttan (1985), Lamarche (1993, 1998) e, no Brasil, os trabalhos de Veiga (1991), Abramovay (1992), Wanderley (1997), Romeiro (1998) e Costa (2000). Nesse contexto, uma iniciativa muito importante foi o resgate das análises de Chayanov (1974). (Primeira publicação em alemão: Tschajanow, Alexander. *Die Lehre von der bäuerlichen Landwirtschaft. Versuch einer Theorie der Familienwirtschaft im Landbau*. Berlin, Parey Verlag, 1923. 131p.1923.) Apesar dos autores brasileiros utilizarem também as denominações camponês e pequenos produtores, constata-se a predominância de agricultura familiar nos últimos anos, demarcado pelo surgimento do Programa Nacional de Agricultura Familiar (PRONAF) no

início de 1990. Cada uma destas denominações está intimamente associada a um contexto e ao papel que era relegado a estes atores nos diferentes modelos de desenvolvimento da sociedade brasileira, conforme discutido por Moraes (1998).

O objetivo deste artigo é instigar o debate sobre o conceito de agricultura familiar através da análise de aspectos teóricos e empíricos. Na primeira parte, analisa a trajetória dos conceitos camponês, pequena produção e agricultura familiar através da revisão da contribuição de diferentes autores ao longo das últimas décadas. Na segunda, mostra através da análise de dados, a importância da agricultura familiar para a produção de alimentos, geração de ocupações e renda no espaço rural, finalizando por evidenciar o seu destaque na região Nordeste, onde encontra-se a metade dos estabelecimentos familiares do Brasil (Guanziroli *et al.*, 2001:56). Discute ainda a questão: Por que os agricultores familiares continuam nessa atividade apesar da baixa remuneração do seu trabalho?

As análises aqui realizadas são resultantes de extensa revisão de literatura sobre camponês e agricultura familiar no Brasil e em outras partes do mundo, além da experiência dos autores nos trabalhos de campo realizados em diferentes países nos últimos 20 anos e da constante orientação de alunos em cursos de pós-graduação.

AGRICULTURA FAMILIAR: POSSIBILIDADES CONCEITUAIS

Caracterização da agricultura familiar

Sidersky (1990), utilizando paralelamente os conceitos do pequeno produtor e da unidade econômica camponesa, estabelece três características básicas para definir a unidade econômica camponesa: o acesso aos meios de produção, entre os quais a terra; o caráter familiar da produção; a relação com o mercado, como articulação com o sistema global capitalista. Estas características são também discutidas por Romeiro (1998).

Apesar do reconhecimento da expressão agricultura familiar no debate acadêmico e nas políticas públicas a partir dos anos de 1990, a questão da diferenciação interna impõe algumas dificuldades. Quais os critérios para identificar agricultores familiares, por exemplo, no Estado do Pará, com tipos tão diferentes como: 1) o produtor de maracujá com uma área de 20 ha irrigado no nordeste paraense, contratando um percentual elevado de mão-de-obra; 2) o “caboclo” na região das ilhas; 3) o colono da Transamazônica com uma área diversificada de 300 ha e que conta com culturas anuais, perenes e pecuária, cedendo uma área de cacau para um meeiro e contratando serviço de empreitada, por exemplo, para a derrubada no sistema

de roça. Neste cenário, é o produtor de maracujá que parece aplicar estratégias semelhantes ao grande produtor de soja e que é o mais vulnerável porque é dependente de um único produto, enquanto o colono da Transamazônica aumenta ainda o seu território para manter um estoque de fertilidade (floresta, capoeira) como reserva para os seus filhos. No Nordeste brasileiro, os produtores de laranja nos Tabuleiros Costeiros de Sergipe, dependentes de um produto, são mais vulneráveis, enquanto os do Agreste e do Sertão sergipano procuram manter uma diversificação que permite a alternatividade.

Muitos pesquisadores escolhem o tamanho da área do estabelecimento como critério central para distinguir a agricultura familiar da agricultura patronal, sendo este o critério mais fácil de constatação num questionário, dentro de uma pequena margem de erro. Outros critérios discutidos são: o grau da utilização da mão-de-obra familiar, a renda do agricultor, a significância do autoconsumo (subsistência), as regras de herança, a relação com os recursos naturais, a cultura, dentre outras possibilidades.

Todos estes critérios abordados individualmente para definir a agricultura familiar, apresentam limitações, principalmente, o relativo ao tamanho da área ao não abordar a questão das lógicas internas, da cultura e das representações, dentre outros aspectos, a exemplo da supremacia da eficiência da agricultura familiar em relação ao grande estabelecimento que desde o século passado é o centro de uma polêmica para diferentes cientistas.

O estudo FAO/INCRA (1996), tentando traçar uma linha divisória entre os conjuntos patronal e familiar, considera estabelecimentos familiares aqueles que preenchem, simultaneamente, as seguintes condições: a) a direção do trabalho é exercido pelo produtor; b) não existem despesas com serviços de empreitada; c) número de empregados permanentes e temporários menor ou igual a quatro temporários (sem permanente) ou três temporários (no caso de no máximo um permanente), calculado a média anual; d) com área total menor ou igual a quinhentos hectares para as regiões Sudeste e Sul e mil hectares para as demais regiões. Porém, após vários anos de debate, os autores do estudo FAO/INCRA propõem uma revisão desta definição e afirmam que a agricultura familiar pode ser caracterizada da seguinte forma (Guanziroli *et al.*, 2001:50): a direção dos trabalhos do estabelecimento é exercida pelo produtor; o trabalho familiar é superior ao trabalho contratado. Foi estabelecida uma “área máxima regional” para cada grande região no Brasil como limite superior para a área total dos estabelecimentos familiares que considere as enormes diferenças regionais para evitar que grandes latifúndios improdutivos sejam incluídos no universo de unidades familiares. (Esta “área máxima regional” é de 694,5 ha para a região Nordeste e de 1.222 ha para a região Norte (Guanziroli *et al.*, 2001:108). No Estado do Pará, em quase todas as regiões predomina a mão-de-obra familiar nos estabelecimentos de até 200 ha.)

Na última década, a importância da agricultura familiar se mostra também nas políticas públicas, resultado de reivindicações das organizações dos trabalhadores rurais, especialmente do Movimento dos Trabalhadores Rurais Sem Terra (MST), sendo os destaques a Reforma Agrária, o Censo da Reforma Agrária, o Projeto Lumiar, o PRONAF e o Programa 09 sobre Agricultura Familiar da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) que, embora extinto, foi um marco nos anos de 1990, considerando que foi uma das primeiras iniciativas desta empresa de sistematização das suas ações com este segmento social.

O meio rural, cenário em que a agricultura familiar se situa, é hoje, mais do que nunca, espaço constituído por múltiplas atividades agrícolas e não-agrícolas, motivo pelo qual a agricultura familiar é aqui compreendida numa concepção mais ampla incluindo, de forma integral, atividades como a organização de agricultores, produção, beneficiamento, comercialização de produtos agrícolas e não-agrícolas, turismo, pesca, artesanato, etc., conformando o que hoje denomina-se “novo mundo rural” (Graziano da Silva e Del Grossi, 1995; Graziano da Silva, 1999).

Na realidade, não se constitui uma novidade a pluriatividade no meio rural. Novidade é a sua intensificação e diversificação numa sociedade em que novos bens de consumo são criados diariamente para atender as necessidades de um mercado segmentado. Nestes termos, até o cuidado ambiental passa a ser “produto” de desejo passível de geração de renda a exemplo do Programa de desenvolvimento socioambiental da produção familiar rural (Proambiente; FETAGs *et al.*, 2003), que pretende pagar várias medidas ecológicas dos produtores familiares através de condições favoráveis de crédito (transferência de recursos públicos) sendo o cumprimento controlado por instituições externas (certificação socioambiental).

Uma característica da agricultura familiar brasileira é que, com raras exceções, (Por exemplo em Ijuí - RS, segundo Wanderley (Lamarche, 1993:213), “certamente devido a sua herança colonial”) não existem aldeias no sentido europeu, com vida própria e independente de outros centros. A moradia, normalmente, é situada dentro dos limites do estabelecimento agrícola, fato que dificulta o acesso aos serviços como escola, saúde, extensão rural e comercialização. Este problema é maior em regiões com um tamanho padrão (módulo) maior da unidade produtiva, como por exemplo na Transamazônica no Estado do Pará com um módulo de 100 ha. Isso leva à tendência da família viver parcialmente na cidade (p.ex., na sede do município, unidade diferente da aldeia européia) que oferece oportunidades maiores, sendo muitas vezes a família dividida entre o estabelecimento (p.ex., o pai) e a cidade (a mãe e os filhos que estudam).

Agricultura familiar: categoria social ou de ação política?

Atualmente pode-se distinguir cinco denominações para a agricultura familiar, isto é, a agricultura não patronal (ou não empresarial):

- a) campesinato;
- b) pequena produção;
- c) agricultura familiar;
- d) produção familiar rural;
- e) produção (familiar) coletiva.

Além disso, existem outras expressões para distinguir esta categoria social no meio rural como posseiro, trabalhador rural e outras expressões que serão discutidas posteriormente. Enquanto posseiro se refere apenas ao fato de alguém não ter o título da terra que administra (ver Guerra, 2001:17-18), o uso do termo trabalhador rural é muito ligado aos sindicatos que representam as pessoas trabalhando no meio rural. Na América Latina, o Brasil e o Paraguai são os únicos países, nos quais os trabalhadores da agricultura e os agricultores são organizados conjuntamente. Atualmente existem na *Confederação Nacional dos Trabalhadores na Agricultura (CONTAG)* pretensões em criar também no Brasil dois sindicatos diferentes para a organização dos agricultores e dos trabalhadores da agricultura.

O nome “sindicato dos trabalhadores rurais” não explicita a diversidade real das categorias sociais que o mesmo comporta como membros associados. Em muitas regiões brasileiras, os agricultores familiares constituem a maior parte dos sócios. Os verdadeiros trabalhadores da agricultura (p.ex., assalariados, diaristas, empreiteiros, bóias-frias) são contratados tanto pela agricultura empresarial quanto pela agricultura familiar. Além disso, existem outras categorias sociais que não serão tratadas aqui (meeiros, agregados, sem-terra, etc.). Os conflitos sociais entre estas diferentes categorias são escamoteados pelo fato de todas elas serem representadas por um sindicato comum. Porém, aqui tratamos apenas aquelas categorias sociais que administram “suas” terras, sendo elas administradas individualmente (p.ex., pela família) ou coletivamente (p.ex., pelo sistema de cooperação; Abe, 2004:134).

Os primeiros três conceitos, o campesinato, a pequena produção e a agricultura familiar, surgiram de forma cronológica em função de diferentes modelos de desenvolvimento. Podemos então discutí-los sob dois ângulos diferentes:

- como conceito político no momento da sua emergência;
- como conceito social na sua contribuição atual para descrever a categoria em questão.

Conceitos de ação política

Como mostra Moraes (1998), o campesinato, a pequena

produção e a agricultura familiar, em algum momento eram conceitos de ação política.

O campesinato, a partir da sua formulação original no Brasil nos anos de 1950, incorporou a “diversidade das populações agrárias não-patrimonialistas e nem proletárias”, “conquista hegemonia na análise destas populações” e dá “unidade a uma grande diversidade de relações de trabalho e de formas de acesso à terra e tomando corpo como uma identidade política, fundamental às lutas agrárias neste contexto” (Moraes, 1998:123). O campesinato foi associado a um conteúdo político-ideológico e o conceito oposto foi o do latifúndio. O campesinato continua hoje, como também em outros períodos no Brasil, como uma bandeira da ação política, como mostra o esforço recente de desenvolver um Plano Camponês, apoiado pelo Movimento dos Pequenos Agricultores (MPA) e a Via Campesina.

A pequena produção substitui, a partir dos anos de 1970, o então hegemônico conceito de campesinato. Esta expressão está estreitamente ligada à transformações políticas do estado (ditadura militar) e à consequente “...desarticulação de vários movimentos organizados com base numa identidade camponesa” (Moraes, 1998:125). Foi o momento da criação da EMBRAPA, da implantação do modelo de transferência de tecnologia no Brasil e da modernização conservadora (ver Schmitz, 2001). Aparece o contraste entre pequena e grande produção, separados pela média produção. Neste modelo, a diferença era apenas o tamanho e todas as categorias sociais no meio rural eram produtores e, assim, suscetíveis a ser atendidos por programas governamentais. Este conceito contribuiu para uma despolitização do tema.

A agricultura familiar está ligada à redemocratização e às categorias sociais no campo que foram agrupadas sob este novo conceito, caracterizado por Neves (2002:137) como “uma categoria de ação política que nomeia um amplo e diferenciado segmento mobilizado à construção de novas posições sociais mediante engajamento político”. Agora as entidades contrastivas são a agricultura familiar e a agricultura patronal. Pode ser incorporada na agricultura familiar toda a população agrária que administra um estabelecimento agrícola como os assentados, agricultores de subsistência, posseiros, etc., mas não os “verdadeiros” trabalhadores sem terra e os trabalhadores da agricultura, nem o meeiro.

Contribuição dos conceitos para a análise contemporânea

Apesar dos termos campesinato, pequena produção e agricultura familiar terem sido considerados conceitos de ação política, muitas vezes, foram usados como sinônimos e, na época do predomínio de cada um no debate, tinham em comum o fato de descrever os mesmos segmentos da

população rural. Por isso, discutiremos, em seguida, qual o significado dos cinco conceitos apresentados para a análise das populações agrárias. Porém, podemos aqui apenas iniciar o debate que será aprofundado em outro momento.

a) Campesinato

Segundo Wanderley (1997:10), o campesinato pode ser considerado, hoje, como um segmento da agricultura familiar. Para a autora, o campesinato tradicional é uma forma particular da agricultura familiar. Mendras (1976, citado por Lamarche, 1993:16) identifica cinco elementos característicos do tipo ideal de sociedade camponesa:

a autonomia relativa em relação à sociedade como um todo; a importância estrutural do grupo doméstico; um sistema econômico de autarquia relativa; uma sociedade de interrelacionamentos; e a função decisiva das personalidades de prestígio (Os mediadores) que estabelecem uma relação entre a sociedade local e a sociedade em geral.

Uma característica importante é o saber tradicional, também chamado saber autóctone ou saber popular. Assim, o campesinato tem “uma cultura própria, que se refere a uma tradição, inspiradora, entre outras, das regras de parentesco, de herança e das formas de vida local” (Wanderley, 1997:27). O camponês não pode ser identificado simplesmente a uma agricultura de subsistência. Sempre foi “... uma orientação comum e natural destes agricultores, a busca de produto ou produtos comercializáveis, que sejam o carro-chefe do sistema produtivo adotado. ... Esta dupla preocupação – a integração ao mercado e a garantia do consumo – é fundamental para a constituição do que estamos aqui chamando de ‘patrimônio socio-cultural’ do campesinato brasileiro” (Wanderley, 1997:27).

b) Pequena produção

Este termo muito utilizado sugere algo pequeno, por exemplo, em termos de área do estabelecimento ou do valor da produção. Mesmo dando mais abertura a esta expressão, esta relação se estabelece facilmente. No entanto, como abordamos no primeiro capítulo deste artigo, estes critérios não correspondem à heterogeneidade de situações da agricultura que este termo pretende descrever. Nem sempre, a produção dos agricultores familiares é pequena como discutido, por exemplo, por Abramovay (1992) e Guanzioli *et al.* (2001). (O valor médio da renda total por ano dos agricultores familiares tipo A, ou seja, daqueles que têm a maior renda num universo de 4 tipos (A, B, C e D), é maior do que o valor médio da renda total por ano dos agricultores patronais nas duas regiões, Norte (R\$ 12.855 vs. R\$ 11.883) e Nordeste (R\$ 10.555 vs. R\$ 9.891), e alcança quase a mesma dimensão no Brasil como um todo (R\$ 15.986 vs. R\$ 19.085) (Guanzioli *et al.*, 2001:59, 78, 85). Por isso, não acreditamos que este termo seja adequado como unidade analítica. Porém, reconhecemos que, na nossa experiência, esta expressão é a mais usada pelas populações agrárias que se

autodenominam de produtores rurais. O estudo das razões para o estabelecimento desta identidade pode ser revelador. Apesar de ser pouco útil, este termo é utilizado por muitos autores com trabalhos reconhecidos nesta área, paralelamente ao termo de campesinato, a exemplo de D’Incao (2002:13) e Garcia Júnior (1989:30).

c) Agricultura familiar

Wanderley (1997:10) confirma que “a agricultura familiar é um conceito genérico, que incorpora uma diversidade de situações específicas e particulares”. Esta diversidade torna necessário, a tipologia como um elemento da análise da exploração familiar agrícola. Assim, muitas das qualidades atribuídas ao campesinato caracterizam também a agricultura familiar que já foi tratada anteriormente. Estudos sugeriram a emergência de um agricultor familiar moderno, tipo *farmer*, integrado no mercado, que tenha a profissão do agricultor. Alguns autores buscam compreender “... a coexistência de uma produção familiar tecnificada e de outras formas mais próximas de um ideal camponês” (Moraes, 1998:132). Porém, encontra-se também uma visão evolucionista, que levou à tipologia: agricultura familiar consolidada, de transição e periférica. As organizações dos agricultores abraçaram o novo conceito e entendem a agricultura familiar como um projeto estratégico (Moraes, 1998:132).

d) Produção familiar rural

O conceito da produção familiar rural é utilizado na Amazônia, pois existem categorias que não são apenas agricultores e exercem atividades nas quais a agricultura é marginal, por exemplo, a pesca, o extrativismo vegetal, o trabalho na olaria ou o artesanato. Porém, esta problemática não está restrita à Amazônia. Utiliza-se, neste caso, também o termo de populações tradicionais, chamado de ribeirinho, caboclo, caipira, etc. (ver Conceição e Maneschy, 2002; Diegues, 1998; Castro, 1997; Hébette *et al.*, 2002; Lima, 1999). Mesmo as populações tradicionais, muitas vezes, durante vários séculos, produziram para a exportação e adaptaram-se de forma flexível às estratégias do mercado mundial, como mostra Homma (2001) no exemplo da Amazônia. (A economia da Amazônia atendeu desde 1730 a demanda externa em diferentes ciclos: primeiro cacau, depois borracha, pau-rosa (para perfume), castanha-do-pará (ou castanha-do-Brasil), juta, pimenta-do-reino, madeira de lei tropical, guaraná, etc.) Podemos considerar, a agricultura familiar, nestes casos, como um segmento da produção familiar rural.

e) Produção (familiar) coletiva

Neste conceito inscrevam-se, tanto povos indígenas e remanescentes de quilombos, quanto assentados da reforma agrária que resolveram produzir de forma coletiva, associando coletivismo e gestão familiar. A produção coletiva pode ser uma alternativa à penosidade e ao “sofrimento” (Isso se refere, especialmente, ao fato que os agricultores

familiares, na sua maioria, não gozam das conquistas sociais dos operários, como por exemplo, ter direito a férias) e isolamento da agricultura familiar, a exemplo dos *kibbutz*, dos estabelecimentos na propriedade de um grupo de pessoas antropológicas (ver a agricultura biodinâmica; Steiner, 1993) ou de experiências do MST (Abe, 2004; Carvalho, 1998). Por um lado, esta forma de produção pode ser muito eficaz, como no caso de alguns assentamentos do MST/MPA ou de exemplos em áreas indígenas, como mostram os Parkatêjê 30 km do centro de Marabá - PA, que plantam mandioca e possuem máquinas e equipamentos no nível de motomecanização tecnologicamente mais avançados que os da agricultura patronal da região (Batista, 2003). Por outro lado, pode ser problemático, se não for resultado de uma decisão voluntária dos produtores. Esta problemática aparece, por exemplo, onde populações rurais conquistam terras coletivas, se transformando de caboclos em índios ou remanescentes de quilombos, o que pode levar a conflitos sobre a maneira de viver e trabalhar dentro da área, como observamos recentemente na região do Raso da Catarina na Bahia, fato que pode resultar na exclusão de pessoas como comerciantes etc.

IMPORTÂNCIA DA AGRICULTURA FAMILIAR

A agricultura familiar no Brasil

Devido à ausência de dados atuais tratados de maneira que mostre a evolução da agricultura familiar, a análise baseia-se nos dados apresentados por Guanziroli *et al.* (2001) a partir do levantamento no Censo 1995/96. Existem dados anuais sobre a produção agropecuária que permitem apenas fazer uma estimativa a partir das mudanças do volume da produção em geral ou de determinados produtos tipicamente produzidos pela agricultura familiar, ficando ainda o problema da imprecisão de uma estimativa dessa natureza. Dados da Fundação Instituto de Pesquisas Econômicas (FIPE) encomendados pelo Ministério de Desenvolvimento Agrário (MDA) de 2003 (Em questão,

2004) confirmam o crescimento da agricultura familiar na produção agropecuária. Porém, estes dados se baseiam também, principalmente, no Censo 1995/96 e consideram uma definição diferente de agricultura familiar, "Para compor o estudo, a Fipec considerou como atividade familiar a realizada em propriedades com até quatro módulos rurais e dois empregados e analisou e atualizou os dados do Censo Agropecuário de 1995/1996" (Em questão, 2004) entre outros, baseada no tamanho do estabelecimento, critério questionado anteriormente. Como o estudo de Guanziroli *et al.* (2001) aponta em geral uma contribuição maior da agricultura familiar do que em 1985 (FAO/INCRA, 1996), consideramos os dados em Guanziroli *et al.* (2001) suficientes para uma análise estrutural.

No Brasil existem 4.859.732 estabelecimentos rurais (Tabela 1), que alcançam um valor bruto da produção de R\$47,8 bilhões. Destes, 4.139.369 (85,2%) são unidades familiares responsáveis por 37,9% da produção bruta (R\$) em 30,5% da área (107,8 milhões de ha, uma área 16% maior que a região Sudeste), apesar de receber apenas 25,3% dos financiamentos agrícolas (créditos). Na região Nordeste, a agricultura familiar responde por 43% do valor da produção agrícola e a área média dos estabelecimentos é de 17 ha (o menor tamanho médio no Brasil onde a média nacional é de 26 ha), enquanto os estabelecimentos patronais têm um tamanho médio de 269 ha (média no Brasil 423 ha) (Guanziroli *et al.*, 2001:53-57).

A renda média total (Neste valor são considerados as despesas (Guanziroli *et al.*, 2001:53) por estabelecimento familiar no Brasil é de R\$2.717 por ano (estabelecimentos patronais R\$19.085), resultando em uma média de R\$104 por ha (estabelecimentos patronais R\$44 / ha) (Tabela 2) (Guanziroli *et al.* (2001) utilizam os dados do Censo Agropecuário 1995/96 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Neste cálculo é incluído o consumo da família. (Os detalhes das limitações e cálculos apresentados se encontram em Guanziroli *et al.* (2001), que seguem, no princípio, a abordagem de Marc Dufumier, que realizou vários treinamentos no Brasil através do convênio FAO/INCRA) Na região Nordeste, a renda total por estabelecimento familiar é de R\$1.159, sendo a renda monetária de R\$696. A renda mensal total *per capita* (sob a suposição de 3 unidades de

Tabela 1. Número e área dos estabelecimentos por categoria.

Região/Tipo dos estabelecimentos	Número total dos estabelecimentos	Proporção do número total (%)	Área total dos estabelecimentos (km ²)	Proporção da área total (%)	Área média dos estabelecimentos (ha)
Brasil (Total)	4.859.732	100	3.536.030	100	*
Agricultura patronal	554.501	11,4	2.400.421	67,9	423
Agricultura familiar	4.139.369	85,2	1.077.685	30,5	26
Região Nordeste, Agr. patronal	*	*	*	*	269
Região Nordeste, Agr. familiar**	2.055.157	90,5	340.322	43,5	17

Observações: Os estabelecimentos patronais e familiares juntos resultam em menos que 100%, porque existem outros tipos (p.ex., estabelecimentos do estado ou das igrejas). Legenda: * - não existem dados; ** - Porcentagem refere-se à região. Fonte: Guanziroli *et al.* (2001: 53-65).

Tabela 2. Produção, renda, financiamento e ocupação na agricultura

Região/Tipo dos estabelecimentos	Produção agrípecuária (bruta) (bilhões de R\$)	Proporção do valor da produção total (%)	Renda anual por estabelec. (R\$)	Renda anual por ha (R\$)	Proporção no financiamento (%)	Proporção na ocupação no meio rural (%)
Brasil (Total)	47,8	100	*	*	100	100
Agricultura patronal	29,1	61,0	19.085	44	73,8	*
Agricultura familiar	18,1	37,9	2.717	104	25,3	76,9
Região Nordeste, Agr. patronal	*	*	9.891	37	*	*
Região Nordeste, Agr. familiar**	3,0	43,0	1.159	70	26,8	82,9

Observações: Os estabelecimentos patronais e familiares juntos resultam em menos que 100%, porque existem outros tipos (p.ex., estabelecimentos do estado ou das igrejas). A renda inclui o consumo.). Legenda: * - não existem dados; ** - Porcentagem refere-se à região. Fonte: Guanzirolí et al. (2001: 53-65).

trabalho familiar por estabelecimento) é R\$32. Calculando de maneira favorável à agricultura familiar considerando um mês de 21 dias de trabalho de um diarista, chegamos à conclusão que a renda mensal fica muito a baixo dos custos de oportunidade de aproximadamente R\$100 (diária média nos Estados do Nordeste R\$4,73 na época do estudo). (Ver Guanzirolí *et al.* (2001:109), sendo consideradas 26 dias de trabalho por mês, no cálculo apresentado por estes autores. No entanto, tem que ser considerado que o diarista nem sempre acha um trabalho sendo necessário ter uma noção da renda anual real desta categoria. Além disso, existem as “forças não-transferíveis” representado pelo trabalho de pessoas que fora do estabelecimento não se integrariam facilmente no mercado de trabalho como crianças, mulheres e idosos (Tepicht, 1973:38).

“A agricultura familiar é a principal fonte de ocupação de força de trabalho no meio rural brasileiro.” (Guanzirolí *et al.*, 2001:63). Os 13,8 milhões de pessoas ocupadas na agricultura familiar representam 76,9% dos empregados na agricultura brasileira ou 18,8% da população economicamente ativa. (Cálculos próprios segundo dados de Almanaque (1998:192; ver Schmitz, 2002:18) Na região Nordeste 82,9% da força de trabalho na agricultura está ocupada na agricultura familiar (Guanzirolí *et al.*, 2001:63).

Apesar de que os investimentos realizados na agricultura familiar somaram R\$2,5 bilhões por ano (32% do total da agricultura), isso significa por ano R\$612 / estabelecimento e R\$23,50 / ha (mais elevado que os patronais com R\$21,30 / ha), na região Nordeste este valor é apenas R\$10,40 / ha (Guanzirolí *et al.*, 2001:67).

Estes dados demonstram que a agricultura familiar é a principal fonte de ocupação não apenas no meio rural, mas também no conjunto da economia nacional. Apesar da sua importância econômica, entre outros, para a produção de alimentos e produtos básicos para o setor de transformação, os valores da renda e dos investimentos são baixos, especialmente na região Nordeste. Isso indica a existência de um campo fértil para a atuação de um serviço de pesquisa e extensão eficiente para melhorar o desempenho deste setor da economia (Schmitz, 2002:21).

O valor da produção por hectare da agricultura familiar fica acima da média dos estabelecimentos agrícolas, apenas

na região Sudeste existe uma ligeira vantagem dos outros segmentos (Cálculos próprios segundo dados de FAO/INCRÁ (1996:14): Norte 185%, Centro-Oeste 179%, Nordeste 106%, Sul 118% e Sudeste 91%. No Pará, por exemplo, os dados mostram que os estabelecimentos menores utilizam a área de forma mais intensiva que os estabelecimentos maiores, como pode ser observado nos seguintes dados sobre o valor da produção por ha utilizado: até 5 ha R\$1.970, até 10 ha R\$1.404, até 200 ha R\$223, 200-5000 ha R\$71 e acima de 5.000 ha R\$40 (Hurtienne, 1999; 2001:179; na base de dados do Censo Agropecuário 1995/96). (No Estado do Pará, os estabelecimentos de até 200 ha podem ser considerados como Agricultura Familiar, pois predomina a mão-de-obra familiar. Porém, esta característica se mostra apenas considerando o número total do Estado não se dando de forma equilibrada ao nível de cada região deste Estado (dados do Censo Agropecuário do Pará, 1985; Costa, 1992:17; Hurtienne, 1999)

Na produção de alimentos, a agricultura familiar lidera regionalmente nos seguintes itens (Guanzirolí *et al.*, 2001:70-71), sendo a sua contribuição maior que em 1985 (FAO/INCRÁ, 1996:15). (Enquanto FAO/INCRÁ (1996) trabalhou ainda com os dados do Censo Agropecuário de 1985, Guanzirolí *et al.* (2001) trabalhou com os dados de 1995/96)

- Arroz: Nordeste 70,3%, total da agricultura familiar no Brasil: 30,9%;

- Feijão: Nordeste 79,2%, Sul 62%, Norte 59%, total da agricultura familiar no Brasil: 67,2%;

- Mandioca: Sul 88,9%, Norte 86,6%, Nordeste 82,4%, total da agricultura familiar no Brasil: 83,9%;

- Milho: Norte 73,3%, Nordeste 65,5%, Sul 65%, total da agricultura familiar no Brasil: 48,6%.

A agricultura familiar tem se mostrado mais eficiente em relação à geração de emprego, à produção de alimentos e à produção por unidade de área, fato que indica uma vantagem na proteção ambiental porque para a mesma quantidade de produção usa-se uma área menor.

Os destaques da região Nordeste

A região Nordeste se destaca em relação à importância da agricultura familiar (Guanzirolí *et al.*, 2001:53-71):

- 90,5% do total são estabelecimentos familiares;

- 82,9% do pessoal trabalhando no setor agrícola é ocupado pela agricultura familiar;
- 43% do valor total da produção agrícola;
- 43,5% da área ocupada por atividades agropecuárias podem ser identificados como agricultura familiar;
- 82,4% da mandioca, 79,2% do feijão, 70,3% do arroz, 65,5% do milho, 64,2% da laranja e 56,0% da banana são produzidos na agricultura familiar, que é responsável também para 64,1% dos suínos, 53,3% da pecuária de leite e 42,6 da pecuária de corte, além de 84,5% do fumo e 56,3% do algodão (valor econômico);
- 2.327.471 dos 4,86 milhões estabelecimentos agrícolas no Brasil (47,9%) e 2.055.157 dos 4,14 milhões estabelecimentos familiares (49,6%) se encontram na região Norte.

Por que os agricultores continuam ser agricultores?

Apesar de toda essa importância no debate, na vida social e na crescente atenção do governo e das Organizações Não Governamentais (ONGs) à agricultura familiar no Brasil, a heterogeneidade das condições de reprodução social dos agricultores é profunda, com a pobreza marcando o cotidiano de muitas das famílias em decorrência, dentre outros, da transferência de renda para setores não-agrícolas (Hayami e Ruttan, 1985; Abramovay, 1992), da atomização da categoria como ator no mercado e das dificuldades de organizar a ação coletiva.

Dados recentes indicam uma melhora econômica geral no meio rural (Soares, 2006), entre outros, devido ao maior volume de aposentadorias e programas governamentais como o Bolsa Família, mas não uma situação fundamentalmente diferente daquela das últimas décadas. Apesar de tudo isso, a atividade nem sempre é lucrativa, penosa e muitos jovens já não querem permanecer nela.

Essa constatação reforça as perguntas que preocupam vários autores como Chayanov, Tepicht e Abramovay que são: Porque os agricultores continuam nessa atividade, apesar de obter, na média, uma remuneração em baixo dos custos de oportunidade? Por que razão não procuram um trabalho assalariado? Porque os agricultores são tão pobres?

O raciocínio de Chayanov é apoiado pela escola marginalista. A estratégia do camponês não é obter a maior lucratividade possível, o que lhe difere do capitalista. “Inversamente, uma vez o consumo da família assegurado, será atribuído um valor cada vez menor a cada unidade adicional de trabalho” (Abramovay, 1992:60-61). Chayanov introduz a idéia da auto-exploração do campesinato. Tepicht (1973:37-38) identifica no interior das famílias camponesas forças “marginais” ou “não transferíveis”. Porém, esta idéia apresenta limites, enquanto considera-se o aumento da mecanização agrícola em várias regiões e a tendência da redução da mão-de-obra a uma pessoa no estabelecimento

(p.ex., na Europa), ambas pouco desenvolvidas na agricultura familiar das regiões Norte e Nordeste.

Vários modelos microeconômicos foram elaborados nos anos 1960 para explicar o comportamento camponês. Sem entrar nos pressupostos de Schultz, o mérito do seu trabalho é a formulação da hipótese da racionalidade e eficiência econômica da agricultura tradicional (1980:51): “Muito pobre, mas eficiente”. Segundo o autor, não há evolução lenta e gradual entre agricultura tradicional e moderna, senão seu desenvolvimento depende da alteração dos meios de trabalho: máquinas e insumos de origem industrial promovidos pela pesquisa e. “Lipton basea-se na aversão ao risco e vê no agricultor tradicional um maximizador de oportunidades de sobrevivência” (Abramovay, 1992:86). Ao contrário de Schultz, Lipton acredita que existe um espaço técnico no interior da agricultura tradicional que permita seu crescimento. Para Lipton, são aspectos institucionais que influenciam nesse processo. Outros autores, como Mellor (1963), Sen (1966), Nakagima (1969) postulam a aversão à penosidade e aproximam-se das idéias de Chayanov. “Enquanto as necessidades básicas das famílias não forem atingidas, haverá disposição a um grande sacrifício em trabalho, embora com retorno muito baixo” (Abramovay, 1992:91).

Outros atores destacam os limites da racionalidade econômica. Focalizam o ambiente cultural, social e econômico no qual as lógicas específicas examinadas anteriormente operam: a noção de sociedades camponesas (antropologia clássica: Redfield, Kroeber, Wolf), a partilha de laços comunitários, bem como um conjunto de regras coletivas, marcam as particularidades sociais e culturais do campesinato. (Abramovay, 1972:24).

A partir de pesquisas atuais realizadas em diversos assentamentos, Martins (2003) conclui que o interesse principal das populações investigadas não é econômico, mas principalmente, ter uma moradia digna, viver junto aos familiares, ter uma perspectiva em termos de patrimônio para os filhos são prioridades dos assentados: “... mais do que mera sobrevivência ..., essas populações buscam sobreviver com dignidade, com base num modo de vida peculiar que é o da economia familiar. Com base na não-dispersão da família e na espera de assegurar um futuro aos filhos” (Martins, 2003:41-42).

Percebe-se que mesmo em estabelecimentos familiares especializados, por exemplo, os produtores de laranja em Umbaúba-SE (Tavares et al., 1998) e Capitão Poço-PA (Grossmann, 1996), mantém-se freqüentemente uma produção de subsistência garantindo assim parte da alimentação da família e funcionando como uma segurança em períodos de flutuação dos preços da laranja (Tavares et al., 1998).

Para todas estas teorias pode-se encontrar evidências no âmbito da agricultura familiar, porém é necessário

considerá-las conjuntamente. Mesmo assim, não explicam totalmente a situação encontrada no Brasil que pode ser só compreendido pela história dessa categoria nas diferentes regiões que apenas nos anos 1960 recebeu no campo acadêmico do Brasil um nome unificador: o camponês (Prado Júnior, 1963:229; Queiroz, 1973:11).

Conclusões

O fato de que os três principais conceitos apresentados neste artigo, o campesinato, a pequena produção e a agricultura familiar, cada um “na sua época”, foi hegemônico nas análises acerca das populações agrárias no Brasil, congregando todos os segmentos da população rural que administra um estabelecimento agrícola, indica que não há necessidade em utilizar os conceitos anteriores, com exceção do caso de um conceito de ação política (p.ex., o campesinato hoje). Porém, estudos devem ser realizados para verificar a utilidade ou não do conceito campesinato para caracterizar um determinado grupo no universo dos agricultores familiares. Por enquanto, utilizamos o conceito agricultura familiar.

Mesmo reconhecendo que os agricultores se autodenominam, freqüentemente, de pequenos produtores, não acreditamos que este termo seja adequado como unidade analítica, seja porque não chama a atenção para a diversidade e diferenciação interna daqueles que associam unidade de produção e consumo, seja porque, nem sempre, a produção dos agricultores familiares é pequena como discutido, por exemplo, por Abramovay (1992) e Guanziroli *et al.* (2001).

Tanto não é assim que os dados mostram que a agricultura familiar é a principal fonte de ocupação da força de trabalho no meio rural, lidera na produção regional de arroz (NE), milho (NE) e mandioca (S).

A questão-chave é: qual será a nova identidade (Segundo Castells (2002:22), (identidade de atores sociais pode ser entendido como “o processo de construção de significado com base em atributo cultural”. Erikson, quem, segundo Outhwaite & Bottomore (1996:369), mais desenvolveu a idéia da identidade, se refere a James que tem descrito o sentimento de identidade “da melhor maneira possível” (James, 1920, citado por Erikson, 1972:17-18): “O caráter de um homem é discernível na atitude mental ou moral em que, quando chegou o momento de revelar-se-lhe, ele se sentiu mais profunda e intensamente ativo e vivo. Em tais momentos, existe uma voz íntima que nos fala e diz: ‘Isto é o que realmente eu sou!’) e que conceito será reconhecido pela própria categoria social nos tempos atuais?

Foi discutida a questão, porque os agricultores continuam nessa atividade apesar da baixa remuneração do seu trabalho, apresentando vários modelos explicativos. Esse modelos, no entanto, apesar de auxiliarem, não explicam totalmente a situação encontrada no Brasil que só pode ser compreendido pela história dessa categoria nas diferentes regiões. De maneira geral, o acesso à terra

no passado e no presente significa a possibilidade de independência e autonomia para uma população que teve a sua reprodução social, muitas vezes, dependente da grande propriedade ou, mesmo no seu interior, a partir de relações de trabalho que mesclavam compadrio, parentesco e camaradagem em oposição à liberdade.

Literatura Citada

- ABE, M.N. 2004. Mártires de Abril: o MST semeando a utopia camponesa. Dissertação de Mestrado. Belém, NEAF/CAP/UFPA. Embrapa Amazônia Oriental. 199p.
- ABRAMOVAY, R. 1992. Paradigmas do capitalismo agrário em questão. São Paulo, Editora Hucitec. 275p.
- ALMANAQUE. Brasil 1998. ano 24. São Paulo, Editora Abril. 705p.
- BATISTA, J. 2003. Comunidade Parkatêjê tem melhor tecnologia da região. Correio do Tocantins, Marabá. Agropecuária. pp.5.
- CARVALHO, H.M. 1998. Formas de associativismo vivenciadas pelos trabalhadores rurais nas áreas oficiais de reforma agrária no Brasil. Curitiba, IICA/MEPF/NEAD. [http://www.dataterra.org.br.; 04.05.2000].
- CASTELLS, M. 2002. O poder da identidade. São Paulo, Paz e Terra. 530p. (A Era da Informação: Economia, Sociedade e Cultura; v.2).
- CASTRO, E. 1997. Território, biodiversidade e saberes de populações tradicionais. In: Castro, E.; Pinton, F. (orgs.). Faces do trópico úmido: conceitos e questões sobre desenvolvimento e meio-ambiente. Belém, Editora Cejup. pp.263- 283.
- CHAYANOV, A.V. 1974. La organización de la unidad económica campesina. Buenos Aires, Ediciones Nueva Visión.
- CONCEIÇÃO, M.F.C.; MANESCHY, M.C.A. 2002. Tradição e mudança em meio às populações tradicionais. In: Costa, M.J.J. (org.). Caminhos sociológicos na Amazônia: reflexões teóricas e de pesquisa. Belém, Universidade Federal do Pará. pp.147-171.
- COSTA, F. A. 1992. Ecologismo e questão agrária na Amazônia. Belém, SEPEQ/NAEA/UFPA. 81p.
- COSTA, F. A. 2000. Formação agropecuária da Amazônia: os desafios do desenvolvimento sustentável. Belém, NAEA/UFPA. 355p.
- D’INCAO, M.C. 2002. Teoria e prática no estudo do campesinato paraense. In: Hébette, J.; Magalhães, S.B.; Maneschy, M.C. (orgs.). No mar, nos rios e na fronteira: faces do campesinato no Pará. Belém, EDUFPA. p.9-27.
- DIEGUES, A.C.S. 1998. O mito moderno da natureza intocada. 2 ed. São Paulo, Editora Hucitec. 169p.
- EM QUESTÃO. 2004. Agricultura familiar é responsável por 10% do PIB nacional. Brasília, Presidência da República. (Nº.266, 20 de dez. 2004).
- ERIKSON, E.H. 1972. Identidade, juventude e crise. Rio de Janeiro, Zahar Editores. 322p.
- FAO/INCRA. 1996. Perfil da agricultura familiar no Brasil: dossiê estatístico. Brasília. 24p.
- FETAGs; COIAB; MONAPE. 2003. Programa de desenvolvimento

- socioambiental da produção familiar rural - Proambiente: Proposta definitiva. Brasília. 32p. (Versão julho de 2003).
- FLEISCHFRESSER, V. 1988. Modernização Tecnológica da Agricultura. Curitiba, Ed. Livraria Chain. 154p.
- GARCIA JÚNIOR, A.R. 1989. O Sul: caminho do roçado: estratégias de reprodução camponesa e transformação social. São Paulo, Brasília, MCT-CNPq, Marco Zero. 285p.
- GRAZIANO, J.G. da S. 1982. A modernização dolorosa: estrutura agrária, fronteira agrícola e trabalhadores rurais no Brasil. Rio de Janeiro, Zahar Editores. 192p.
- GRAZIANO, J.G. da S. 1999. O novo rural brasileiro. 2.ed. Campinas, UNICAMP, IE. 151p.
- GRAZIANO, J.G. da S. ; DEL GROSSI, M.E. 1998. A pluriatividade na agropecuária brasileira em 1995. Rio de Janeiro. pp.26-52. (Estudos Sociedade e Agricultura, nº11).
- GROSSMANN, M. 1996. Diversificação da pequena produção familiar: o caso de Capitão Poço no Nordeste do Estado do Pará. In: Belém, NAEA/UFPA. Relatório de Pesquisa. 46p.
- GUANZIROLI, C. et al. 2001. Agricultura familiar e reforma agrária no século XXI. Rio de Janeiro, Garamond. 284p.
- GUERRA, G.A.D. 2001. O posseio da fronteira: campesinato e sindicalismo no Sudeste Paraense. Belém, UFPA/NAEA, 169p.
- HAYAMI, Y.; RUTTAN, V.W. 1985. Agricultural Development. An International Perspective. Baltimore, The John Hopkins University Press. 506p.
- HÉBETTE, J.; MAGALHÃES, S.B.; MANESCHY, M.C. (orgs.). 2002. No mar, nos rios e na fronteira: faces do campesinato no Pará. Belém, EDUFPA. 359p.
- HOMMA, A.O.K. 2001. Evolução histórica dos macrossistemas de produção na Amazônia. In: Encontro da Sociedade Brasileira de Sistemas de Produção, 4, 2001, Belém, SBSP. (CD).
- HURTIENNE, T. 1999. Anotações de pesquisa. s.n.t.
- HURTIENNE, T. 2001. Agricultura familiar e desenvolvimento rural sustentável na Amazônia. In: Coelho, M.C.N.; Castro, E.; Mathis, A.; Hurtienne, T. (orgs.). Estado e políticas públicas na Amazônia: gestão do desenvolvimento regional. Belém: Cejup, UFPA-NAEA. p.178-283.
- LAMARCHE, H. (Coord.). 1993. A agricultura familiar: comparação internacional. Vol.I. Uma realidade multiforme. Campinas, Editora da Unicamp. 336p.
- LAMARCHE, H. (Coord.). 1998. A agricultura familiar: comparação internacional. Vol.II. Do mito à realidade. Campinas, Editora da Unicamp. 348p.
- LIMA, D.M. 1999. A construção histórica do termo caboclo: sobre estruturas e representações sociais no meio rural amazônico. Novos Cadernos do NAEA (Brasil) 2(2):5-32.
- MARTINS, J. de S. 2003. O sujeito oculto: ordem e transgressão na reforma agrária. Porto Alegre, Editora da UFRGS. 238p.
- MORAES, M.D.C. 1998. De camponês a agricultor familiar: imagens do campesinato, como identidades na ordem da razão. Raízes 17:121-134.
- NEVES, D.P. 2002. A agricultura familiar e o claudicante quadro institucional. In: Lopes, E.S.A.; Mota, D.M.; Silva, T.E.M. (orgs.). Ensaio: desenvolvimento rural e transformações na agricultura. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, Universidade Federal de Sergipe. p.133-159.
- PRADO JÚNIOR, C. 1963. A evolução política do Brasil e outros estudos. 4.ed. São Paulo, Ed. Brasiliense. 264p.
- QUEIROZ, M. I. P. de. 1976. O campesinato brasileiro. 2.ed. Petrópolis, Vozes. 242p.
- ROMEIRO, A.R. 1998. Meio ambiente e dinâmica de inovações na agricultura. São Paulo, Annablume, FAPESP. 272 p.
- SCHMITZ, H. 2001. Reflexões sobre métodos participativos de inovação na agricultura. In: Simões, A.; Silva, L.M.S.; Martins, P.F.S.; Castellonet, C. (orgs.) Agricultura familiar: métodos e experiências de pesquisa - desenvolvimento. Belém, NEAF/CAP/UFPA, GRET. p.39-99.
- SCHMITZ, H. 2002. Die Partnerschaft zwischen Bauern, Forschern, Beratern und ihren Organisationen: Reflexionen über das Landwirtschaftliche Wissenssystem im Bundesstaat Pará / Brasilien. Tese de doutorado. Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin. 288p. (<http://dochostrz.hu-berlin.de/dissertationen/schmitz-heribert-2002-11-19/PDF>).
- SCHULTZ, T.W. 1995. A transformação da agricultura tradicional. Trad. J.C. Teixeira Rocha. Rio de Janeiro, Zahar Editores. 207p. [Primeira Publ. 1964].
- SIDERSKY, P. 1990. Sobre a especificidade do pequeno produtor: Introdução ao debate sobre a unidade econômica camponesa. Olinda. (mimeografado).
- SOARES, P. 2006. Queda da pobreza é maior no campo que nas metrópoles. Folha de São Paulo, São Paulo. Folha online. <<http://www1.folha.uol.com.br/folha/brasil/ult96u74880.shtml>>; Acesso em 22.07.2007>
- STEINER, R. 1993. Fundamentos da Agricultura Biodinâmica. Vida nova para a terra. São Paulo, Editora Antroposófica. 235p. [Primeira publicação: 1929]
- TAVARES, E.D. et al. 1998. Estratégias de produção e inserção comercial dos produtores familiares de laranja de Sergipe. In: Mota, D.M. et al eds. Agricultura Familiar: desafios para a sustentabilidade. Coletânea. Aracaju: EMBRAPA-CPATC, SDR/MA. pp.97-112.
- TEPICHT, J. 1973. Marxisme et agriculture: Le paysan polonais. Paris, Armand Colin. 251p.
- VEIGA, J.E. 1991. O desenvolvimento agrícola: uma visão histórica. São Paulo, Editora da Universidade de São Paulo. 219p.
- WANDERLEY, M.N.B. 1997. Raízes históricas do campesinato brasileiro. In: Tavares, E.D., Mota, D.M.; Ivo, W.M.P.M., eds. Encontro de pesquisa sobre a questão agrária no tabuleiros costeiros de Sergipe, 2, 1997, Aracaju-SE, Agricultura familiar em debate. Anais. Aracaju, Embrapa-CPATC. pp.9-40.

OPTIMIZATION OF DNA ISOLATION AND RAPD TECHNIQUE IN ARECANUT (*Areca catechu* L.)

Rajesh M. K.¹, Bharathi M.², Nagarajan P.²

¹Division of Crop Improvement, Central Plantation Crops Research Institute, Kasaragod 671124, Kerala, India.

²Department of Plant Molecular Biology and Biotechnology, CPMB, Tamil Nadu Agricultural University, Coimbatore 641003, TN, India.

A simple and efficient protocol for extracting high quality DNA from arecanut (*Areca catechu* L.) leaves is presented. DNA yield and purity were monitored by gel electrophoresis and by determining absorbance at UV (A_{260}/A_{280}). The ratio was between 1.7 to 1.9 indicating that the presence of contaminating metabolites was minimal. The quantities of DNA obtained were 100- 400 μ g/g starting material. The isolated DNA proved amenable to PCR amplification and restriction digestion. DNA was completely digested with the three restriction enzymes (*EcoR* I, *EcoR* V and *Hind* III) confirming the purity of the extracted DNA. Using the isolated DNA, the parameters for randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) protocol was standardized.

Key words: Arecanut palm, gel electrophoresis, enzymes, *EcoR* I, *EcoR* V, *Hind* III

Otimização de isolamento de DNA da arequeira (*Areca catechu* L.) e a técnica do RAPD. Se apresenta um protocolo simples e eficiente para extrair DNA de folhas da palmeira Arequeira (*Areca catechu* L.). A produção e qualidade do DNA foi monitorada por eletroforese em gel e determinada a absorvância UV (A_{260}/A_{280}). A proporção extraída de DNA esteve entre 1.7 e 1.9, indicando que a presença de metabólitos foi mínima. As quantidades de DNA obtidas variaram entre 100 e 400 μ g/g do material inicial. O DNA isolado provou ser apropriado para amplificação via PCR e digestão restrita. O DNA foi digerido em sua totalidade por três enzimas de restrição (*EcoR* I, *EcoR* V e *Hind* III) confirmando-se a pureza do DNA. Usando-se o DNA isolado foram uniformizados os parâmetros do protocolo para a amplificação polimórfica ao acaso do DNA (RAPD).

Palavras-chave: Palma arequeira, eletroforese, emzimas, *EcoR* I, *EcoR* V, *Hind* III

Introduction

Molecular techniques require isolation of genomic DNA of suitable purity for PCR and restriction enzyme digestion. The problem often encountered during DNA extraction is to separate DNA from naturally occurring plant cell contaminants such as polysaccharides and polyphenolic compounds (Porebski *et al.*, 1997). Palms contain inhibitor compounds like polyphenols and other secondary metabolites, which directly or indirectly interfere with enzymatic reactions (Reynolds & Murashige, 1979). Presence of polyphenols, which are powerful oxidizing agents, can also decrease the yield and purity of extracted DNA. Various protocols have been developed for extraction of DNA from palms such as oil palm (Jack *et al.*, 1995), coconut (Rhode *et al.*, 1995; Upadhyay *et al.*, 1999) and date palm (Aitchitt *et al.*, 1993; Ouenzar *et al.*, 1998). No work has been carried out so far in arecanut.

In the present work, a rapid protocol for isolation of high quality and quantity of DNA from mature leaves of *Areca catechu* L. is presented. Conditions were also optimized for RAPD analysis using the isolated DNA.

Materials and methods

Collection of plant materials

Mature leaves were collected from yielding palms of arecanut cultivars from India *viz.*, *Sreemangla*, *Sumangla*, *Mohitnagar* and *Hirehalli Dwarf*. Fresh samples were used for extraction immediately or refrigeration (4°C) allows extraction to be delayed for several days.

DNA extraction protocol

A modified protocol of Doyle and Doyle (1990) was carried out, which is described below:

1. Weigh out 1g of starting leaf material. Cut into small bits just prior to grinding.
2. Cool the pestle and mortar and grind the leaves to a fine powder in the presence of liquid nitrogen.
3. Add PVPP (5%) to the powdered leaf sample.
4. Transfer the powdered sample to 50 ml polypropylene tube containing 4.5 ml extraction buffer (100mM Tris-HCl, pH 8.0, 1.5 M NaCl, 25 mM EDTA, 2% SDS)
5. Incubate the mixture for one hour at 60°C, mixing 2-3 times during incubation by inverting the tube.
6. Add 5 ml of chloroform: isoamyl alcohol (24:1) and mix gently by swirling the tubes for 15 minutes.
7. Centrifuge the tubes for 15 minutes at 10,000 rpm at 4°C.
8. Transfer the supernatant to a new tube.
9. Add 0.7 volume of ice-cold isopropanol and gently mix the tube by inverting.
10. Pool the precipitated DNA with the help of a microtip

and transfer to a 1.5 ml microfuge tube.

11. Wash the DNA twice with 70% alcohol.
12. Dry the pellet and dissolve it in 500 μ l TE buffer (10mM Tris-HCl pH 8.0, 1mM EDTA).
13. Add 5 μ l RNase solution (10 mg/ml) and incubate for 30 minutes at 37°C.
14. Repeat chloroform: isoamyl alcohol extraction.
15. Precipitate DNA by addition of ice-cold isopropanol.
16. Pool the precipitated DNA with the help of a microtip and transfer to a 1.5 ml microfuge tube.
17. Wash the DNA thrice with 70% alcohol.
18. Dry the pellet and dissolve it in 500 μ l TE buffer (10mM Tris-HCl pH 8.0, 1mM EDTA).

Determination of DNA quantity and quality

The DNA was quantified by measuring absorbance at 260 nm (A_{260}) and 280 nm (A_{280}) in a UV spectrophotometer and A_{260}/A_{280} ratio was taken to evaluate the purity of DNA. The quality of extracted DNA was also checked by electrophoresis in 0.8% agarose gel.

Restriction analysis

The quality of the extracted DNA was further confirmed by digestion with *EcoR* I, *EcoR* V and *Hind* III restriction enzymes (M/s Bangalore Genei, India). Digestion was performed under the conditions recommended by the manufacturers. Reagents were mixed, incubated for overnight at 37°C, after which were loaded in 0.8% agarose gel. Electrophoresis was performed in a horizontal gel electrophoresis system at 75 V. Gels were run at 75 V for 2 hours in a BIO-RAD sub-cell electrophoresis unit, stained with ethidium bromide and visualized on a UV-transilluminator.

Optimization of RAPD reaction for arecanut DNA

For the optimization of RAPD reaction (Williams *et al.*, 1990) using the DNA extracted from arecanut, the decamer primer OPB6, from M/S Operon Technologies, was used. The assays for optimization tested:

1. Template DNA: Five levels *viz.*, 10, 20, 30, 40, 50 ng
2. *Taq* polymerase concentration (M/s Bangalore Genei, India): Five levels *viz.*, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0, 1.2 Units.
3. Magnesium chloride concentration: Five levels *viz.*, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 mM.
4. Primer concentration: Five levels *viz.*, 2.5, 5.0, 7.5, 10, 12.5 pmoles.
5. dNTPs concentration (M/s Bangalore Genei, India): 100, 150, 200, 250, 300 μ M.
5. Annealing temperature: Eight levels *viz.*, 37, 40, 42, 45, 47, 50, 53, 55 °C.

DNA amplification was performed in a 10 μ l volume. To determine the effect of a single parameter the given parameter was varied, keeping the rest constant. A negative control (blank) containing all components of typical PCR reaction except the template DNA was used in every

experiment. The PCR amplification of arecanut DNA was performed on an Eppendorf Gradient Master Cycler programmed for 4 minutes initial denaturation at 94°C followed by 1 minute denaturation at 94°C, 1 minute annealing at the different temperatures tested and 2 minutes primer extension at 72°C for a total of 40 cycles. A final extension at 72°C was given for 7 minutes. The PCR products were stored at -20°C until electrophoresis.

10 µl of each PCR reaction, together with 2 µl of 6 X loading dye were separated by gel electrophoresis in 1.2% agarose with 1x Trizma base- boric acid-EDTA buffer (TBE) as the running buffer. Gels were run at 100V for 2 hours in a BIO-RAD sub-cell electrophoresis unit, stained with ethidium bromide and visualized on a UV-transilluminator.

Results and Discussion

DNA yield and purity

Large quantities of high molecular weight DNA was extracted from arecanut leaves by using the simple DNA extraction method. DNA yield ranged from 100- 400 µg/g starting material. The ratios from absorbency at A_{260}/A_{280} ranged from 1.7 to 1.9 showing that the DNA was of high purity. DNA quality was also estimated by agarose gel electrophoresis of the genomic DNA. High molecular weight, intact DNA was visualized (Figure 1).

DNA was completely digested with the three restriction enzymes (*EcoR* I, *EcoR* V and *Hind* III) further confirming the purity of the extracted DNA (Figure 2).

Optimization of RAPD parameters

The parameters for RAPD technique for arecanut were optimized:

Annealing temperature

The selection of the annealing temperature is possibly the most critical component for optimizing the specificity of a PCR reaction. The annealing temperature is a function of the length and base composition of the primer as well as the ionic strength of the reaction buffer. Eight levels of annealing temperatures were tested viz., 37, 40, 42, 45, 47, 50, 53 and 55°C. Amplification at 40°C gave good scorable bands (Figure 3).

Template DNA

All the five levels of template DNA tested, viz., 10 ng, 20 ng, 30 ng, 40 ng and 50 ng were amplified but DNA concentration of 30 ng gave good scorable bands.

Primer concentration

Optimal primer sequences and appropriate primer concentrations are essential for maximal specificity and efficiency in PCR. Of the five levels of primer concentration tested viz., 2.5, 5.0, 7.5, 10, 12.5 pmoles, all the levels gave amplification but 2.5 pmoles gave optimum amplification products (Figure 4). As the primer concentrations were

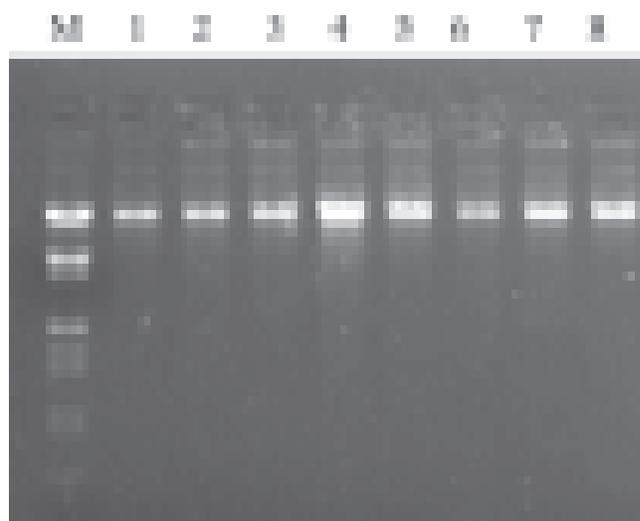


Figure 1. Agarose gel analysis of genomic DNA isolated from arecanut leaves. Lane 1, 2: *Sreemangla*; Lane 3, 4: *Mohitnagar*; Lane 5, 6: *Sumangla*; Lane 7, 8: *Hirehalli Dwarf*; M: Molecular weight marker (λ DNA *EcoR* I/*Hind* III double digest).

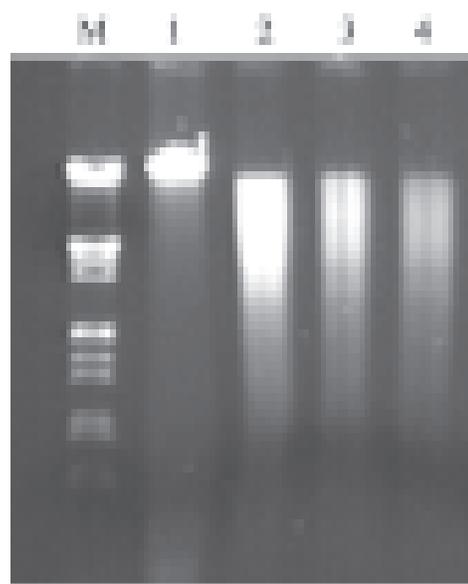


Figure 2. Restriction digestion of genomic DNA from arecanut leaves. Lane 1: Intact arecanut DNA; Lane 2: Arecanut DNA restricted with *EcoR* I; Lane 3: Arecanut DNA restricted with *EcoR* V; Lane 4: Arecanut DNA restricted with *Hind* III; M: Molecular weight marker (λ DNA *EcoR* I/*Hind* III double digest).

increased, the number of amplicons decreased. Higher primer concentration may promote mis-priming and accumulation of non-specific products and increase the probability of generating primer-dimer artifacts (Innis and Gelfand, 1990).

Concentration of Taq polymerase

The amount of Taq polymerase, which gave optimum amplification products, was 0.7 Units per reaction. When

the Taq polymerase concentration was reduced, insufficient amounts of desired products were produced. Non-specific products were formed and the resolutions of the bands were decreased at higher enzyme levels.

Concentration of $MgCl_2$

Lower $MgCl_2$ concentrations yielded more number of amplification products while higher $MgCl_2$ concentrations failed to yield visible bands. The optimum $MgCl_2$ concentration in the reaction mix was 2.5 mM. The $MgCl_2$ concentration may affect one or all of the following: primer annealing, strand association temperature of both template and PCR product, product specific formation of primer-dimer artifacts and enzyme activity and fidelity (Innis and Gelfand, 1990).

Concentration of dNTPs

Of the five levels of dNTPs concentration tested, 300 μM gave good and scorable bands. Lower levels (100 μM and 150 μM) failed to yield visible bands.

Conclusion

The DNA extraction protocol described here is rapid and technically easy. Sufficient quantities of pure and high-molecular weight DNA could be extracted from arecanut leaves. The DNA was suitable for PCR-based assay (RAPD) and digestion with restriction enzymes. For RAPD, best results were obtained with 30 ng DNA, 2.5 pmoles of primer, 0.7 Units of Taq polymerase, 2.5 mM of $MgCl_2$, 300 μM of dNTPs and an annealing temperature of 40°C. This is the first report of DNA extraction and RAPD analysis in arecanut.

Literature Cited

- AITCHITT, M.; AINSWORTH, C. C.; THANGAVELU, M. 1993. A rapid and efficient method for the extraction of total DNA from mature leaves of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.). Plant Molecular Biology Reporter 11: 317-319.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13-15.
- INNIS, M. A.; GELFAND, D. H. 1990. PCR protocols: A guide to methods and application. New York, Academic Press.
- JACK, P. L.; DIMITRIJEVIC, T. A. F.; MAYES, S. 1995. Assessment of nuclear, mitochondrial and chloroplast RFLP markers in oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.). Theoretical and Applied Genetics 90: 643-649.
- OUENZAR, B. et al. 1998. Date palm DNA mini-preparation without liquid nitrogen. Plant Molecular Biology Reporter 16: 263-269.
- REYNOLDS, J. F.; MURASHIGE, T. 1979. Asexual embryogenesis in callus cultures of palms. *In vitro* 5: 383-387.
- RHODE, W. et al. 1995. Genome analysis of *Cocos nucifera* L. by PCR amplification of spacer sequences separating a subset of copia-like *EcoR* I repetitive elements. Journal of Genetics and Breeding 49: 179- 186.
- UPADHYAY, A.; PARTHASARATHY, V. A.; SEEMA, G.; KARUN, A. 1999. An efficient method of DNA extraction from coconut. Agrotropica (Brasil) 11(1): 35-38.

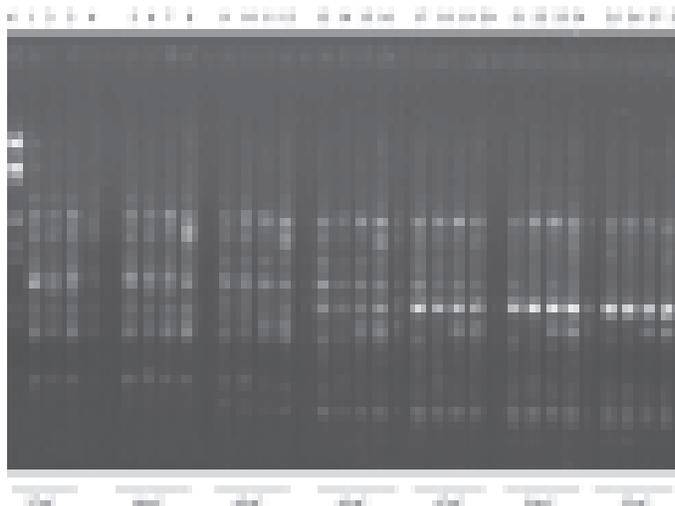


Figure 3. RAPD profile of arecanut cultivars using different annealing temperatures. Lanes 1, 5, 9, 13, 17, 21, 25: Sreemangla; Lanes 2, 6, 10, 14, 18, 22, 26: Mohitnagar; Lanes 3, 7, 11, 15, 19, 23, 27: Sumangla; Lanes 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28: Hirehalli Dwarf; M: Molecular weight marker (λ DNA *EcoR* I/*Hind* III double digest).

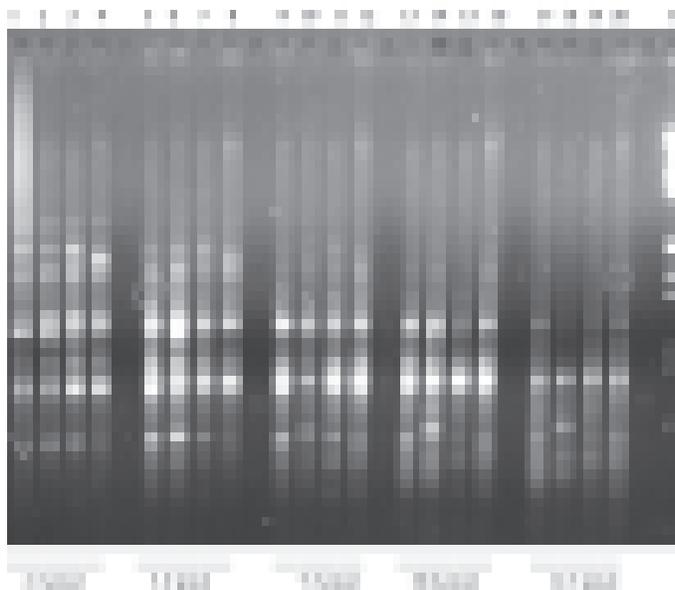


Figure 4. RAPD profile of arecanut cultivars using different primer concentrations. Lanes 1, 5, 9, 13, 17: Sreemangla; Lanes 2, 6, 10, 14, 18: Mohitnagar; Lanes 3, 7, 11, 15, 19: Sumangla; Lanes 4, 8, 12, 16, 20: Hirehalli Dwarf; M: Molecular weight marker (*I* DNA *EcoR* I/*Hind* III double digest).

- POREBSKI, S.; BAILEY, L. G.; BAUM, B. R. 1997. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. Plant Molecular Biology Reporter 15: 8-15.
- WILLIAMS, J.G.K. et al. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research 8: 6531-6535.

SUBSTRATOS PARA ENRAIZAMENTO E CRESCIMENTO DE CLONES DE CACAUEIRO

George Andrade Sodré¹, José Eduardo Corá², André Barreto Pereira³, Juliana Teixeira de Magalhães⁴

¹ CEPLAC/CEPEC, Caixa Postal 07, 45600-970, Itabuna-Bahia-Brasil. E-mail: sodre@cepec.gov.br. Universidade Estadual de Santa Cruz -UESC - DCAA.

² Departamento de Solos da Unesp/ Fcav. 14.484-900 Jaboticabal SP.

³ Superintendência Federal de Agricultura SFA-BA 45.600-770, Itabuna Bahia.

⁴ Departamento de Ciências Biológicas/ Universidade Estadual de Santa Cruz-UESC. Km 16, Rod. Ilhéus/Itabuna, 45650-000, Ilhéus-Bahia.

O trabalho verificou a influência de substratos no enraizamento e crescimento de mudas de cacauceiro dos clones Cepec 2006 e TSH 1188 produzidas por miniestaquia. No enraizamento foram usados os seguintes substratos: areia para o Cepec 2006 e para TSH 1188 vermiculita (Ver), serragem (Ser), Plantmax® (Pmax), fibra de coco (FC) e composto do tegumento da amêndoa do cacau (CTAC). As miniestacas foram inicialmente inseridas em tubos de PVC de 20 cm de diâmetro e 10 cm de altura, preenchidos com os substratos e mantidas em câmara de nebulização. Quando verificado as primeiras brotações foram transplantadas para crescimento em tubetes de 288 cm³ em viveiro. Nos tubetes, foi usado para o Cepec 2006 quatro proporções (v:v) de FC: Pmax (1:4, 1:2, 1:1 e 4:1), para o TSH 1188 somente uma mistura de FC: Pmax 1:1 (v:v). Após cinco meses as plantas foram avaliadas em diâmetro do lançamento (DL), altura da planta (AP) e do lançamento (AL), massa seca da parte aérea (MSPA) e das raízes (MSR) e área foliar (AF). O delineamento experimental adotado para o experimento com o clone cepec 2006 foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos (substratos para crescimento) dez repetições e cinco plantas por parcela experimental. Para o TSH 1188 o delineamento foi em blocos com cinco tratamentos (substratos para enraizamento) três repetições e cinco plantas por parcela experimental. Após o crescimento em viveiro, as plantas do clone TSH 1188 enraizadas nos substratos CTAC e a FC, foram superiores à Ver e Pmax. A proporção FC:Pmax 1:4 usada no transplante do clone Cepec 2006 para tubetes promoveu diferenças significativas em AP, AL e DL em relação a 4:1. Os resultados demonstram que o CTAC e a FC podem ser recomendados para enraizamento de miniestacas do clone TSH1188 e a proporção FC:Pmax 1:4 como substrato para crescimento do Cepec 2006.

Palavras-chave: *Theobroma cacao*, miniestaquia, cultivo sem solo

Substrates to rooting and growing of cacao clones. The work verified the influence of substrates in rooting and growth of cacao seedlings. Had been used clones Cepec 2006 and TSH 1188 and minicuttings of fan branches. The substrate used for rooting was sand for the Cepec 2006 and to TSH 1188 vermiculite (Ver), sawdust (Ser), Plantmax® (Pmax), fiber of coconut (FC) and compost of cacao seed husk (CTAC). The minicuttings was inserted in PVC tubes of 20cm of diameter and 10cm of height, filled with substrates and keeping in vapor chamber. After rooting, had been transfer for green house to growth in tubettes of 288 cm³. In tubettes, were used to clone Cepec 2006 four ratios of FC and Pmax (1:4, 1:2, 1:1 and 4:1). For the TSH 1188 only one mixture of FC and Pmax 1:1 (v: v). After five months the following parameters were evaluated: stem diameter (DL), plant height (AP) shoot height (AL), aboveground biomass (MSPA), roots biomass (MSR) and leaf area (AF). The experimental was completely randomized design with five treatments and three repetitions for clone TSH 1188 and completely randomized with four treatments and ten repetitions for Cepec 2006. Substrates CTAC and FC, were better to rooting of clone TSH 1188 than Ver and Pmax. Ratio FC: Pmax 1:4 used to growth Cepec 2006 showed significantly difference than 4:1 in AP, AL and DL. The results showed that the CTAC and FC can be recommended for rooting of minicuttings of clone TSH1188 and ratio FC: Pmax 1:4 as substrate to growth of Cepec 2006.

Key words: *Theobroma cacao*, minicutting, soilless growth

Introdução

A região cacauera da Bahia sofreu ao longo da década passada uma crise econômica que teve como origem a queda dos preços internacionais da commodity cacau. Essa situação foi agravada pelo aparecimento da doença vassoura-de-bruxa (Pereira, 1989), que no período citado provocou decréscimo de mais de 60% na produção de amêndoas secas da região.

A resistência genética é uma das ferramentas usadas para controle da doença. Nesse contexto, a produção de mudas de cacauzeiros por estaquia tem crescido em relação direta ao surgimento dos novos clones resistentes.

As primeiras mudas produzidas no ano de 1999, eram provenientes de estacas semilenhosas de ramos plagiotrópicos, medindo aproximadamente 16 cm de comprimento, coletadas em germoplasma no campo e enraizadas em viveiros telados. Desde então, a escolha do substrato adequado, o tamanho das estacas usadas, o preparo das mudas e o manejo nutricional e sanitário no campo e nos viveiros, constituíram-se nos principais desafios para intensificar a produção clonal de mudas de cacauzeiros no estado da Bahia.

Para a certificação das mudas faz-se necessário à utilização de substratos, que precisam ser padronizados, apresentarem características físicas e químicas apropriadas e isenção de patógenos e de sementes de plantas invasoras. Se a grande demanda por substratos e o custo dos mesmos contribuí para a elevação do preço final da muda produzida, por outro lado a utilização de resíduos, disponíveis regionalmente, como substratos, pode propiciar redução de custos e minimizar a poluição decorrente do acúmulo desses materiais no ambiente (Fermino, 1996).

No contexto do uso de resíduos orgânicos, na região sul do estado da Bahia encontram-se dois resíduos com potencial para uso como substrato na produção de mudas de cacauzeiros. Um deles é gerado na indústria chocolateira regional e denominado tegumento da amêndoa do cacau (TAC). Sodré et al. (2002) verificaram que o TAC pode ser usado como substrato para plantas, mas acrescentaram à necessidade de realizar previa compostagem. Outro resíduo é a serragem de madeira encontrada em grandes quantidades em antigas serrarias formando montes de coloração variando de vermelho a marrom. Ao contrário do TAC, a serragem é encontrada em estágio naturalmente compostada.

Este trabalho teve como objetivo verificar a influência de substratos no enraizamento e crescimento de clones cacauzeiro.

Material e Métodos

Foram realizados dois experimentos usando as instalações da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (Ceplac) e do Instituto Biofábrica de Cacau (IBC),

localizados nos municípios de Ilhéus e Uruçuca no estado da Bahia. Foram usados os clones Cepec 2006 e TSH 1188.

Inicialmente foi realizado enraizamento em câmara de nebulização e, posteriormente, crescimento das plantas em viveiros cobertos com tela de polietileno.

No enraizamento foram usados os seguintes substratos: para o Cepec 2006, areia lavada, e para o TSH 1188 vermiculita, serragem, Plantmax®, fibra de coco e composto do tegumento da amêndoa do cacau. Na Tabela 1 é apresentada as principais características dos substratos usados.

Foram usadas miniestacas herbáceas, coletadas na ponta de ramos plagiotrópicos de plantas matrizes que estavam mantidas em sacos de polietileno de 22 dm³. As miniestacas mediram de 4 a 6 cm de comprimento. Na preparação das miniestacas, estas foram cortadas transversalmente de 2 a 4 mm da última gema e tiveram a primeira folha a partir da base reduzida à metade e as demais em 20% do tamanho original.

As miniestacas foram inicialmente tratadas na base com ácido indol-butírico (AIB) 6000 mg kg⁻¹ misturado em talco. Em seguida, foram inseridas em tubos de PVC de 20 cm de diâmetro e 10 cm de altura, preenchidos com os substratos. Na base dos tubos foi colocada uma tela de polietileno de 1 mm presa por tiras de borracha, que serviu para evitar perda de substrato e facilitar a drenagem. Durante o enraizamento a umidade na superfície da folha foi mantida próxima a 100% com uso de nebulização por 30 segundos a cada 15 minutos.

Tabela 1 - Características dos substratos usados no enraizamento de miniestacas de cacauzeiro clone TSH 1188 em câmara de nebulização.

Substrato/Sigla	Principais características	Densidade úmida kg. m ⁻³ *
Plantmax® / Pmax	Produto comercial usado na silvicultura obtido a partir compostagem de casca de <i>Pinus</i> .	622
Composto de tegumento da amêndoa do cacau / CTAC	Processado por decomposição aeróbia em aproximadamente 120 dias.	295
Serragem/SER	Baixo custo, material heterogêneo.	396
Fibra de coco / FC	Sub-produto da indústria de fibras, aumenta a retenção de água em misturas.	117
Vermiculita / VER	Alta retenção de água, granulometria variável.	242
Areia	Composta de 86% de areia grossa, 10% de areia fina e 4% de argila.	1680

Após 35 dias, período em que foi verificado o início das primeiras brotações, as miniestacas foram retiradas da câmara de nebulização e transplantadas em tubetes de 288 cm³. Em seguida, foram conduzidas para crescimento em viveiro. Como substrato para crescimento do clone Cepec 2006 foram usadas quatro proporções (v:v) FC:Pmax (1:4, 1:2, 1:1 e 4:1) e para o TSH 1188 somente uma mistura contendo FC : Pmax 1:1 (v:v).

As quantidades de substratos usadas para enchimento dos tubetes foram calculadas pelo método da auto-compactação de acordo com Hoffmann (1970), citado por Fermino, (1996). Antes do transplante foi coletada amostra composta formada por três amostras simples para cada substrato usado para enraizamento do clone TSH 1188 nas quais foi analisada a condutividade elétrica (CE) após extração na relação água:substrato 1:2,5.

Na primeira semana do período de viveiro, foram adicionadas as superfícies dos tubetes 2,0 g L⁻¹ do fertilizante de liberação lenta (3-5 meses) Osmocote® (22 N - 04 P₂O₅ - 08 K₂O) e 1,0 g L⁻¹ do fertilizante solúvel PG Mix (14 N - 18 P₂O₅ - 18 K₂O + micronutrientes).

Após cinco meses de crescimento em viveiro as plantas foram cortadas e avaliadas em diâmetro do lançamento (DL), altura da planta (AP), altura do lançamento (AL), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das raízes (MSR) e área foliar (AF).

O delineamento experimental adotado para o experimento com o clone Cepec 2006 foi inteiramente casualizado com quatro tratamentos (substratos para crescimento) dez repetições e cinco plantas por parcela experimental. Para o TSH 1188, o delineamento foi em blocos com cinco tratamentos (substratos para enraizamento) e três repetições e cinco plantas por parcela experimental. As variáveis foram submetidas à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Características do enraizamento

Observações visuais durante o enraizamento, foram realizadas a cada cinco dias. Verificou-se que a formação de calos dá-se na primeira semana após o plantio e que as raízes primárias surgem 15 dias após a formação dos calos.

Aos 35 dias verificou-se que independente do clone e do substrato usado, 5% das miniestacas continuavam sem formar calos e também que o número de raízes por miniestaca variava entre 3 e 12.

Substratos

Excetuando-se o Pmax, os demais substratos apresentaram valores médios de densidade úmida na faixa considerada adequada para a maioria das plantas e que varia

de 100 a 400 kg m⁻³ segundo Kampf, (2000) (Tabela 1).

A elevada densidade úmida encontrada no Pmax pode ser atribuída ao grau de umidade que esse substrato apresentava no momento da coleta para análise. Esse resultado, entretanto, não é comum e difere dos valores obtidos por Fernandes e Corá (2002) que variaram entre 316 a 324 kg m⁻³.

Efeito do substrato de enraizamento no crescimento do clone TSH 1188

As miniestacas do clone TSH 1188 enraizadas em CTAC e FC diferiram significativamente da VER e Pmax para AP, AL, MSPA e AF (Tabela 2). As miniestacas enraizadas em SER apresentaram comportamento intermediário.

No momento do transplante foi verificado que as miniestacas enraizadas em CTAC e FC apresentavam maior estabilidade do torrão, diferenciando-se dos demais. Sabe-se que a estabilidade do torrão é um atributo de substratos relacionado com o aumento na porcentagem de pegamento de mudas após o transplante. Assim, a maior estabilidade do torrão em CTAC e FC pode ter contribuído para o melhor crescimento das mudas enraizadas, porque, provavelmente reduziu o stress hídrico do transplante e os danos às raízes.

No presente trabalho o Pmax foi o substrato que apresentou maior densidade úmida (Tabela 1). Fernandes e Corá (2004) observaram que a alta densidade de substratos pode reduzir o espaço de aeração e a porosidade total dificultando o crescimento normal das raízes. Corroborando com esses autores, essa característica poderia explicar as diferenças encontradas nas plantas enraizadas no substrato Pmax em relação aqueles de menores densidades.

A condutividade elétrica (CE) verificada nos substratos após o enraizamento do clone TSH 1188 foram inferiores a 1,0 dS m⁻¹. A CE tem sido relacionada à problemas com enraizamento de mudas e, nesse contexto, Sodré et al. (2005) verificaram elevados valores de CE no CTAC e a FC, atributo que poderia ter reduzido a eficiência desses substratos. Entretanto, esses autores também verificaram grande redução dos valores da CE a partir de três lavagens do CTAC e FC com água. Assim, a ausência de efeito prejudicial da CE no enraizamento das plantas do clone TSH 1188 em CTAC e FC, pode ser atribuído ao volume de água aplicada durante o enraizamento na câmara de nebulização.

Efeito do substrato no crescimento do clone Cepec 2006

Não foram encontrados efeitos significativos para MSPA, MSR e AF das mudas do clone Cepec 2006, enraizadas em areia e transplantadas para substratos preparados com as diferentes proporções de FC:Pmax. Contudo a proporção 1:4 foi superior e diferiu significativamente de 4:1 para DL, AP e AL. (Tabela 3).

Tabela 2. Características de mudas de cacauzeiros (clone TSH 1188) após o enraizamento em cinco substratos e crescidas durante cinco meses em tubetes com substratos a base de FC:Pmax proporção (v:v) 1:1.

Substratos de enraizamento ¹	DL cm	AP cm	AL cm	MSPA g	MSR g	AF cm ²
VER	0,44 a	14,1 c	11,1 c	1,30 d	0,38 c	289,4 c
Pmax®	0,46 a	14,2 c	10,0 c	1,67 cd	0,48 bc	317,3 c
SER	0,49 a	15,7 bc	12,6 bc	2,05 bc	0,59 ab	370,4 bc
CTAC	0,49 a	20,2 a	16,4 a	2,48 ab	0,62 ab	525,9 a
FC	0,49 a	17,7 ab	14,5 ab	2,60 a	0,74 a	464,6 ab
DMS	0,05	3,4	3,3	0,54	0,18	121,4
C.V (%)	5,1	9,2	11,5	11,8	14,7	13,6

¹VER, Vermiculita; Pmax, Plantmax®. SER, Serragem. CTAC, Composto de tegumento da amêndoa do cacau. FC, Fibra de coco. As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%. Diâmetro do lançamento (DL), altura da planta (AP), altura do lançamento (AL), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das raízes (MSR) e área foliar (AF).

Tabela 3. Características do crescimento de mudas de cacauzeiros (clone Cepec 2006) enraizadas em areia e crescidas durante cinco meses em tubetes com substratos à base de FC : Pmax nas proporções (v:v): 1:4, 1:2, 1:1 e 4:1.

Proporção FC:Pmax	DL cm	AP cm	AL cm	MSPA g	MSR g	AF cm ²
1:4	0,43 a	19,3 a	16,3 a	2,78 a	0,74 a	418,81 a
1:2	0,39 ab	17,4 ab	14,8 ab	2,40 a	0,80 a	347,13 a
1:1	0,36 ab	15,3 b	12,7 b	2,04 a	0,65 a	296,60 a
4:1	0,35 b	15,5 b	15,5 b	2,16 a	0,61 a	320,44 a
DMS	0,06	3,3	2,8	1,01	0,38	140,19
C.V (%)	14,4	16,2	16,9	35,9	45,6	33,6

Diâmetro do lançamento (DL), altura da planta (AP), altura do lançamento (AL), massa seca da parte aérea (MSPA), massa seca das raízes (MSR) e área foliar (AF). As médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.

Verificou-se que mesmo com uso de quatro diferentes substratos, o crescimento das mudas do clone Cepec 2006 apresentou-se mais uniforme para as variáveis avaliadas em relação ao TSH 1188 que cresceram em um só substrato (Tabelas 2 e 3). Esses resultados podem ser atribuídos às diferenças no vigor entre os clones a qual é superior no TSH 1188. Os resultados também estão de acordo com Sena-Gomes et al. (2000) que verificaram diferenças marcantes entre clones de cacauzeiro quanto ao potencial de enraizamento e crescimento.

Conclusões

Os resultados mostraram que o CTAC e a FC podem ser recomendados como substratos para enraizamento de miniestacas do clone TSH 1188 e a proporção FC:Pmax 1:4 é a mais indicada para crescimento de mudas do clone Cepec 2006.

Literatura Citada

- FERMINO, M.H. 1996. Aproveitamento de Resíduos Industriais e Agrícolas como Alternativas de Substratos Hortícolas. Dissertação Mestrado. Porto Alegre. 90p.
- FERNANDES, C.; CORÁ, J.E. 2002. Repetibilidade da amostragem na determinação da distribuição do tamanho das partículas e da densidade em substratos. *In*: Furlani, A. M. C. et al. (Coord.). Caracterização, manejo e qualidade de substratos para produção de plantas. Campinas, IAC, Documento nº 70. pp.83.
- FERNANDES, C.; CORÁ, J. E. 2004. Bulk density and relationship air/water of horticultural substrate. *Science Agricultural* 61: 446-450.
- KAMPF, A.N. 2000. Produção comercial de plantas ornamentais. Guaíba Agropecuária. xp.
- PEREIRA, J.L.; et al. 1989. First Record of the presence of witch's broom disease in the principal cocoa - producing area of Brazil. *Turrialba (Costa Rica)* 39: 459-461.
- SENA-GOMES, A.R; et al. 2000. Avanços na propagação clonal do cacauzeiro no Sudeste da Bahia. *In*: Perreira, J.L. et al., eds. Atualização sobre Produção Massal de Propágulos de Cacau geneticamente melhorados. Atas, Ilhéus - BA. pp.85-89.
- SODRÉ, G. A. et al. 2002. Caracterização física e química de materiais para composição de substratos na produção de mudas no instituto biofábrica de cacau. *In*: Furlani, A. M. C. et al. (Coord.). Caracterização, manejo e qualidade de substratos para produção de plantas. Campinas, IAC, Documento nº 70. pp.92.
- SODRÉ, G. A. et al. 2005. Características químicas de substratos utilizados na produção de mudas de cacauzeiros. *Revista Brasileira de Fruticultura* 27: 514-516.

SUBSTRATOS PARA ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DE CACAUEIRO

George Andrade Sodré¹, José Eduardo Corá²

¹ CEPLAC/CEPEC, Caixa Postal 07, 45600-970, Itabuna-Bahia-Brasil. E-mail: sodre@cepec.gov.br. Universidade Estadual de Santa Cruz -UESC - DCAA.

² Departamento de Solos da Unesp/ Fcav. 14484-900, Jaboticabal, São Paulo, Brasil

O trabalho verificou a influência de substratos no enraizamento de miniestacas de cacau dos clones CCN-51, Cepec 2006, TSA-792 e TSH-1188. Os substratos usados foram: serragem (SER), composto do tegumento da amêndoa do cacau (CTAC) e combinações SER + CTAC 1:1 (v:v) (SERCTAC) e SER + areia 8:1 (v:v) (SERAREIA). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e os tratamentos formados pelos quatro clones e quatro substratos com cinco repetições. As miniestacas foram inicialmente tratadas com ácido indolbutírico (AIB) 6.000 mg kg⁻¹, em seguida, inseridas em tubetes de 288 cm³ preenchidos com os substratos e mantidas em câmara de nebulização durante 50 dias. Após esse período avaliou-se a porcentagem de sobrevivência (SOB), massa seca da brotação (MSB), massa seca de raízes principais (MSRP) e massa seca das raízes totais (MSRT). Os substratos não influenciaram na SOB dos clones. A massa seca da brotação e das raízes primárias de miniestacas do clone Cepec 2006 foi superior ao CCN-51 quando se usou a combinação serragem e composto do tegumento da amêndoa do cacau na proporção volumétrica 1:1.

Palavras-chave: Serragem, estaquia, propagação, *Theobroma cacao* L.

Substrates to rooting of cocoa minicuttings. This work evaluated the effects of substrates in the rooting of minicuttings cocoa clones CCN-51, Cepec 2006, TSA 792 and TSH-1188. The substrates had been used were sawdust (SER), composting of cocoa seed tegument (CTAC), SER mix with CTAC 1:1 (v: v) (SERCTAC) and SER mix with sand in the ratio 8:1 (v: v) (SERAREIA). The experiment was carried out in a complete randomized and the treatments formed from four clones and four substrates with five replications. The minicuttings were initially treated with indolbutyric acid (AIB) 6.000 mg kg⁻¹, after inserted in tubettes of 288 cm³ filled with the substrates, and then maintained for 50 days in a greenhouse with intermittent mist. After this period, following parameters were evaluated: the survival percentages (SOB), dry matter of the shoots (MSB), the main root (MSRP) and total root (MSRT). The substrates had not influenced in the SOB of clones. The dry matter of shoots and main root of minicuttings clone Cepec 2006 was bigger than CCN 51 when the cuttings growth in substrate with mix of sawdust and composting of cocoa seed tegument in the ratio 1:1.

Key words: Sawdust, cutting, propagation, *Theobroma cacao* L.

A primeira multiplicação vegetativa bem sucedida em cacau foi realizada em Trinidad e descrita por Pyke (1931). Esse autor conseguiu enraizar estacas e relatar a anatomia da formação de raízes adventícias. Nesse contexto, o uso de mudas clonais de cacaueiros, em plantios comerciais na América Central, ocorre desde a década de 50. No Brasil, entretanto, devido à boa produção das plantas híbridas e à facilidade de produção de sementes, o plantio clonal foi superado pelo seminal (Dias, 1993).

A partir do ano de 1997, a Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira – Ceplac, intensificou as pesquisas para produção de mudas clonais em larga escala no estado da Bahia. Essa ação visava atender a demanda por clones resistentes à vassoura-de-bruxa, doença causada pelo fungo

Crinipellis pernicioso (Stahel) Singer (Pereira et al., 1989).

As primeiras mudas produzidas no ano de 1999 foram provenientes de estacas semilenhosas de ramos plagiotrópicos, medindo aproximadamente 16 cm de comprimento, coletadas em germoplasma no campo, enraizadas em viveiros telados, usando tubetes de 288 cm³ e substrato a base de casca de *Pinus* (Marrocos & Sodré, 2004). Desde então, a escolha do substrato adequado, o tamanho das estacas usadas e o manejo nutricional e sanitário no campo e nos viveiros constituíram-se nos principais desafios para intensificar a produção clonal de mudas de cacaueiros no estado da Bahia.

Incrementos na produção das mudas de cacaueiros podem ser conseguidos com uso de germoplasma crescendo

em viveiro, usando estacas de menor tamanho (miniastacas com 2 a 3 gemas) e material herbáceo (Sodré, 2007). Por outro lado, ao serem coletadas em jardins clonais que podem ser mantidos em viveiros, nos quais as plantas recebem manejo nutricional e sanitário adequado, melhora-se a qualidade das mudas e reduzem-se os custos de produção das mesmas.

Se a grande demanda por substratos e o custo dos mesmos contribui para a elevação do preço final da muda produzida, por outro lado, a utilização de resíduos disponíveis regionalmente pode reduzir custos e minimizar a poluição decorrente do acúmulo desses materiais no ambiente (Fermino, 1996).

Na região sul do estado da Bahia, a serragem de madeira é um resíduo que se encontra em serrarias ativas ou desativadas, expostos ao tempo e sem utilidade imediata. O material apresenta-se com partículas de diferentes tamanhos, coloração variando de vermelho a marrom e diferentes graus de decomposição (Sodré et al., 2007).

Outro resíduo com grande disponibilidade no sul da Bahia é o tegumento da amêndoa do cacau (TAC). Trata-se de um resíduo da indústria de moagem de amêndoas, com granulometria variando de 0,5 a 4 mm e teor de umidade inferior a 5,0%. Ao contrário da serragem, que se encontra naturalmente compostada e pode ser diretamente usada como substrato, o TAC necessita de prévia compostagem (Sodré et al., 2005). Esses autores verificaram que o tegumento compostado tem cor escura e libera em água altas concentrações de potássio e, também denominaram o produto final da compostagem de composto do tegumento da amêndoa do cacau (CTAC).

No contexto do uso de resíduos regionais como substrato ou componente de substratos, a serragem e o CTAC apresentam potencial para serem usados. Assim, o trabalho teve como objetivo verificar a influência de substratos formados por serragem, composto do tegumento da amêndoa do cacau e areia no enraizamento de miniastacas de clones de cacaueiro.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Centro de Pesquisas do Cacau, principal unidade de pesquisas da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira - Ceplac em Ilhéus-BA. Os clones usados foram: CCN-51, Cepec 2006, TSA 792 e TSH 1188. Esses clones foram escolhidos porque apresentam as principais características genéticas e de compatibilidade reprodutiva e são atualmente adotados por produtores do estado da Bahia.

As plantas matrizes encontravam-se em viveiro telado, crescendo em sacos de polietileno de 22 dm³ preenchidos com substrato composto da combinação de fibra de coco e casca de *Pinus* na proporção 1:1 (v:v).

Os substratos usados no enraizamento das miniastacas foram: serragem coletada no município de Una-BA (SER), composto do tegumento da amêndoa do cacau (CTAC), combinação de SER + CTAC na proporção 1:1 (v:v) (SERCTAC) e combinação de SER e areia na proporção 8:1 (v:v) (SERAREIA). A serragem e a areia foram lavadas com água destilada para retirada de sais solúveis na areia e tanino na serragem. Em seguida, foram secos à sombra.

Foram usadas miniastacas herbáceas, coletadas na ponta de ramos plagiotrópicos, medindo de 4 a 6 cm de comprimento e número médio de 4 folhas por miniastaca. A base da miniastaca foi cortada transversalmente 2 mm abaixo de uma gema foliar e em seguida a primeira folha da base para o ápice foi reduzida à metade e as demais em 20% do tamanho original.

Depois de tratadas na base com ácido indolbutírico (AIB) 6.000 mg kg⁻¹ misturado em talco, as miniastacas foram inseridas em tubetes de 288 cm³, preenchidos com os substratos, e conduzidas à câmara de nebulização para enraizamento. Para manter a atmosfera saturada a 100% de umidade relativa na superfície da folha, as miniastacas foram submetidas à nebulização por 15 segundos a cada 5 minutos entre as 6 e 18 horas e 15 segundos a cada hora das 18 às 6 horas do dia seguinte.

Quando foram verificadas as primeiras brotações, o que ocorreu aos 50 dias, as miniastacas foram avaliadas quanto à porcentagem de sobrevivência (SOB), massa seca da brotação (MSB), massa seca das raízes principais (MSRP) e massa seca de raízes totais (MSRT). As raízes principais foram aquelas que apresentavam diâmetro superior a 0,025 mm após secagem em estufa a 65°C por 48 horas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 4, constituído pelos 4 clones e 4 substratos com 5 repetições. As parcelas foram constituídas de 6 tubetes, sendo colocada uma miniastaca por tubete.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. A variável SOB, por ser expressa em porcentagem, foi transformada em arco seno, $\sqrt{p/100}$ sendo p o valor encontrado.

Resultados e Discussão

Verificou-se que os valores encontrados para a porcentagem de sobrevivência (SOB) não diferiram estatisticamente entre substratos e clones. Para as demais variáveis foram verificados efeitos significativos para os substratos e clones de cacaueiro aos 50 dias, contudo, não foi verificado efeito da interação entre esses fatores (Tabela 1).

A elevada SOB (Tabela 2), pode ser atribuída ao rigoroso controle do ambiente (água, luz e temperatura) na câmara de nebulização e ao bom estado nutricional e sanidade das

plantas matrizes, no viveiro, no momento do corte das miniestacas. Contudo, como destacou EVANS (1953), clones de cacaueros que apresentam bons níveis de sobrevivência em experimentos bem controlados podem não repetir os mesmos resultados em larga escala, sendo esse um fator negativo no processo de multiplicação de cacauero.

Outra explicação para a alta SOB foi o curto tempo decorrido entre o corte da miniestaca e o estaqueamento que foi sempre inferior a 20 minutos. Wendling et al. (2000), trabalhando com miniestacas de eucalipto, argumentaram que atrasos decorridos entre o corte da planta matriz e o estaqueamento diminuem o turgor e aumentam a oxidação da base de miniestacas, reduzindo o percentual de enraizamento.

Elevados valores de SOB também foram encontrados para o clone TSH 1188 por Sacramento & Faria (2003), que usaram para enraizamento uma combinação do substrato comercial Plantmax® e fibra de coco na proporção 1:1 (v:v). Esses autores, usando a concentração de AIB 6.000 mg kg⁻¹ e fertilizantes de liberação lenta no

plântio, verificaram percentagem de sobrevivência de 98% após 78 dias. A SOB, variando entre 90 a 100%, obtida neste trabalho (Tabela 2), sem uso de fertilizantes, sugere que até 50 dias não seja necessário realizar fertilização nos substratos usados para enraizamento de miniestacas dos clones avaliados.

Verificou-se que a massa seca da brotação (MSB) do clone Cepec 2006 diferiu significativamente do clone CCN 51 quando enraizado na combinação de serragem e composto do tegumento da amêndoa do cacau (SERCTAC) (Tabela 3). A influência do substrato no crescimento de estacas de cacauero também foi verificada por Evans (1953). Esse autor considerou que uma boa relação entre a água e o ar é necessária para a formação de raízes e brotação. No presente trabalho, é possível que o substrato SERCTAC, por ser obtido da combinação de diferentes granulometrias, tenha possibilitado maior equilíbrio entre a água e o ar e com isso permitido maior brotação das miniestacas.

Não houve diferenças significativas entre os substratos para a massa seca das raízes principais (MSRP) das miniestacas. Contudo, foram encontradas diferenças entre os clones (Tabela 4). A MSRP do clone Cepec 2006 foi significativamente superior, diferindo dos clones CCN 51 e TSH 1188, quando as miniestacas enraizaram no substrato SERCTAC. O clone TSA 792 também apresentou MSRP superior ao TSH 1188 para o substrato serragem (SER) (Tabela 4). Esses resultados, que podem ser atribuídos às diferenças no vigor entre clones de cacauero, corroboram com os resultados de Cheesman e Spencer (1936) e Evans, (1953) e também estão de acordo com Sena-Gomes et al. (2000), que verificaram diferenças significativas entre clones de cacauero quanto ao potencial de enraizamento.

Considerando a massa seca das raízes totais (MSRT), verificou-se efeito significativo para substratos e clones (Tabela 1). A MSRT do clone TSA 792, enraizado no substrato SER foi significativamente superior àquela encontrada no composto do tegumento da amêndoa do cacau (CTAC) (Tabela 5). Este resultado pode ser atribuído às características químicas do CTAC, especialmente quando usado como substrato na forma pura. Sodré et al. (2005), trabalhando com CTAC, encontraram altas concentrações de potássio em solução, atributo químico que pode ter elevado a condutividade elétrica (CE) do CTAC e reduzido o crescimento das raízes. Esse resultado também pode indicar que o clone TSA 792 seja menos tolerante a variações na CE em comparação com os demais clones.

Tabela 1. Valores dos quadrados médios obtidos na análise de variância para efeito de quatro substratos¹ usados no enraizamento de miniestacas de quatro clones de cacauero² por um período de 50 dias em câmara de nebulização.

Causas da variação	GL	Quadrados Médios			
		SOB ²	MSB	MSRP	MSRT
Substratos	3	0,023 ^{ns}	0,0011 ^{**}	0,0011 ^{ns}	0,007 [*]
Clones	3	0,023 ^{ns}	0,0003 ^{ns}	0,0073 [*]	0,015 ^{**}
Substratos x Clones	9	0,031 ^{ns}	0,0004 ^{ns}	0,0009 ^{ns}	0,002 ^{ns}
Resíduo	64	0,035	0,0001	0,0007	0,001
CV (%)		12,4	69,3	36,9	33,3

¹ Substratos: Serragem (SER) composto do tegumento da amêndoa do cacau (CTAC), mistura SER + CTAC 1:1 (v:v) (SERCTAC), SER + areia na proporção 8:1 (v:v) (SERAREIA).

² Clones: CCN 51, Cepec 2006, TSA 792 e TSH 1188.

³ Percentagem de sobrevivência de estacas (SOB); massa seca da brotação (MSB); massa seca da raiz principal (MSRP) e massa seca de raízes totais (MSRT). ns: não significativo a 5% de probabilidade. *, **, : significativos a 5,0 e 1,0 % de probabilidade. CV (%): coeficiente de variação.

Tabela 2. Porcentagem de sobrevivência (SOB) de miniestacas de cacauero enraizadas por um período de 50 dias em câmara de nebulização.

Clones	SOB (%)			
	Substratos ¹			
	SER	CTAC	SERCTAC	SERAREIA
CCN 51	100	90	100	100
Cepec 2006	100	100	100	100
TSA 792	100	95	100	100
TSH 1188	95	100	90	100

¹ Serragem (SER) composto do tegumento da amêndoa do cacau (CTAC), mistura SER + CTAC 1:1 (v:v) (SERCTAC), SER + areia na proporção 8:1 (v:v) (SERAREIA).

Tabela 3. Massa seca da brotação (MSB) de miniestacas de cacauero enraizadas por um período de 50 dias em câmara de nebulização.

Clones	MSB (g)			
	Substratos ¹			
	SER	CTAC	SERCTAC	SERAREIA
CCN 51	0,037 A	0,002 A	0,010 B	0,012 A
Cepec 2006	0,002 A	0,007 A	0,060 A	0,008 A
TSA 792	0,030 A	0,020 A	0,049 AB	0,016 A
TSH 1188	0,012 A	0,004 A	0,027 AB	0,020 A

¹Serragem (SER) composto do tegumento da amêndoa do cacau (CTAC), mistura SER + CTAC 1:1 (v:v) (SERCTAC), SER + areia na proporção 8:1 (v:v) (SERAREIA). Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

Tabela 4. Massa seca das raízes principais (MSRP) de miniestacas de cacauero enraizadas por um período de 50 dias em câmara de nebulização.

Clones	MSRP ¹ (g)			
	Substratos ²			
	SER	CTAC	SERCTAC	SERAREIA
CCN 51	0,074 AB	0,037 A	0,035 B	0,053 A
Cepec 2006	0,110 AB	0,085 A	0,132 A	0,111 A
TSA 792	0,122 A	0,060 A	0,102 AB	0,090 A
TSH 1188	0,039 B	0,057 A	0,027 B	0,082 A

¹raízes que apresentavam diâmetro superior a 0,025 mm após secagem em estufa a 65 °C por 48 horas.

²Serragem (SER) composto do tegumento da amêndoa do cacau (CTAC), mistura SER + CTAC 1:1 (v:v) (SERCTAC), SER + areia na proporção 8:1 (v:v) (SERAREIA). Médias seguidas da mesma letra maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

Tabela 5. Massa seca das raízes totais (MSRT) de miniestacas de cacauero enraizadas por um período de 50 dias em câmara de nebulização.

Clones	MSRT (g)			
	Substratos ²			
	SER	CTAC	SERCTAC	SERAREIA
CCN 51	0,143 aAB	0,052 aA	0,071 aAB	0,100 aA
Cepec 2006	0,175 aAB	0,114 aA	0,190 aA	0,180 aA
TSA 792	0,215 aA	0,091 bA	0,175 abAB	0,180 abA
TSH 1188	0,067 aB	0,088 aA	0,064 aB	0,135 aA

¹Serragem (SER) composto do tegumento da amêndoa do cacau (CTAC), mistura SER + CTAC 1:1 (v:v) (SERCTAC), SER + areia na proporção 8:1 (v:v) (SERAREIA). Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

Verificou-se para clone CCN 51, enraizado nos substratos SER e SERCTAC, que a contribuição relativa das raízes principais em relação à massa total de raízes foi superior a 50% (Tabelas 4 e 5). Considerando que a proporção 1:1 entre raízes principais e totais seja recomendada para as mudas de cacauero, esse resultado sugere que esses substratos sejam adequados para enraizamento do clone CCN 51.

Conclusões

Cinquenta dias após o estaqueamento os substratos não influenciaram na sobrevivência dos clones.

A massa seca da brotação e das raízes primárias de miniestacas do clone Cepec 2006 foi superior ao CCN-51 quando se usou a combinação serragem e composto do tegumento da amêndoa do cacau, na proporção volumétrica 1:1.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Técnico Agrícola da Ceplac Edmundo Andrade pela importante colaboração durante a condução do experimento.

Literatura Citada

- CHEESMAN, E. E.; SPENCER, G. E. L. 1936. The propagation of cuttings in tropical climate. *Tropical Agriculture (Trinidad)* (13): 201-203.
- DIAS, L.A.S. 1993. Propagação vegetativa vs reprodução seminal em cacau. *In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 1993. Anais, (comunicações), Recife. p. 45.*
- EVANS, H. 1951. Investigations on the propagation of cacao. *Tropical Agriculture (Trinidad)* (28): 147-203.
- FERMINO, M. H. 1996. Aproveitamento de resíduos industriais e agrícolas como alternativas de substratos hortícolas. Dissertação de Mestrado. Porto Alegre, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 90p.
- MARROCOS, P.C.L.; SODRÉ, G. A. 2004. Sistema de produção de mudas de cacaueros. *In: José Geraldo et al. (ed.). Nutrição e Adubação de Plantas Cultivadas em Substrato. Viçosa, UFV. pp. 283-311.*
- PEREIRA, J. L. et al. 1989. Primeira ocorrência de vassoura-de-bruxa na principal região produtora de cacau da Brasil. *Agrotropica (Brasil)* 1 (1): 79-81.
- PIKE, E. 1931. The vegetative Propagation of *Theobroma cacao* by softwood cuttings. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 8(9) p. 249.
- SACRAMENTO, C.K.; FARIA, J.C. 2003. Enraizamento e crescimento de estacas herbáceas do cacauero (Clones Cepec 42, TSH 516 e TSH 1188) em função da aplicação do ácido indolbutírico (AIB). *Revista Brasileira de Fruticultura* 25 (1): 192-194.
- SENA-GOMES, A.R. et al. 2000. Avanços na propagação clonal do cacauero no Sudeste da Bahia. *In: Pereira, J.L. et al. (eds). Atualização sobre Produção Massal de Propágulos de Cacau geneticamente melhorados. 2000. Atas, Ilhéus - BA. pp. 85-89.*
- SODRÉ, G. A. et al. 2005. Características químicas de substratos utilizados na produção de mudas de cacaueros. *Revista Brasileira de Fruticultura (Brasil)* 27 (3): 514-516.
- SODRÉ, G.A.; CORÁ, J.E.; SOUZA JÚNIOR, J.O. 2007. Caracterização física de substratos à base de serragem e recipientes para crescimento de mudas de cacauero. *Revista Brasileira de Fruticultura* 29 (2): 339-344.
- SODRÉ, G. A. Substratos e estaquia na produção de mudas de cacauero. Tese Doutorado. Jaboticabal, Unesp/Fcav. 84p.
- WENDLING, I. et al. 2000. Propagação clonal de híbridos de *Eucalyptus* spp. por miniestaquia. *Revista Árvore (Brasil)*, 2 (2): 181-186. ●

PERFORMANCE DE CULTIVARES DE MILHO COM BASE NA ANÁLISE DE ESTABILIDADE FENOTÍPICA NO MEIO-NORTE BRASILEIRO

Milton José Cardoso¹, Hélio Wilson Lemos de Carvalho², Agna Rita Santos Rodrigues¹, Sandra Santos Rodrigues¹

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

No ano agrícola de 2004/2005, foram conduzidos dois tipos de experimentos, em delineamento experimental de blocos ao acaso com três repetições, envolvendo a avaliação de 36 híbridos de milho em um dos experimentos e, 36 cultivares (25 variedades e 11 híbridos) em outro, em nove e dez ambientes, respectivamente, do Meio-Norte brasileiro. O objetivo foi conhecer a adaptabilidade e a estabilidade das cultivares para fins de recomendação. Os parâmetros de adaptabilidade e estabilidade foram estimados conforme método proposto por Cruz et al. (1989). Detectaram-se, nas análises de variância conjunta, diferenças entre as cultivares e comportamento inconsistente em face das oscilações ambientais. Em ambos os experimentos, as variedades e híbridos avaliados diferiram quanto à adaptabilidade e estabilidade de produção. Os híbridos mostraram melhor adaptação que as variedades, consolidando-se em alternativas importante para exploração comercial na Região. Os híbridos que expressaram adaptabilidade ampla, a exemplo dos 2 B 619, P 30 F 70, DAS 8420, BRS 1010, BRS 1030, BRS 3150, dentre outros, consubstanciam-se em alternativas importantes para a agricultura regional. Também, as variedades que apresentaram adaptabilidade ampla, a exemplo das Al Piratininga, Al Mandari, CPATC, AL Bandeirante, dentre outras, tornam-se de importância para os diferentes sistemas de produção dos agricultores familiares.

Palavras-chave: *Zea mays*, interação genótipo x ambiente, rendimento de grãos, híbridos, variedades

Corn cultivars performance with base in the phenotype stability analysis in the Brazilian Middle-North. In the agricultural year of 2004/2005, two types of experiments were evaluated with 36 corn hybrids in one of the experiments and, 36 cultivars (25 varieties and 11 hybrids) in other, in nine and ten environments, respectively, in the Brazilian Middle-North. The experiments were carried out in a randomized complete blocks design with three replications. The objective was to study the adaptability and the stability of that cultivar for recommendation ends. The Cruz et al. (1989) method was used to estimate adaptability and stability parameters. The combined variance analysis of showed variations among the cultivar and inconsistent behaviors of that cultivar due to environmental oscillations. In both experiments, the varieties and appraised hybrid differed as the adaptability and production stability. The hybrid showed better adaptation than varieties, consolidating in important alternatives for commercial exploration in the Area. The hybrid that expressed wide adaptability, such as of 2 B 619, P 30 F 70, DAS 8420, BRS 1010, BRS 1030, BRS 3150, among other, constituted in important alternatives for the regional agriculture. Also, the varieties that presented wide adaptability, such as Al Piratininga, Al Mandari, CPATC, AL Bandeirante, among other, justified to its recommendations for the different prevalent production systems, mainly to family agriculture.

Key words: *Zea mays*, genotype x environment interaction, grain yield, hybrid, variety.

Introdução

A produção de grãos tem tido um papel de destaque no desenvolvimento do Meio-Norte do Brasil, sendo mais expressiva em áreas de cerrados do Sul do Maranhão e do Sudoeste do Piauí, onde predominam sistemas de produção com melhor tecnificação e onde os níveis de produtividade de grãos têm ultrapassado os 7.000 kg ha⁻¹. Níveis mais elevados de produtividade têm sido registrados em trabalhos de competição de cultivares conduzidos em áreas de cerrados dessa ampla região, no Centro Maranhense, no Centro e Centro - Norte Piauiense, conforme relatos de Cardoso et al. (2003 a e 2003 b e 2004) e Carvalho et al. (2005 a e 2005 b). Esses autores constataram uma melhor adaptação dos híbridos em relação às variedades, enfatizando ainda que a recomendação desse tipo de material genético deve ser precedida de uma pré-avaliação, nas diferentes condições ambientais, com o propósito de fornecer maiores subsídios aos agricultores no tocante à escolha adequada desses materiais de melhor estabilidade de produção (Ramalho et al., 1993).

As variedades melhoradas, por expressarem menor adaptação, predominam nos sistemas de produção dos pequenos e médios produtores rurais, pois lhes faltam recursos para investir em tecnologias de produção. Apesar disso, algumas variedades tem apresentado, em diversos trabalhos conduzidos no Nordeste brasileiro, produtividade média de grãos semelhantes a alguns híbridos (Carvalho et al., 2005 a e 2005 b e Souza et al., 2004 a e 2004 b), o que justifica seu emprego em sistemas de produção de melhor tecnificação.

Rocha (2002) comenta que estudos sobre a adaptabilidade e a estabilidade fenotípica são de suma importância, pois, permite particularizar os efeitos da interação genótipo x ambiente ao nível de genótipos e de ambientes, identificando a contribuição relativa de cada um para a interação total. Enfatiza ainda que inúmeras técnicas genético-estatísticas têm sido desenvolvidas com o propósito de melhor quantificar o padrão inerente à interação genótipo x ambiente, destacando que estudos comparativos entre diversas metodologias foram realizados com o objetivo de selecionar métodos que sejam práticos e ao mesmo tempo eficazes para a seleção e recomendação de cultivares.

O presente trabalho teve por objetivo verificar a adaptabilidade e a estabilidade de variedades e híbridos de milho, quando submetidas a diferentes condições ambientais da Região Meio-Norte do Brasil, para fins de recomendação.

Material e Métodos

Foram conduzidos sob regime de sequeiro, na safra 2004/2005, duas redes experimentais no Meio-Norte do Brasil. Em uma procedeu-se à avaliação de 36 híbridos, em nove ensaios, distribuídos, respectivamente, em quatro e cinco ambientes dos estados do Maranhão e do Piauí. A outra rede, composta por 25 variedades e onze híbridos, totalizando 36 cultivares, foi conduzida, respectivamente, em quatro e seis ambientes, dos estados do Piauí e do Maranhão.

Na Tabela 1 constam as coordenadas geográficas de cada município, os quais estão compreendidos entre os paralelos 03°11' S, em Bom Princípio, PI e 8°24' S, em Nova Santa Rosa, PI, englobando diferentes condições ambientais. Na Tabela 2 estão as médias pluviométricas

Tabela 1. Coordenadas geográficas dos municípios onde foram conduzidos os ensaios. Região Meio-Norte do Brasil, safra 2004/2005.

Municípios	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)
Paraibano/MA	6° 18'	43°57'	241
Colinas/MA	6° 01'	44°14'	141
Anapurus/MA	3°44'	43°21'	105
São Raimundo das Mangabeiras/MA	7°22'	45°36'	225
Teresina/PI	5°05'	42°49'	72
Baixa Grande do Ribeiro/PI	7°32'	45°14'	325
Nova Santa Rosa/PI	8°24'	45°55'	469
Uruçuí/PI	7°30'	44°12'	445
Bom Princípio/PI	3°11'	41°37'	70

IBGE. Cadastro de cidades e vilas do Brasil 1999 e malha municipal digital. <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em 14 de janeiro de 2005.

Tabela 2. Índices pluviométricos (mm) ocorridos durante o período experimental. Região Meio-Norte do Brasil, safra 2004/2005.

Ambiente	2004		2005			Total
	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	
Paraibano/MA		233*	278	280	88	879
Colinas/MA		180*	256	288	98	822
Anapurus/MA		95*	220	301	390	1006
S. R. Mangabeira/MA	176*	266	265	305		1012
Baixa G. do Ribeiro/PI	164*	208	266	232		870
Nova S. Rosa/PI	130*	197	280	220		827
Teresina/PI		284*	236	300	161	981
Uruçuí/PI	147*	155	126	324		752
Bom Princípio/PI	92*	205	220	115		632

Fonte: Pluviômetros instalados próximos as áreas experimentais.

*Mês de plantio.

(mm) registradas no decorrer do período experimental, com uma variação de 752 mm, em Uruçuí, PI, a 1012 mm, em São Raimundo das Mangabeiras, MA.

Em ambas as redes, utilizaram-se o delineamento experimental em blocos ao acaso, com três repetições. Cada parcela constou de quatro fileiras de 5,0 m de comprimento espaçadas de 0,80 m e 0,25 m entre covas, dentro das fileiras. Foram colocadas duas sementes por cova, deixando-se uma planta após o desbaste. Foram colhidas as duas fileiras centrais de forma integral correspondendo a uma área útil de 8,0 m². As adubações realizadas nesses ensaios obedeceram aos resultados das análises de solo de cada área experimental.

Os dados de peso de grãos foram submetidos à análise de variância por local, obedecendo ao modelo em blocos ao acaso e a uma análise de variância conjunta obedecendo ao critério de homogeneidade dos quadrados médios residuais, considerando aleatórios os efeitos de blocos e ambientes e, fixo o efeito de cultivares. As referidas análises foram realizadas utilizando-se o Statistical Analysis System (SAS.INSTITUTE, 1996) para os dados balanceados (PROC/ANOVA) o seguinte modelo foi utilizado:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + A_j + CA_{ij} + B/A_{k(j)} + \varepsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} : média de a cultivar i no ambiente j e no bloco k; μ : média geral; C_i : efeito de a cultivar i; A_j : efeitos do ambiente i; CA_{ij} : efeito da interação da cultivar i com o local j; $B/A_{k(j)}$: efeito do bloco k dentro do ambiente j; ε_{ijk} : erro aleatório.

Os parâmetros de adaptabilidade e estabilidade foram estimados pelo método de Cruz et al. (1989), o qual baseia-se na análise de regressão bissegmentada, tendo como parâmetros de adaptabilidade a média (b_0), a resposta linear aos ambientes desfavoráveis (b_1) e aos ambientes favoráveis ($b_1 + b_2$). Foi utilizado o seguinte modelo:

$$Y_{ij} = b_{0i} + b_{1i}I_j + b_{2i}T(I_j) + \sigma_{ij} + e_{ij}$$

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

Resultados e Discussão

Um resumo das análises de variância de cada ensaio, para produtividade de grãos, no tocante à rede formada por híbridos, consta na Tabela 3, onde se constata diferenças significativas entre os híbridos, o que revela comportamento diferenciado entre esses materiais, dentro de cada ambiente. Os coeficientes de variação obtidos oscilaram de 6% a 11%, conferindo boa precisão aos experimentos, conforme critérios adotados por Scapim et

al. (1995). A média da produtividade de grãos variou de 4.672 kg ha⁻¹, no município de Anapurus, MA, a 6.188 kg ha⁻¹, em Teresina, PI, evidenciando a potencialidade da região para a produção de grãos, corroborando com os resultados obtidos anteriormente por Cardoso et al. (2003 e 2004). Os locais de Teresina, Baixa Grande do Ribeiro, Nova Santa Rosa e Uruçuí, PI e Paraibano, MA, mostraram-se mais propícios ao desenvolvimento do milho.

No tocante a produtividade de grãos, houve, também efeitos ($p < 0,01$) quanto aos ambientes, híbridos e interação híbrido x ambiente (Tabela 4), o que, evidencia o comportamento diferenciado entre os materiais avaliados e o comportamento inconsistente desses híbridos por causa das variações ambientais.

Constatada a presença da interação significativa híbrido x ambiente, procurou-se conhecer o comportamento de cada um deles nos ambientes considerados. As produtividades médias de grãos (b_0) oscilaram de 4.382 kg ha⁻¹ a 6.077 kg ha⁻¹, com média geral 5.230 kg ha⁻¹ (Tabela 5), o que revela o bom desempenho produtivo dos híbridos na região. Os materiais de produtividades superiores à média geral mostraram melhor adaptação, destacando-se entre eles os híbridos simples 2 B 619,

Tabela 3. Resumo das análises de variância em nível de ambiente, referente à produtividade de grãos dos ensaios de híbridos de milho. Região Meio-Norte do Brasil, safra 2004/2005.

Locais	Quadrados Médios		Média	C.V (%)
	Híbridos	Erro		
Uruçuí/PI	555460,8**	156788,1	5152	8
Baixa G. Ribeiro/PI	1081031,4**	191275,2	5834	7
Nova Santa Rosa/PI	1122485,4**	123552,7	5266	9
Teresina/PI	1399243,9**	385629,6	6168	10
Paraibano/MA	770124,1**	203757,2	5013	9
Colinas/MA	1126350,0**	290399,3	4851	11
São R. das Mangabeiras/MA	700854,4**	100645,5	4882	6
Anapurus/MA	1342887,4**	281771,0	4672	11

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 4. Resumo da análise de variância conjunta referente ao peso de grão, obtido no ensaio de híbridos de milho. Região Meio Norte do Brasil, safra 2004/2005.

Fonte de variação	Grau de liberdade	Quadrado médio
Bloco(L)	18	943240,9**
Cultivares (C)	34	4580298,1**
Local (L)	8	8921394,2**
Interação (C x L)	272	527312,9**
Erro	612	240807,4
Média		5516
C.V.(%)		9,0

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 5. Produtividade média de grãos (kg ha⁻¹) e estimativas dos parâmetros de adaptabilidade e estabilidade de 36 híbridos de milho em nove ambientes do Meio-Norte do Brasil, safra 2004/2005.

Híbridos	Produtividade médias de grãos (kg ha ⁻¹)			b ₁	b ₂	b ₁ + b ₂	s ² _d	R ² (%)
	Geral	Desfavorável	Favorável					
2 B 619 ^{HS}	6077 a	5807	6528	0,72 ns	-0,02 ns	0,70 ns	396649,2 ns	59
Pioneer 30 F 70 ^{HS}	6048 a	5889	6312	0,63 ns	0,44 ns	1,08 ns	687406,6 *	48
Pioneer 30 F 44 ^{HS}	6026 a	5752	6482	0,77 ns	-0,50 ns	0,26 ns	103033,7 ns	83
DAS 8420 ^{HS}	5941 a	5673	6387	0,88 ns	-0,82 ns	0,05 *	128993,8 ns	84
DAS 8480 ^{HS}	5881 a	5469	6569	1,14 ns	-0,30 *	0,84 ns	1510567,6 **	46
2 B 710 ^{HS}	5683 b	5113	6631	1,76 **	1,20 ns	2,97 **	171506,3 ns	96
DAS 657 ^{HSm}	5642 b	5223	6340	1,32 ns	-0,72 ns	0,60 ns	253259,5 ns	86
Taurus ^{HD}	5553 b	5238	6078	1,01 ns	-0,70 ns	0,31 ns	224256,2 ns	80
Pioneer 3041 ^{HT}	5514 b	5192	6049	0,92 ns	-0,63 ns	0,28 ns	992241,2 **	43
Pioneer F 90 ^{HS}	5458 b	5111	6034	1,01 ns	0,69 ns	1,71 ns	473105,9 ns	77
Tork ^{HS}	5444 b	5069	6068	1,04 ns	-0,76 ns	0,27 ns	1090395,4 **	47
Pioneer 30 K 75 ^{HSm}	5403 b	5129	5859	0,93 ns	0,00 ns	0,93 ns	377275,4 ns	72
Strike ^{HS}	5313 c	4807	6156	1,64 **	0,49 ns	2,14 **	119252,9 ns	96
Pioneer 30 F 98 ^{HSm}	5289 c	4845	6030	1,37 ns	0,39 ns	1,77 ns	689242,6 **	78
A 010 ^{HT}	5264 c	4758	6106	1,55 **	0,20 ns	1,76 ns	287776,0 ns	90
Orion ^{HD}	5264 c	4930	5819	1,02 ns	-0,23 ns	0,79 ns	222761,4 ns	82
Pioneer 30 F 80 ^{HS}	5241 c	4809	5962	1,31 ns	-0,18 ns	1,13 ns	162313,9 ns	91
DAS 9560 ^{HS}	5224 c	4885	5788	1,10 ns	-0,84 ns	0,25 ns	135956,3 ns	88
AS 1548 ^{HSm}	5143 c	5051	5295	0,41 **	0,21 ns	0,63 ns	294308,2 ns	46
AS 32 ^{HD}	5137 c	4772	5743	1,20 ns	0,30 ns	1,51 ns	291249,8 ns	86
2 C 599 ^{HS}	5100 c	4792	5614	0,91 ns	0,65 *	1,56 ns	241593,5 ns	84
Pioneer 30 F 87 ^{HT}	5092 c	4714	5720	1,29 ns	-1,17 *	0,11 *	184713,2 ns	88
Fort ^{HS}	5066 c	4474	6051	2,12 **	-0,95 ns	1,17 ns	1173057,2 **	78
Excelsa ^{HT}	4991 d	4658	5547	0,94 ns	0,56 ns	1,50 ns	190806,9 ns	87
A 4450 ^{HD}	4964 d	4781	5268	0,51 *	0,11 ns	0,63 ns	137953,2 ns	70
SHS 4080 ^{HD}	4963 d	4790	5250	0,44 *	0,55 ns	1,00 ns	378968,4 ns	53
Tractor ^{HD}	4944 d	4670	5401	0,84 ns	0,10 ns	0,94 ns	356718,2 ns	70
A 4454 ^{HD}	4930 d	4699	5314	0,66 ns	0,06 ns	0,72 ns	317706,3 ns	62
A 015 ^{HS}	4863 d	4635	5241	0,85 ns	0,50 ns	1,36 ns	767129,3 **	59
A 2555 ^{HS}	4815 d	4759	4908	0,24 **	0,56 ns	0,81 ns	85588,3 ns	71
SHS 4070 ^{HD}	4792 d	4374	5488	1,43 *	-0,56 **	0,87 ns	1555885,5**	56
SHS 5050 ^{HT}	4771 d	4671	4937	0,23 **	1,50 ns	1,74 ns	238617,2 ns	77
Master ^{HT}	4769 d	4514	5194	0,90 ns	0,71 ns	1,62 ns	510748,7 *	72
SHS 5080 ^{HT}	4672 e	4366	5183	0,95 ns	-0,24 ns	0,70 ns	256968,7 ns	78
SHS 5070 ^{HT}	4618 e	4449	4897	0,52 *	0,27 ns	0,80 ns	105062,9 ns	79
Speed ^{HS}	4382 e	4030	4969	1,26 ns	-0,91 *	0,34 ns	1792144,3 **	44

HSm: híbrido simples modificado, HS: híbrido simples, HD: híbrido duplo e HT: híbrido triplo. * e ** significativamente diferente da unidade, para b₁ e b₁+b₂, e de zero, para b₂ a 5% e a 1% de probabilidade pelo teste t de Student, respectivamente. ** Significativamente diferentes de zero, pelo teste F, para s²_d. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Produtividade média de grãos do ensaio: (5230 kg ha⁻¹).

Pioneer 30 F 70, Pioneer 30 F 44, DAS 8420 e DAS 8480. Avaliando-se o comportamento dos híbridos de melhor adaptação (b₀ > média geral), nota-se que apenas os híbridos simples 2 B 710, Strike e o híbrido triplo A 010 mostraram-se exigentes nas condições desfavoráveis (b₁ > 1). Os híbridos simples 2 B 710 e Strike responderam à melhoria ambiental (b₁ + b₂ > 1). Percebe-se também, que esse grupo de materiais de melhor adaptação, a exceção do híbrido simples Pioneer 30 F 70, Tork e Pioneer 30 F 98, mostrou alta estabilidade dos ambientes considerados (s²_d = 0). Para os ambientes favoráveis destacaram-se os híbridos simples

2 B 710 e Strike, por serem exigente nas condições desfavoráveis e responderem as melhorias ambientais, além de mostrarem alta estabilidade nos ambientes estudados. De especial importância para a região são os híbridos que evidenciaram adaptabilidade ampla (b₀ > média geral e b₁ = 1), tais como os híbridos simples 2 B 619, Pioneer 30 F 70, Pioneer 30 F 44, DAS 8420, DAS 8480, consubstanciando-se em alternativas importantes para a agricultura regional.

No que se refere à rede formada por variedades e híbridos (Tabela 6), ficou evidenciados, nas análises de variância em nível de ambientes, diferenças significativas

Tabela 6. Resumo das análises de variância para a produtividade de grãos (kg ha⁻¹), em nível de ambientes dos ensaios de cultivares de milho. Região Meio-Norte do Brasil, safra 2004/2005.

Ambientes	Quadrados Médios		Produtividade Média	C.V (%)
	Cultivares	Resíduos		
Uruçuí/PI	1298749,9**	359744,4	5169	12
Nova Santa Rosa/PI	1144984,7**	78547,7	5142	5
Bom Princípio /PI	1308015,4**	234190,2	5368	9
Baixa Grande do Ribeiro	3564188,4**	280075,1	5949	9
Teresina/PI	2473123,9**	342211,5	5803	10
Paraibano/MA	1652058,6**	219577,9	5001	9
Santa Rosa Mangabeiras/MA	1062892,2**	112930,0	5390	6
Colinas/MA	886171,6**	363618,4	4753	13
Anapurus/MA	1852291,4**	219618,3	5550	8

**Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

($p < 0,01$) entre as cultivares avaliadas. Os coeficientes de variação obtidos oscilaram entre 5% e 13%, conferindo boa precisão aos ensaios. As produtividades médias de grãos, em nível de ambiente, oscilaram de 4.753 kg ha⁻¹, em Colinas, MA, a 5.949 kg ha⁻¹, em Baixa Grande do Ribeiro, PI, expressando a potencialidade dessas áreas para a produtividade de grãos de milho.

Em razão da significância da interação cultivar x ambiente (Tabela 7), foi também verificada a resposta de cada uma delas nos ambientes estudados. A produtividade média (b_0) oscilou de 4.240 kg ha⁻¹ a 6.652 kg ha⁻¹, destacando-se com melhor adaptação os materiais com produtividade média de grãos acima da média geral ($b_0 > \text{média geral}$), Tabela 8, (Vencovsky & Barriga, 1992). Os híbridos mostraram superioridade, nas suas produtividades médias, de 21% em relação às variedades, concordando com os resultados relatados por Carvalho et al., (2002) e Souza et al. (2004 a e 2004 b). As estimativas dos coeficientes de regressão (b_1) que avalia o desempenho dos materiais nos ambientes desfavoráveis, variaram de -1,06 a 2,49, respectivamente, na variedade CMS 47 e no híbrido simples BRS 1001, sendo ambos estatisticamente diferentes da unidade. Considerando as 19 cultivares que expressaram melhor adaptação ($b_0 > \text{média geral}$), seis

Tabela 7. Resumo da análise de variância conjunta referente a produtividade de grãos, obtido no ensaio de cultivares de milho. Região Meio Norte do Brasil, 2005.

Fonte de variação	Grau de liberdade	Quadrado médio
Bloco(L)	20	339495,1 ns
Cultivares (C)	29	12867638,2**
Local (L)	9	25877333,7**
Interação (C x L)	261	728166,6**
Erro	580	245605,4
Média	-	5396
C.V.(%)	-	8,9

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

apresentaram estimativas de b_1 significativamente diferentes da unidade, e 13 apresentaram estimativas de b_1 não significativas ($b_1 = 1$), o que evidencia comportamento diferenciado dessas em ambientes desfavoráveis. O híbrido simples BRS 1001, os híbridos triplos BRS 3150, BRS 3003, PL 6880, os híbridos duplos BRS 2120, BRS 2020 e a variedade SHS 3031 responderam à melhoria ambiental ($b_1 + b_2 > 1$). A maioria dos genótipos avaliados mostrou alta estabilidade nos ambientes considerados. Nota-se que no grupo das cultivares de melhor

adaptação ($b_0 > \text{média geral}$), o híbrido triplo PL 6880 se aproximou do genótipo ideal preconizado pelo modelo bissegmentado ($b_0 > \text{média geral}$, $b_1 < 1$ e $b_1 + b_2 > 1$). O híbrido simples BRS 1001 destacou-se para os ambientes favoráveis, por mostrar média alta ($b_0 > \text{média geral}$) e estimativas de b_1 e $b_1 + b_2 > 1$ e alta estabilidade nos ambientes considerados ($s^2_d = 0$). O híbrido simples BRS 1001 e o híbrido triplo AS 3466 e as variedades CPATC-3, UFVM 100 e AL Piratininga devem ser também recomendados para os ambientes favoráveis, por serem exigentes nas condições desfavoráveis ($b_1 > 1$) e mostrarem boa adaptação ($b_0 > \text{média geral}$) O híbrido simples BRS 1001, os híbridos triplos BRS 3150, BRS 3003, PL 6880 e os híbridos duplos BRS 2110, BRS 2020 e a variedade SHS 3031 também devem ser recomendadas para as condições favoráveis por serem responsivas à melhoria ambiental ($b_1 + b_2 > 1$). Os materiais que expressaram adaptabilidade ampla ($b_0 > \text{média geral}$ e $b_1 = 1$) têm importância expressiva para a agricultura regional.

Conclusões

1. Os híbridos apresentam melhor adaptação que as variedades, destacando-se nos ambientes favoráveis os híbridos simples 2 B 710, Strike e BRS 1001.

2. Os híbridos simples (2 B 619, Pioneer 30 F 70, Pioneer 30 F 44) de melhor adaptação ($b_0 > \text{média geral}$) e as variedades (AL Piratininga, Al Manduri, CPATC 4) com estimativas de b_1 semelhantes à unidade consubstanciaram-se em alternativas importantes para a agricultura regional.

Literatura Citada

- CARDOSO, M. J. et al. 2003. Desempenho de cultivares de milho na Região Meio-Norte do Brasil. *Agrotrópica (Brasil)* 15(1): 53-60.
- CARDOSO, M. J.; CARVALHO, H. W. L. de; OLIVEIRA, A. C.; SOUZA, E. M. de. 2004. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho em diferentes ambientes do Meio-Norte brasileiro. *Revista Ciência Agronômica (Brasil)* 35(1): 68-75.

Tabela 8. Produtividade média de grãos (kg ha⁻¹) e estimativas dos parâmetros de adaptabilidade e estabilidade de 36 cultivares de milho em dez ambientes do Meio-Norte brasileiro, safra 2004/2005.

Cultivares	Produtividade médias de grãos (kg ha ⁻¹)			b ₁	b ₂	b ₁ + b ₂	s ² _d	R ² (%)
	Geral	Desfavorável	Favorável					
BRS 1010 ^{HS}	6652 a	6369	6877	0,97 ns	0,37 ns	1,35 ns	292450,5 ns	69
BRS 1001 ^{HS}	6331 b	5523	6976	2,49**	0,56 ns	3,05**	318767,3 ns	92
BRS 1030 ^{HS}	6319 b	6233	6388	0,45 ns	0,01 ns	0,46 ns	826360,0**	12
BRS 3150 ^{HT}	6191 c	5723	6565	1,55 ns	0,98 ns	2,53**	769345,6**	71
BRS 3003 ^{HT}	6144 c	5706	6494	1,44 ns	0,74 ns	2,19*	430103,8 ns	78
AS 3466 ^{HT}	6067 c	5465	6548	1,60*	0,45 ns	2,05 ns	557703,3*	75
BRS 2110 ^{HD}	5995 c	5526	6370	1,25 ns	2,61**	3,86**	732639,7**	78
BRS 2020 ^{HD}	5874 c	5507	6168	1,20 ns	1,14 ns	2,34*	55185,3 ns	96
BRS 2114 ^H	5874 c	5390	6262	1,44 ns	0,22 ns	1,66 ns	536503,1 *	70
BRS 2223 ^{HD}	5771 d	5427	6046	0,88 ns	-0,39 ns	0,49 ns	642757,3*	37
PL 6880 ^{HT}	5769 d	5859	5696	-0,34 **	2,82 **	2,47 **	798082,5 **	51
SHS 3031 ^V	5627 d	5086	6060	1,51 ns	1,86 **	3,37 **	430522,6 ns	85
CPATC 3 ^V	5591 d	4927	6122	1,65 *	-1,82 **	-0,16 *	12501453 **	49
AL Piratininga ^V	5533 d	5210	5791	1,03 ns	0,34 ns	1,38 ns	620913,4 *	54
UFVM 100 ^V	5489 e	4987	5891	1,60*	-0,82 ns	0,78 ns	214319,5 ns	85
AL Manduri ^V	5447 e	5052	5763	1,20 ns	-0,12 ns	1,08 ns	47900,0 ns	94
CPATC 4 ^V	5446 e	5187	5652	0,82 ns	-0,38 ns	0,44 ns	245713,0 ns	57
AL Bandeirante ^V	5406 e	5040	5699	1,2 ns	-0,88 ns	0,31 ns	362139,1 ns	64
AL Ipiranga ^V	5394 e	4870	5811	1,62 *	-0,75 ns	0,87 ns	170411,3 ns	88
Sertanejo ^V	5336 e	5023	5585	0,87 ns	1,04 ns	1,92 ns	245325,3 ns	77
AL Branco ^V	5286 e	4978	5532	1,05 ns	-0,71 ns	0,34 ns	168094 ns	75
Asa Branca ^V	5272 e	4881	5584	1,16 ns	-1,49 *	-0,33 ns	86633,5 ns	87
São Vicente ^V	5072 f	4827	5268	0,70 ns	0,22 ns	0,92 *	156926,0 ns	68
Cruzeta ^V	5023 f	4473	5463	1,53 ns	-1,55 *	-0,02 ns	203208,4 ns	83
AL 34 ^V	5016 f	4800	5188	0,71 ns	0,20 ns	0,92 ns	186118,3 ns	64
São Francisco ^V	4994 f	4715	5217	0,86 ns	0,33 ns	1,19 ns	73421,2 ns	87
Bozm Amarello ^V	4911 f	4670	5104	0,87 ns	-0,90 ns	-0,03 ns	195184,9 ns	63
Sintético 5 x ^V	4782 g	4464	5036	0,90 ns	-1,59 *	-0,68 ns	354971,9 ns	54
Sintético 105 ^V	4736 g	4461	4956	0,61 ns	-0,84 ns	-0,23 **	383504,8 ns	31
BRS 4150 ^V	4641 h	4319	4899	1,01 ns	-0,78 ns	0,22 *	138069,6 ns	77
BR 106 ^V	4595 h	4335	4803	0,76 ns	-0,56 ns	0,19 ns	96100,2 ns	73
Cativerde ^V	4545 h	4264	4770	0,88 ns	0,30 ns	1,19 ns	65919,2 ns	89
Potiguar ^V	4425 i	4323	4505	0,50 ns	-0,74 ns	-0,24 ns	179494,5 ns	40
Caatingueiro ^V	4359 i	4201	4485	0,54 ns	0,28 ns	0,82 ns	347840,1 ns	38
CMS 47 ^V	4359 i	4719	4070	-1,06 **	1,12 ns	0,06 ns	1167872,8**	30
Sint. Elite Flint ^V	4240 i	4050	4391	0,40 *	-1,26 ns	-0,85 **	214015,9 ns	44

HS: híbrido simples, HD: híbrido duplo, HT: híbrido triplo e V: variedade. *e** significativamente diferente da unidade, para b₁ e b₁+b₂, e de zero, para b₂. Significativamente diferentes de zero, pelo teste F, para s²_d. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. Produtividades médias de grãos: do ensaio (5348 kg ha⁻¹), híbridos (6090 kg ha⁻¹) e variedades (5021 kg ha⁻¹).

- CARDOSO, M. J.; et al. 2003. Desempenho de híbridos de milho na Região Meio-Norte do Brasil. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo* 2(1): 43-52.
- CARVALHO, H.W.L. de; et al. 2002. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no nordeste brasileiro no triênio 1998 a 2000. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37(11): 1581-1588.
- CRUZ, C. D.; TORRES, R. A. de; VENCOVSKY, R. 1989. An alternative approach to the stability analysis by Silva and Barreto. *Revista Brasileira de Genética* 12: 567-580.
- RAMALHO, M A. P.; SANTOS, J. B. dos; ZIMMERMANN, M. J. de O. 1993. Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicação no melhoramento do feijoeiro. Goiânia, Editora UFG. pp.131-169. (Publicação, 120).
- ROCHA, M. de M. 2002. Seleção de linhagens experimentais de soja para adaptabilidade e estabilidade fenotípica. Tese de Doutorado. Piracicaba, ESALQ/USP.120p.
- SCAPIM, C. A.; CARVALHO, C. G. P. de.; CRUZ, C. D. 1995. Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 30(5): 683-686.
- SOUZA, E. M. de.; CARVALHO, H. W. L. de.; LEAL, M. de L. da S.; SANTOS, D. M. dos. 2004a. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho nos Estados de Sergipe e Alagoas. *Revista Ciência Agronômica (Brasil)* 35(1): 76-81.
- SOUZA, E. M. de. CARVALHO, H. W. L. de; LEAL, M. de L. da S. 2004. Adaptabilidade e estabilidade de variedades e híbridos de milho no Estado de Sergipe no ano agrícola de 2002. *Revista Ciência Agronômica (Brasil)* 35(1): 52-60.
- SAS INSTITUTE (Cary, Estados Unidos). SAS/STAT user's Guide: version 6. 4. Ed. Cary, 1996. V.1.
- VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. 1992. Genética biométrica no fitomelhoramento. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética. 496p. ●

CARACTERÍSTICAS PATOLÓGICAS E CULTURAIS DE ALGUNS FUNGOS FITOPATOGÊNICOS DA BANANEIRA

*Márcia M. C. Assunção**, *Maria A. de Q. Cavalcanti*, *Maria Menezes*

Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Micologia, Av. Prf. Nelson Chaves, s/n,
CEP: 50670-420, Recife, PE, Brasil. E-mail: mmcosta@hotmail.com.br

* Parte da Tese de Mestrado do primeiro autor. Universidade Federal de Pernambuco.

Objetivando o diagnóstico das doenças foliares da bananeira (*Musa* spp.) ocorrentes no município de Belo Jardim, Estado de Pernambuco, Brasil, foi realizada a presente pesquisa, envolvendo o isolamento e a identificação de fungos fitopatógenos de três cultivares de banana: Prata, Pacovan e Nanicão. Folhas novas, intermediárias e velhas, apresentando sintomas de manchas e lesões, foram coletadas, sendo utilizados dois métodos para isolamento dos fungos: direto e câmara úmida. O método direto foi o mais eficiente para o isolamento de todos os fungos fitopatógenos. Os fungos identificados e as respectivas doenças produzidas foram: sigatoka-amarela (*Pseudocercospora musae*), mal-do-Panamá (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*), antracnose (*Glomerella musarum*; *Colletotrichum musae*), mancha de Deightoniella (*Deightoniella torulosa*) e mancha de Cladosporium (*Cladosporium musae*). O isolamento de *P. musae* ocorreu pelo método direto e em meio de cultura com extrato de folha de bananeira. Os demais isolados foram obtidos pelos dois métodos e em batata-dextrose-ágar. Maiores índices de fungos fitopatógenos foram registrados nas folhas intermediárias e na cultivar Prata. Para determinação da patogenicidade, os isolados foram inoculados em folhas de bananeira micropropagadas, pelo método de discos de micélio (5mm de diâmetro) com escarificação. A reprodução dos sintomas foi observada em todas as cultivares inoculadas, sendo todos, fungos patogênicos.

Palavras-chave: doenças foliares, taxonomia.

Pathological and cultural characteristics of some phytopathogenic fungi of banana trees.

Aiming at the diagnosis of foliar diseases of banana trees (*Musa* spp.) occurring in the Municipality of Belo Jardim, State of Pernambuco, Brazil, the present research was done, involving the isolation and identification of phytopathogenic fungi of three banana varieties: Prata, Pacovan and Nanicão. Immature, mature and old leaves presenting symptoms of blight and leaf spots were collected and submitted to two isolation methods: direct method and moist chamber. The direct method was the most efficient allowing the isolation of all the present phytopathogenic fungi. The identified fungi and the respective diseases that they cause were: sigatoka disease (*Pseudocercospora musae*), Panama disease (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*), antracnose (*Glomerella musarum*; *Colletotrichum musae*), Deightoniella blight (*Deightoniella torulosa*) and Cladosporium leaf spots (*Cladosporium musae*). The isolation of *P. musae* was made through the direct method using the culture medium extract of banana tree leaf and the other fungi were isolated also in potato-dextrose-agar. The intermediate leaves and the Prata variety presented the highest index of phytopathogenic fungi. Pathogenicity was determined through the inoculation on micropropagated banana leaves by placing disks of the fungal cultures (5mm of diameter) on the leaf surface. The reproduction of the symptoms was observed in all varieties inoculated with the isolated fungi.

Key words: foliar disease, taxonomy.

Introdução

Fruta mais consumida no Brasil, a banana (*Musa* spp.), além de contribuir para a dieta alimentar de grande parte da população, desempenha importante papel sócio-econômico tanto como geradora de renda quanto na fixação do homem no campo (Moreira et al., 2003), respondendo pela produção de alimentos básicos para as populações de diversos países e de todas as classes sociais (Ferreira et al., 2003).

O Nordeste brasileiro possui, em quase toda a sua extensão, condições climáticas propícias para o desenvolvimento e produção da bananicultura. Apesar dessas condições favoráveis, a produtividade obtida tem sido aquém do seu potencial, devido à não-utilização das tecnologias disponíveis e adequadas para a sua exploração. Para que se eleve esta produtividade, é necessário estabelecer uma política de incentivo ao cultivo, como a adoção de tecnologias, especialmente no que se refere à irrigação, tendo em vista as condições de precipitações pluviométricas instáveis nas áreas de maior produção (Lacerda Filho et al., 2004).

Cultivada em todas as regiões quentes do mundo, produz durante quase todo o ano, consumida no mundo inteiro e movimentada a economia de diversos países produtores. É apreciada, por suas características organolépticas. Os países da América Latina são os maiores exportadores de banana, com o domínio de 80% do mercado (FAO, 2003). A produção de banana é proveniente de áreas relativamente pequenas, onde não existe estatísticas e, em países em desenvolvimento, a maioria da produção de banana se destina ao consumo próprio ou se comercializa no próprio local de produção. A maior parte dos bananicultores é constituída de pequenos produtores, que utilizam a banana como componentes significativos do seu orçamento (Varejão et al., 2005).

Natural da zona tropical úmida a bananeira é cultivada entre 30° N e 30° S, normalmente em altitudes não superiores a 1.500m. Exige temperaturas médias elevadas, alta umidade relativa do ar e, solo úmido bem drenado e não salino. A bananeira vegeta bem na faixa de temperaturas médias mensais compreendidas entre 18° C e 35° C (Varejão, et al., 2005).

A produção mundial de frutas foi de 690.756.513 de toneladas, sendo a banana a fruta mais produzida, com um total de 105,699.014 milhões de toneladas (FAO, 2007). Sendo o Brasil, maior produtor e consumidor mundial de banana. Com uma produção nacional prevista para 2007 de 7.047.325 mil toneladas nos 528.336 hectares cultivados, e uma área colhida em torno de 506.097 hectares (IBGE, 2007). Apesar de ser o maior produtor mundial, a produtividade de banana no Brasil ainda é baixa, devido ao baixo nível tecnológico adotado e à utilização de variedades pouco produtivas, além de suscetíveis a diversas pragas e doenças. (Rodrigues et al., 2006).

A banana é a mais importante das frutas nos países tropicais. Dentre todas as frutíferas cultivadas no mundo. Em muitos países é a principal fonte de arrecadação e geradora de emprego e renda para a maioria da população; é particularmente importante por ser componente básico da alimentação de grande parte dos habitantes, graças ao seu alto valor nutritivo (FAO, 2007).

A banana produzida no Brasil está distribuída por todo o território nacional, sendo a região nordeste, com uma produção de 2.775.030 milhões de toneladas, colhidas em 176 mil hectares, e com área plantada em torno de 202.693 hectares, dos quais Pernambuco ocupa uma área plantada de 39.822 mil hectares, com uma produção de 368.955 mil toneladas (IBGE, 2007).

A bananicultura vem despertando interesse entre pesquisadores. O conhecimento científico e tecnológico sobre a mesma é relativamente grande, porém, existem muitos problemas fitossanitários que impedem o seu desenvolvimento e aproveitamento, sendo necessário mais pesquisas a seu respeito.

Como todas as culturas que ocupam grandes áreas, os problemas aparecem e muitas vezes tornam-se economicamente danosas. As doenças que atacam a bananeira são mais importantes mundialmente, sendo objetivo principal de programas biotecnológicos para melhorar a cultura.

Considerando a importância da bananicultura e da falta de pesquisas disponíveis na região, este trabalho teve como objetivo investigar as doenças fúngicas que ocorrem na bananeira, nas microrregiões produtoras de banana do município de Belo Jardim, Pernambuco, visando fornecer subsídios básicos para futuros programas de controle às principais doenças desta cultura.

Material e Métodos

Área de estudo - As microrregiões do Araçá e da Mata Cumprida localizam-se no município de Belo Jardim, a 10 Km da sede na zona fisiográfica do agreste de Pernambuco (Mesorregião), Microrregião Vale do Ipojuca (Fiam, 1997). Na microrregião do Araçá é cultivado as cultivares Nanicão (08°16'51" latitude Sul e 36°25'14" longitude Oeste) com altitude de 715 m e Prata (08°16'52" latitude Sul e 36°25'13" longitude Oeste) com altitude de 720 m; na microrregião da Mata Cumprida a cultivar Pacovan (8°16'02" latitude Sul e 36°25'17" longitude Oeste) com altitude de 897 m, sendo estas mais cultivadas (GPS, 2005).

Coleta e isolamento - Foram realizadas três coletas, duas na microrregião do Araçá e uma na de Mata Cumprida, ambas de microprodutores de banana. As cultivares selecionadas foi: Pacovan, Nanicão e Prata, por serem as mais utilizadas na microrregião e no Brasil.

A primeira coleta realizada na época de estiagem (fevereiro) com a cultivar Nanicão e as duas últimas no período chuvoso (março - maio) com as cultivares Pacovan e Prata.

Em cada localidade foram coletados, ao acaso, três exemplares de folhas de bananeira adulta em fase de produção, totalizando nove amostras. Sendo três folhas de cada bananeira, uma nova, uma intermediária e uma velha. As folhas apresentavam sintomas de manchas e lesões em vários estádios de desenvolvimento, excluída a coleta de folhas secas ou caídas no chão.

O material coletado foi acondicionado, separadamente, em sacos de papel devidamente fechados e etiquetados, sendo levado dentro de 24 h ao laboratório, para isolamento dos possíveis patógenos.

Após o registro do material, uma parte foi herborizada e outra parte examinada à lupa, para exame direto e isolamento dos patógenos e posterior incorporação dos espécimes à Coleção de Cultura do Departamento de Micologia da UFPE (Micoteca URM).

Pedaços de folhas exibindo manchas necróticas foram examinados diretamente ao microscópio de luz, para observação dos sintomas e de estruturas fúngicas. Com auxílio de um estilete, estruturas dos fungos foram transferidas, diretamente em vários pontos em placas de Petri contendo o meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) (Riker & Riker, 1936) e extrato de folha de banana (EFBA). As placas foram incubadas em laboratório (28 °C ± 2 °C).

Após cada coleta, três folhas (nova, intermediária e velha), de três plantas do mesmo cultivar, foram utilizadas para o isolamento dos fungos. Cada folha foi rigorosamente limpa e lavada com água corrente e sabão. Com auxílio de um furador de rolha metálico esterilizado, com 6 mm de diâmetro, foram feitos 100 discos por folha, perfazendo um total de 300 discos por planta, obtendo-se assim 900 discos para cada cultivar. No total 2.700 discos, considerando as três coletas. Os discos foliares foram retirados da região de transição das lesões, e desinfestados usando o seguinte procedimento: 30 s em álcool a 70%, para quebrar a tensão superficial; 1 a 2 minutos em solução aquosa de Hipoclorito de sódio (1:3) e duas lavagens consecutivas em água destilada esterilizada (Pereira et al., 1993).

Após a desinfestação, com o auxílio de uma pinça flambada e em câmara asséptica, fez-se a transferência dos discos foliares para placas de Petri, contendo papel de filtro ajustado à superfície de esponja de nylon com 5 mm de espessura (câmara úmida) previamente esterilizados e umedecidos com água destilada esterilizada. Cada placa recebeu 10 discos distribuídos em círculos. As placas foram incubadas em temperatura ambiente (28 °C ± 2 °C), sendo examinadas diariamente, durante quinze dias.

Quando o micélio começou a emergir fez-se a transferência para placas de Petri contendo o meio de cultura BDA, incubadas em temperatura ambiente (28 °C ± 2 °C), observadas durante 15 dias. Após o período de incubação, inoculo das colônias foram transferidas, para tubos de ensaio contendo meio BDA para posterior identificação.

Identificação - As identificações ao nível de gênero e espécie foram realizadas com amostras de fungos purificados, transferidos para meios de cultura específicos (BDA e EFBA). Quando necessário, utilizou-se a técnica de cultivo em lâmina para facilitar as observações (Riddell, 1950). Foram observadas características macroscópicas (coloração, diâmetro e textura das colônias) e microscópicas (microestruturas) dos fungos, em microscópio de luz, com base em referências bibliográficas especializadas (Barnett e Hunter, 1972; Ellis, 1976).

Primeiramente procedeu-se a multiplicação do inoculo em condições de laboratório. As placas contendo as estruturas dos patógenos isolados foram incubadas durante sete dias, a 28 °C. Estruturas de *Pseudocercospora musae* foram transferidos para o centro do meio de cultura EFBA.

Teste de patogenicidade - Para o teste de patogenicidade foram utilizadas mudas de 'Prata-Anã', 'Pacovan' e 'Grande Naine', produzidas pela técnica de micropropagação *in vitro*. Sendo a opção mais confiável para a obtenção de mudas sadias, isentas de doenças.

As mudas das cultivares Grande Naine e Prata-Anã estavam com 90 dias e as da cultivar Pacovan com 120 dias. Não sendo possível obter mudas da cultivar Nanicão, utilizou-se mudas da cultivar Grande Naine, pertencente ao mesmo subgrupo da cultivar Nanicão.

O experimento foi instalado na casa de vegetação do Departamento de Micologia da UFPE, com temperatura mínima de 20,6 °C e máxima de 36,8 °C e umidade relativa do ar mínima de 29 % e máxima de 91%.

Utilizadas 60 mudas de bananeira, 20 para cada cultivar (Prata-Anã, Pacovan e Grande Naine). Antes das inoculações, as folhas foram lavadas com água e sabão e, em seguida, desinfestadas com Hipoclorito de sódio e água (1:3) e lavadas com água destilada esterilizada. As plantas foram inoculadas utilizando-se três discos do inoculo (diâmetro de 5 mm), que foram retirados das margens das colônias dos fitopatógenos isolados e distribuídos sobre as folhas na superfície abaxial, com escarificações feitas com estilete, em 3 pontos equidistantes, sendo os discos fixados com fita adesiva. As testemunhas sofreram o mesmo processo, onde o inoculo foi substituído por discos de meio BDA.

As folhas inoculadas e as testemunhas foram cobertas com sacos plásticos, umedecidos com água destilada esterilizada e mantidas em câmara úmida durante 48 h, em condições de casa de vegetação.

O delineamento experimental foi realizado em 05 blocos, tendo cada bloco 12 plantas, sendo três plantas de 'Prata-Anã', três plantas de 'Pacovan' e três plantas de 'Grande-Naine', ficando uma planta de cada cultivar como testemunha. Em cada bloco foi inoculado um dos patógenos isolados.

Após 48 h, retirados os sacos plásticos, fazendo-se a avaliação da patogenicidade até 30 dias e, levando-se em consideração a presença ou ausência de sintomas necróticos nos pontos inoculados.

Realizado o reisolamento dos fitopatógenos em meio BDA e EFBA em placas de Petri, e após o crescimento da cultura, estruturas dos fitopatógenos foram transferidas para tubos de ensaio, fazendo-se a comparação com os isolados originalmente inoculados. Confirmou-se a identidade dos patógenos por meio de exame microscópico.

Resultados e Discussão

Fungos isolados por exame direto - Entre os fungos isolados pelo método direto foram identificadas cinco espécies. As folhas intermediárias, em geral, foram as mais infectadas, nas cultivares Nanicão e Pacovan, em condições de campo (Tabela 1).

Todos os fitopatógenos, com exceção de *P. musae*, foram isolados em BDA e suas colônias visualizadas após o 4º dia de incubação.

O isolamento de *P. musae* só foi possível no meio de extrato de folha de bananeira (EFBA), a partir de conídios retirados diretamente das lesões foliares. Em meio BDA, *P. musae* não se desenvolveu devido ao crescimento mais rápido de outros fungos. Nagel (1934) já relatava que *P. musae* não era fácil de ser isolado em meio de cultura artificial, porque apresenta crescimento muito lento e baixa esporulação.

Para Teixeira (2001), a resistência à Sigatoka-amarela é influenciada pelo genótipo e pelo ambiente. Cultivares resistentes em uma determinada região, dependendo do clima e manejo, torna-se mais suscetíveis em outro local.

Siviero e Ledo (2002) avaliaram o comportamento de

onze genótipos de banana, em relação à Sigatoca-amarela no Estado do Acre, onde as cultivares 'Prata-anã', 'Pacovan', mostraram-se suscetíveis ao patógeno, apresentando altos índices de doença nas épocas chuvosas e de estiagem. Considerando que no Estado do Acre prevalecem elevadas temperatura e umidade relativa do ar durante o ano todo, favorecendo a incidência da doença, o potencial de inoculo no local do experimento durante a implantação do experimento foi elevado.

Fungos obtidos pelo uso de câmara úmida - Do total de 114 colônias obtidas a partir dos discos colocados em câmara úmida foram identificadas 05 espécies de fungos fitopatógenos: *Cladosporium musae*, *Fusarium oxysporum* fsp. *cubense*, *Colletotrichum musae*, *Deightoniella torulosa* e *Glomerella musarum* (Tabela 2).

Dentre os fungos isolados, *F. oxysporum* fsp. *cubense*, e *Colletotrichum musae* apresentaram maior número de colônias (31). As folhas intermediárias tiveram maior ocorrência de *F. oxysporum* fsp. *cubense*, enquanto *Colletotrichum musae* teve maior incidência nas folhas velhas. As folhas novas, ainda enroladas, são muito sensíveis às infecções, mas os sintomas são mais fortes nas folhas intermediárias. Em relação aos demais, ficaram em ordem decrescente *Cladosporium musae* (20 colônias), *Glomerella musarum* (19 colônias) e *D. torulosa* (13 colônias) (Tabela 2).

Glomerella musarum, teleomorfo de *Colletotrichum musae*, não foi isolado da cultivar Nanicão, porém na cultivar Pacovan foram obtidas duas colônias das folhas novas, e na cultivar Prata, 17 colônias, provenientes das folhas novas, intermediárias e velhas (Tabela 2).

A antracnose causada por espécies de *Colletotrichum* é a principal doença de frutos em pós-colheita, sendo considerada doença de elevada importância econômica no Nordeste do Brasil (Serra & Silva, 2004).

Tozze Júnior. et al. (2006) descrevem que o gênero *Colletotrichum* é reconhecidamente um dos mais importantes grupos de agentes causais de doenças em plantas no mundo todo. Entretanto, a delimitação de espécies e a precisa caracterização da variabilidade em

isolados deste gênero é, muitas vezes, difícil (Menezes, 2002). Isto decorre da enorme plasticidade fenotípica exibida por esse gênero, levando, freqüentemente, a resultados conflitantes e difíceis de interpretar (Tozze Júnior, 2006).

Mafacioli et al., (2006) estudaram a antracnose

Tabela 1 - Fungos isolados e identificados em folhas de três cultivares de bananeira, através do método direto.

Fungos	NANICÃO			PACOVAN			PRATA		
	N	I	V	N	I	V	N	I	V
<i>Pseudocercospora musae</i>	+	+	0	+	+	0	+	+	0
<i>Cladosporium musae</i>	+	+	+	0	+	0	0	+	+
<i>Fusarium oxysporum</i> fsp. <i>cubense</i>	+	+	0	0	+	0	+	0	+
<i>Colletotrichum musae</i>	0	+	0	+	+	0	+	0	0
<i>Deightoniella torulosa</i>	0	+	0	0	+	+	+	+	+

N = Folha nova;

I = Folha intermediária;

V = Folha velha.

Tabela 2 - Colônias de fungos desenvolvidos nos discos foliares com lesões em três cultivares de bananeira.

Fungos patógenos		NANICÃO			PACOVAN			PRATA			Total de colônias
		A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3	
<i>Pseudocercospora musae</i>	N	1	0	1	4	0	0	1	1	0	8
	I	0	1	0	3	4	2	6	1	1	18
	V	0	3	0	1	0	0	0	0	1	5
<i>Cladosporium musae</i>	N	0	1	2	0	0	1	1	0	0	5
	I	0	0	0	2	0	0	0	1	4	7
	V	0	6	1	0	0	0	0	0	1	8
<i>Fusarium oxysporum</i> fsp. <i>cubense</i>	N	0	1	1	0	0	0	2	5	1	10
	I	0	0	0	0	0	0	2	5	2	9
	V	0	3	0	0	0	0	1	3	5	12
<i>Colletotrichum musae</i>	N	0	0	0	0	2	0	0	3	2	7
	I	0	0	0	0	0	0	3	2	3	8
	V	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4
<i>Deightoniella torulosa</i>	N	0	0	0	0	0	1	1	1	1	4
	I	0	1	0	0	0	1	3	1	1	7
	V	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2
Total isolados		1	16	5	10	6	6	20	23	27	114

N = Folha nova; I = Folha intermediária; V = Folha velha.
 A1, A2, A3 = cultivar Nanicão; B1, B2, B3 = cultivar Pacovan; C1, C2, C3 = cultivar Prata.

da pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth), afetando principalmente folhas de plantas jovens, cujas lesões servem como porta de entrada para patógenos secundários e, com isso, agrava o quadro sintomatológico da doença.

Diante da diversidade de fungos, patogênicos ou não, associados aos frutos de banana em pós-colheita, provenientes do norte de Minas gerais, Moraes et al. (2006) avaliaram a incidência de fungos de banana “Prata anã” (*Musa* AAB), dentre os isolados *Colletotrichum musae* e *Cladosporium musae* foram os fungos associados aos frutos da banana. Sendo a espécie *Cladosporium musae* uma das mais freqüentes, tanto em frutos verdes como em maduros.

A cultivar que apresentou a maior quantidade de fungos fitopatógenos, foi a Prata, com 61,3% isolados, ficando as cultivares Nanicão com 19,4% e Pacovan com 19,3% isolados (Tabela 3).

Em relação à idade das folhas, as intermediárias das cultivares Pacovan e Prata, foram mais favoráveis à presença de fungos fitopatógenos, enquanto a cultivar Nanicão mostrou maior incidência nas folhas velhas (Tabela 4).

Tabela 3 - Freqüência relativa (%) de fungos fitopatógenos em três cultivares de bananeira.

Fungos fitopatógenos	Nanicão	Pacovan	Prata	Total
<i>Fusarium oxysporum</i> fsp. <i>cubense</i>	5,3	12,3	9,6	27,2
<i>Colletotrichum musae</i>	4,4	0	22,8	27,2
<i>Cladosporium musae</i>	8,8	2,6	6,1	17,5
<i>Glomerella musarum</i>	0	1,8	14,9	16,7
<i>Deightoniella torulosa</i>	0,9	2,6	7,9	11,4
Percentual de isolados	19,4	19,3	61,3	100

Tabela 4 - Freqüência relativa (%) de fungos fitopatógenos em folhas de três cultivares de bananeira.

Folha	Nanicão	Pacovan	Prata	Total
Nova	6,1	7,0	16,7	29,8
Intermediária	1,8	10,5	30,7	43,0
Velha	11,4	1,8	14,0	27,2
Percentual de isolados	19,3	19,3	61,4	100

Muitos fitopatógenos, estando na superfície das folhas, penetram diretamente no hospedeiro, ou através dos estômatos e crescem dentro da planta. A incidência de fungos em folhas velhas ocorre, provavelmente, devido ao acúmulo por muito tempo de fitopatógenos no ambiente, além do que, as folhas mais velhas apresentam baixa atividade fotossintética, não correspondendo às exigências nutricionais da bananeira, além de serem utilizadas como refúgio ou fontes potenciais de inóculos.

Para Borges & Oliveira (2002), a deficiência de Mn, em folhas intermediárias, pode favorecer o ataque de diversos fitopatógenos. O estado nutricional da planta pode favorecer ou inibir o processo de doença.

Cladosporium musae, fungo considerado um parasito fraco que causa doenças em folhas velhas de bananeiras, cultivadas em locais de elevada umidade. Essa doença se mostra de menor importância, apesar das folhas afetadas secarem e caírem precocemente, comprometendo a produção. Entretanto, considerando o relato de se terem promovido sérias desfolhas na Tailândia e no Panamá, esse patógeno apresenta potencial para afetar as plantações no norte do Estado de Minas Gerais (Moraes et al., 2006).

Segundo Zilton, (2004) *Deightonella torulosa* é um fungo que habita folhas e flores mortas em bananeira.

Patogenicidade e reisolamento - Todos os isolados inoculados revelaram-se patogênicos, confirmando que eram agentes causais de doenças nas bananeiras examinadas. Os resultados indicam também a eficiência do método de inoculação por escarificação, na reprodução dos sintomas induzidos pelos fungos fitopatógenos testados.

Segundo Zilton (2004) a Sigatoka-amarela é uma das mais importantes doenças da bananeira, a infecção ocorre nas folhas mais novas da vela até a três, os prejuízos são da ordem de 50% da produção, mas, em microclimas muito favoráveis esses prejuízos podem atingir os 100%, resultando na morte precoce das folhas e do conseqüente enfraquecimento da planta, com reflexos imediatos na produção.

Todas as folhas das cultivares de bananeiras inoculadas artificialmente, apresentaram os sintomas típicos de cada doença, reproduzindo os mesmos sintomas observados em folhas trazidas do campo. A colonização de cada patógeno estendeu-se além do ponto de inoculação. As bananeiras usadas como testemunhas permaneceram sadias durante todo o experimento.

As folhas das cultivares Prata, Pacovan e Nanicão, quando inoculadas por *Fusarium oxysporum* fsp. *cubense*, apresentaram reação de necrose localizada, sendo uma metodologia precoce para avaliação de cultivares resistente a este fungo.

Segundo Zilton (2004) o mal-do-Panamá é uma doença endêmica por todas as regiões produtoras de banana do

mundo. No Brasil, o problema é ainda mais grave em função das variedades cultivadas, que na maioria dos casos são suscetíveis. Plantas infectadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* exibe um amarelecimento progressivo das folhas mais velhas para as mais novas.

O reisolamento dos fitopatógenos a partir dos tecidos infectados experimentalmente, foi realizado 8 dias após a inoculação, confirmando os postulados de Koch. Em relação a *P. musae*, seu reisolamento foi realizado pelo método direto.

Os fungos fitopatógenos reisolados mostraram as mesmas características macroscópicas e microscópicas dos originais.

Moraes et al. (2006) avaliaram a incidência dos fungos em banana “Prata” para determinar as doenças associados aos frutos de banana em pós-colheita, onde foram isolados os seguintes fungos: *Colletotrichum musae*, *Fusarium equisetii* e *Cladosporium musae* foram patogênicos quando inoculados por ferimentos em frutos verdes. Apesar de *Colletotrichum musae* ser considerado o agente primário da podridão de frutos de banana, outros fungos oportunistas aceleram a deterioração dos frutos a partir dessa infecção primária. Os resultados mostraram que a presença dos fungos na superfície dos frutos, cuja patogenicidade foi confirmada ou não, podem promover o rápido desenvolvimento das podridões. *Cladosporium musae* foi o mais freqüentemente associado à superfície dos frutos, porém não se mostrou patogênico em frutos de banana.

Silva et al. (2006) avaliaram a agressividade de *Colletotrichum gloeosporioide*, em diferentes espécies de frutíferas, concluíram que todos os isolados de *C. gloeosporioides* causaram doença em todas as frutas estudadas, demonstrando patogenicidade cruzada.

Conclusões

Os resultados obtidos neste trabalho permitem concluir que:

- *Pseudocercospora musae*, *Fusarium oxysporum* fsp. *cubense*, *Cladosporium musae*, *Glomerella musae* (*Colletotrichum musae*) e *Deightonella torulosa* são patógenos de bananeiras em plantações de Belo Jardim, PE;
- O exame direto é mais eficiente para o isolamento dos fitopatógenos em folhas de bananeira;
- *Pseudocercospora musae* é isolado de modo mais eficiente em meio com extrato de folha de bananeira (EFBA);
- A cultivar Prata apresenta maior incidência de fungos fitopatógenos em relação às cultivares Nanicão e Pacovan;

- O fungo mais comumente isolado nas três cultivares foi *Fusarium oxysporum* fsp. *cubense*;
- As folhas das cultivares Prata, Pacovan e Nanicão, quando inoculadas por *Fusarium oxysporum* fsp. *cubense*, apresentaram reação de necrose localizada.

Agradecimento

À Professora Dra. Marilene da Silva Cavalcanti do Departamento de Micologia da Universidade Federal de Pernambuco, pela contribuição no isolamento de *Pseudocercospora musae*.

Literatura Citada

- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. New York. Macmillan Publishing Company. 241p.
- BORGES, A. L.; OLIVEIRA, A. M. G. 2002. Sintomas visuais de deficiência de nutrientes em bananeira. Cruz das Almas. EMBRAPA. Banana em Foco. Boletim Técnico. n° 38.
- ELLIS, M. B. 1976. More Dematiaceous Hyphomycetes. Kew, Surrey, England, Commonwealth Mycological Institute. 606p.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. The World Banana Economy 1985-2002, Rome, 2003. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/007/y5102e/y5102e00.htm>>. Acesso em: 10 junho 2007.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Faostat. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/>>. Acesso em: 10 junho 2007.
- FERREIRA, D. M. V.; CORDEIRO, Z.J.M.; MATOS, A. P. de. 2003. Sistema de pré-aviso para o controle da Sigatoka-amarela da bananeira no Recôncavo Baiano. Revista Brasileira de Fruticultura 25: 429-431.
- FIAM. 1997. Perfil municipal do interior de Pernambuco, Recife. 991p.
- GPS Garmin MAQ 76C, 2005.
- IBGE. Banco de Dados Agregados – SIDRA. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 06 junho 2007.
- LACERDA FILHO, R. et al. 2004 Root system density of ‘Pacovan’ banana plant under sprinkler irrigation. Revista. Brasileira de Fruticultura 26 (3): 538-539.
- MAFACIOLI, R. et al. 2006. Characterization morpho-physiological and pathogenicity of *Colletotrichum gloeosporioides* from peach palm. Summa Phytopathologica. 32 (2): 113-117.
- MENEZES, M. 2002. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. Fitopatologia Brasileira 27: 523-524. (supl.).
- MORAES, W. da S.; ZAMBOLIM, L.; LIMA, J. D. 2006. Incidence of mushrooms in post harvest of banana (*Musa* spp.) ‘Prata Anã’ (AAB). Summa Phytopathologica. 32 (1) : 67-70.
- MOREIRA, R. F. C.; CORDEIRO, Z. J. M.; VILARINHOS, A. D. 2003. Caracterização genética de isolados de *Mycosphaerella musicola* por Rapd. Summa Phytopathologica 29: 275. (Notas Científicas).
- NAGEL, C. M. 1934. Conidial production in species of *Cercospora* in pure culture. Phytopathology 24 : 1101-1110.
- PEREIRA, J. O.; AZEVEDO, J. L.; PETRINI, O. 1993. Endophytic fungi of *Stylosanthes*: A first report. Mycologia 3: 362-364.
- RIDDELL, R. W. 1950. Permanent stained mycological preparation obtained by slide culture. Mycologia 42: 265-270.
- RIKER, A. J.; RIKER, R. S. 1936. Introduction to Research on Plant Diseases. St. Louis, Mo. John S. Swift Co.
- RODRIGUES, M. G. V.; SOUTO, R. F.; SILVA, S. de O. e. 2006. Evaluation of genotypes of banana tree under irrigation system. Revista. Brasileira de Fruticultura. (Brasil) 28 (3) : 444-448.
- SERRA, I. M. R. de S.; SILVA, G. S. da. 2004. Caracterização Morfofisiológica de Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* Agentes de Antracnose em Frutíferas no Maranhão. Summa Phytopathologica (Brasil) 30 (4): 475-480.
- SILVA, K. S.; et al. 2006. Pathogenicity caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) in different fruitful species. Revista Brasileira de Fruticultura (Brasil) 28 (1): 131-133.
- SIVIERO, A.; LEDO, A. da S. 2002. Evaluation of the bananas genotypes to yellow sigatoka in ocidental amazon. Revista Brasileira de Fruticultura. (Brasil) 24 (3): 724-726.
- TEIXEIRA, L. A. J. 2001. Cultivares de bananeira. In Ruggiero, C. Bananicultura. Jaboticabal, São Paulo. FUNE. pp.150-170.
- TOZZE JUNIOR, H. J., MELLO, M. B. A.; MASSOLA JUNIOR, N. S. 2006. Morphological and

- physiological characterization of *Colletotrichum* sp. isolates from solanaceous crops. *Summa Phytopathologica (Brasil)* 32 (1): 71-79.
- VAREJÃO, S. M. A.; CEZAR, B. A. H.; SILVA, J. J. F. 2005. Zoneamento de risco climático para cultura da bananeira no Nordeste do Brasil. *In: Congresso Brasileiro de Agrometeorologia*, 14. 2005. Campinas. Agrometeorologia, agroclimatologia e agronegócios: Anais. Campinas, UNICAMP. 2p.
- ZILTON, J. C. 2004. Sistema de Produção de banana para o Estado do Pará. EMBRAPA.



IDENTIFICAÇÃO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES POTENCIALMENTE ASSOCIADOS À RESISTÊNCIA À VASSOURA-DE-BRUXA E PODRIDÃO-PARDA NUMA POPULAÇÃO DE CACAUEIRO (*Theobroma cacao* L.) *

Alfredo Dantas Neto¹, Ronan Xavier Corrêa², Wilson Reis Monteiro¹, Fernanda Amato Gaiotto², Uilson Vanderlei Lopes¹

¹Seção de Genética, Centro de Pesquisas do Cacau, Cx. Postal 07, CEP 45600-970, Itabuna, BA. ²Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, CEP 45.650-000, Ilhéus, BA. E-mail: alfredo@cepec.gov.br

* Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor. Universidade Estadual de Santa Cruz

O cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.) é alvo de diversas doenças, sendo a podridão-parda (*Phytophthora* spp.) e a vassoura-de-bruxa (*Moniliophthora perniciosa*) as principais delas, no Brasil. Objetivou-se verificar se há polimorfismos moleculares entre os genitores de uma população segregante de 67 plantas e identificar marcadores moleculares potencialmente associados a genes de resistência à vassoura-de-bruxa e podridão-parda. O DNA genômico foi extraído dos clones SIC-864 e CCN-51 e de 10 plantas F₁ derivadas do cruzamento entre esses clones, sendo cinco resistentes e cinco suscetíveis a cada doença. Os bulks de DNA foram amplificados, via PCR, com 32 primers para locos microssatélites, de um total de 49 primers testados entre os genitores. O padrão de bandas obtido evidenciou que os polimorfismos encontrados entre os bulks podem estar associados a genes de resistência àquelas enfermidades. A população foi ampliada para 237 indivíduos e o DNA genômico de cada um deles extraído para amplificação com os 32 primers utilizados nos bulks. Adicionalmente, as plantas originais da progênie foram clonadas (3 clones/planta original) e plantadas num outro ensaio. Os resultados obtidos criam perspectivas para a construção de um mapa genético de ligação, com base em marcadores microssatélites, visando identificar novos genes de resistência à vassoura-de-bruxa e à podridão-parda.

Palavras-chave: *Moniliophthora perniciosa*, *Phytophthora* sp., marcadores moleculares, bulked segregant analysis, resistência a doenças.

Identification of microsatellite markers potentially linked to witches' broom and *Phytophthora* pod rot resistance genes. The cacao tree (*Theobroma cacao* L.) is attacked by several diseases, being the *Phytophthora* pod rot (*Phytophthora* sp.) and the witches' broom (*Moniliophthora perniciosa*) the most important of them in Brazil. The objective of this work to verify if there is molecular polymorphism between the parents of a segregant population of 67 plants and to identify molecular markers potentially associated to genes of resistance to witches' broom and *Phytophthora* pod rot. Genomic DNA was extracted from the clones SIC-864 and CCN-51 and of 10 F₁ plants derived from the cross between these clones, being five resistant and five susceptible to each disease. The bulks of DNA were amplified, through PCR, with 32 primers for microsatellite loci, totaling 49 primers tested between the parents. The band pattern obtained evidenced that the polymorphisms found between the bulks can be linked to resistance genes to those diseases. The population was enlarged to 237 individuals and genomic DNA of each one of them was extracted for amplification with the 32 primers used in the bulks. Additionally, the original trees of the progeny were cloned (3 cloned plants/original tree) and planted in another trial. The results obtained create perspectives for the construction of a saturated linkage genetic map, based on microsatellite markers, aiming to identify new resistance genes to witches' broom and black pod rot.

Key words: *Moniliophthora perniciosa*, *Theobroma cacao*, molecular markers, bulked segregant analysis; disease resistance.

Introdução

As doenças podridão-parda e vassoura-de-bruxa, causadas pelos fungos *Phytophthora* sp. e *Moniliophthora* (= *Crinipellis*) *perniciosa* (Stahel) Singer, conforme Aime & Phillips-Mora (2005) são as principais doenças da cultura do cacau (*Theobroma cacao* L.), na região cacaueira do sul da Bahia. A podridão-parda causa perdas diretas na produção de frutos, sendo que essas perdas variam em torno de 20 a 30% ao ano (Luz e Silva, 2001), de acordo com o local e a severidade do ataque. Já a vassoura-de-bruxa, desde o seu surgimento naquela região no ano de 1989 (Pereira et al., 1989), causou imensos prejuízos econômico-sócio-ambientais, provocados pela redução de até 100% em algumas propriedades rurais.

Para o controle dessas enfermidades são necessárias diversas medidas. Dentre elas, destaca-se a utilização de variedades de alta resistência e produtividade desenvolvidas em programas de melhoramento genético, a fim de assegurar a sustentabilidade e o retorno econômico da cacauicultura. Marcadores moleculares baseados na PCR (*polimerase chain reaction*) como os microssatélites têm sido uma importante ferramenta para programas de melhoramento genético de diversas culturas agrícolas de importância econômica. Os microssatélites, são pequenas seqüências de nucleotídeos (1 a 6) repetidas em *tandem* (lado a lado), encontradas em genomas de procariotos e eucariotos. Estão presentes nas regiões codificadoras e não codificadoras desses genomas e se caracterizam por um alto grau de polimorfismo (Zane et al., 2002). Dentre as utilizações desses marcadores moleculares em programas de melhoramento genético, destaca-se a construção de mapas genéticos abrangentes, visando o mapeamento de genes de resistência e a identificação de QTLs (*quantitative trait loci*) para produção e outras características agrônômicas de interesse.

Uma das etapas fundamentais para o desenvolvimento de mapas é a obtenção e caracterização fenotípica de populações segregantes, obtidas por cruzamentos entre materiais contrastantes para as características de interesse. Nesse sentido, a Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira – Ceplac, dispõe de diversas populações implantadas em campo. Por exemplo, foram desenvolvidos mapas genéticos baseados em plantas F_2 obtidas do cruzamento entre ICS-1 e Scavina-6, sendo identificados QTLs associados à resistência do Scavina-6 à vassoura-de-bruxa (Queiroz et al., 2003; Faleiro et al., 2006). Além disso, outros mapas genéticos com diferentes *backgrounds* genéticos foram desenvolvidos pela comunidade científica internacional, utilizando-se outras progênies, a exemplo do mapa desenvolvido por Pugh et al. (2004). Esses autores construíram um mapa baseado em marcadores co-

dominantes, obtidos a partir de uma biblioteca genômica enriquecida por (GA)_n e (CA)_n. Foram mapeados 201 novos marcadores microssatélites em uma população de 135 indivíduos anteriormente mapeada por Risterucci et al. (2000), resultantes do cruzamento entre os clones UPA-402 e UF-676.

Nesse sentido, este trabalho foi realizado com os objetivos de verificar se há polimorfismos moleculares entre os genitores da população segregante e identificar marcadores moleculares potencialmente associados a genes de resistência à vassoura-de-bruxa e podridão-parda.

Material e Métodos

Obtenção e caracterização fenotípica da população segregante

A população segregante empregada neste estudo foi uma progênie de 67 plantas F_1 implantada por mudas seminais, em 1996, na área experimental do Centro de Pesquisas do Cacau da Ceplac, em Ilhéus (BA). Esta população foi obtida a partir do cruzamento entre os acessos SIC-864 (Catongo) e CCN-51, sendo que o Catongo foi empregado como genitor feminino e o CCN-51 como genitor masculino. Esses acessos são dois genótipos contrastantes para diversas características, dentre elas a resistência às enfermidades vassoura-de-bruxa e podridão-parda, o que conferiu à progênie um caráter segregante, não só para essas enfermidades mas, também, para outras características agrônômicas de interesse (Dantas Neto et al., 2005). O Catongo é um genótipo altamente suscetível à vassoura-de-bruxa (Gramacho et al., 1992) e apresenta resistência moderada à podridão-parda (Medeiros, 1965); já o CCN-51, quando comparado com outras variedades locais do Equador, tem demonstrado ser resistente à vassoura-de-bruxa e sua suscetibilidade à podridão-parda é menor quando comparada à outra enfermidade comum no Equador, a monilíase (Campo e Andía, 1997); no Brasil, a resistência do CCN-51 à vassoura-de-bruxa foi confirmada por Pires (2003).

Desde 2000, vêm sendo realizadas avaliações dos dados fenotípicos da população e, dentre eles, a resistência à vassoura-de-bruxa e à podridão-parda. Até o presente estão disponíveis os dados coletados no campo de 2000 a 2003, sendo que os dados analisados para essas enfermidades referem-se ao número de frutos sadios (NFS), número de frutos com vassoura-de-bruxa (NFVB), número de frutos com podridão parda (NFPP), número de vassouras vegetativas (NVV) e número de vassouras em almofada floral (NVAF) (Dantas Neto et al., 2005).

Extração e amplificação do DNA

Foi extraído o DNA genômico a partir de folhas em

estágio intermediário de maturação de cada uma das 67 plantas F_1 e dos genitores (CCN-51 e SIC-864), empregando-se o método do CTAB (Doyle & Doyle, 1990), otimizado por Faleiro et al. (2002). Após a extração, o DNA foi quantificado em espectrofotômetro a 260 nm (Sambrook et al., 1989). As amostras de DNA foram submetidas à eletroforese em gel de agarose a 0,8%, para verificar sua integridade e pureza, sendo as amostras de DNA de boa qualidade diluídas para uma concentração de 10 ng/μL.

As reações de PCR foram realizadas em um volume final de 15,5 μL, contendo: Tris-HCl 10 mmol.L⁻¹ (pH 8,3); KCl 50 mmol.L⁻¹; MgCl₂ 2,4 mmol.L⁻¹; 0,15 mmol.L⁻¹ de cada um dos desoxiribonucleotídeos (dATP, dTTP, dGTP e dCTP); 3 pMoles de cada um dos dois *primers* (*forward and reverse*); meia unidade da enzima *Taq* polimerase e 30 ng de DNA. As amplificações foram realizadas em termociclador, conforme o seguinte programa: 4 min a 94 °C + 10 ciclos (30 s a 94 °C + 60 s a 60 °C-1 °C a cada ciclo + 90 s a 72 °C) + 30 ciclos (30 s a 94 °C + 60 s a temperatura específica para cada *primer* + 90 s a 72 °C) + 6 min a 72°C, sendo que após a amplificação, a temperatura das amostras foi reduzida para 4°C. Para as reações de PCR, foram testados 49 *primers* microssatélites, selecionados e caracterizados por Lanaud et al. (1999) para a cultura do cacau.

Seleção dos primers microssatélites polimórficos

A seleção dos *primers* de locos para microssatélites informativos para a progênie foi realizada utilizando-se os produtos das reações de PCR das amostras de DNA dos genitores (CCN-51 e SIC-864). As seqüências dos *primers* microssatélites, foram cedidas pelo *Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement* – CIRAD, ao Laboratório de Biotecnologia da Ceplac/Cepec. Os produtos das reações foram aplicados em gel desnaturante de poli(acrilamida e, após eletroforese, corados com prata de acordo com a metodologia empregada por Creste et al. (2001). Os pares de *primers* selecionados foram agrupados em triplex e marcados com as fluorescências amarela (NED), verde (VIC) e azul (FAM), conforme a especificação do filtro GS 36A 2400, do seqüenciador automático de DNA ABI Prism 377, da seguinte forma: triplex 1 (*primers* mTcCIR 37, 25 e 21); triplex 2 (*primers* mTcCIR 49, 29 e 30); triplex 3 (*primers* mTcCIR 10, 24 e 43); triplex 4 (*primers* mTcCIR 35, 47 e 42); triplex 5 (*primers* mTcCIR 16, 28 e 31); triplex 6 (*primers* mTcCIR 7, 44 e 60); triplex 7 (*primers* mTcCIR 2, 4 e 17); e triplex 8 (*primers* mTcCIR 9, 45 e 33). Cada triplex foi formado com *primers* cujos intervalos variaram de 80 a 100 pb.

Formação dos bulks de DNA

Conforme proposto por Michelmore et al. (1991), de

acordo com os dados fenotípicos disponíveis da progênie, foram identificadas as cinco plantas mais resistentes e as cinco mais susceptíveis à vassoura-de-bruxa e à podridão-parda. Quantidades equimolares de DNA de cada planta selecionada foram misturadas para formar os *bulks* de acordo com as diferentes características: *bulk* resistente à vassoura-de-bruxa (RVB); *bulk* suscetível à vassoura-de-bruxa (SVB); *bulk* resistente à podridão-parda (RPP); e *bulk* suscetível à podridão-parda (SPP). Da mesma forma que os genitores, os *bulks* também foram amplificados via PCR, conforme metodologia descrita anteriormente.

Avaliação do polimorfismo gerado pelos primers nos bulks e genitores

Foram realizadas amplificações via PCR dos *bulks* e dos genitores utilizando-se *primers* para microssatélites que geraram polimorfismos entre os genitores. Após a PCR, adicionou-se 3 μL de uma mistura de azul de bromofenol (0,25%) e glicerol (60%) em água, às amostras dos produtos de PCR dos *bulks* e dos genitores, que foram aplicadas em gel de agarose 3%. O gel foi submerso em tampão TBE 10 X (Tris-Borato 90 mmol.L⁻¹, EDTA 1 mmol.L⁻¹) e a separação eletroforética foi de, aproximadamente, três horas e meia, a 100 volts. Ao término da corrida, o gel foi corado com brometo de etídio e fotografado sob luz ultravioleta.

As amostras dos produtos das reações de PCR dos *bulks* também foram separadas por eletroforese em gel de poli(acrilamida a 6%, sendo que a detecção dos marcadores microssatélites foi feita de acordo com os *primers* marcados com fluorescência. Para detecção dos marcadores, foi utilizado o seqüenciador automático de DNA ABI Prism 377, com o software GeneScan. Com base no marcador *gene scan size standard* ROX 500, calculou-se o tamanho de cada fragmento amplificado em número de pares de bases, utilizando-se o software Genotyper.

Resultados e Discussão

Avaliação fenotípica, ampliação e clonagem da população

A análise das médias das características de resistência à vassoura-de-bruxa e de resistência à podridão-parda, das 67 plantas F_1 no período de 2000 a 2003, permitiu afirmar que existe variabilidade fenotípica na população para essas características (Dantas Neto et al. 2005). Com base nesses dados de variabilidade, as plantas indicadas na Tabela 1 mostraram-se adequadas para a evidênciação de marcadores moleculares típicas de cada padrão fenotípico.

Tabela 1. Médias dos *bulks* das cinco plantas mais resistentes e das cinco plantas mais suscetíveis à vassoura-de-bruxa e podridão-parda, entre os anos 2000 e 2003 (adaptado de Dantas Neto et al, 2005).

	VASSOURA-DE-BRUXA					PODRIDÃO PARDA		
	Nº da Planta	Nº de frutos sadios	Nº de frutos com vassoura-de-bruxa	Nº de vassouras vegetativas	Nº de vassouras de almofada floral	Nº da Planta	Nº de frutos sadios	Nº de frutos com podridão-parda
<i>Bulk</i> plantas resistentes	34	5,50	1,00	0,5	0,8	17	5,00	0,75
	44	4,50	0,25	0,0	0,5	20	3,75	0,50
	53	4,00	0,75	0,5	0,8	44	4,50	1,00
	66	6,50	1,50	1,8	1,3	53	4,00	0,75
	87	5,00	1,75	1,0	0,0	83	8,50	0,25
<i>Bulk</i> plantas suscetíveis	3	7,75	7,00	2,5	2,8	26	5,50	7,50
	26	5,50	6,00	2,3	5,3	30	7,75	3,75
	29	6,25	4,25	3,5	3,0	35	8,00	4,00
	35	8,00	7,50	3,3	1,8	60	7,75	4,75
	65	5,50	4,25	7,5	4,0	87	5,00	3,50

Uma vez que os dados fenotípicos indicaram variação significativa (Dantas Neto et al., 2005), considerando-se os polimorfismos moleculares detectados entre os genitores e entre os *bulks* contrastantes demonstrados neste trabalho, esta população foi considerada adequada para novos estudos. Desta forma, foram obtidas mais 170 plantas ampliando-se, assim, a população original para 237 indivíduos e obtidos três clones de cada uma; esses clones foram implantados na área experimental da Fazenda Almirante Cacau, no ano de 2006, visando avaliações fenotípicas nos próximos cinco anos.

Seleção dos *primers* para microssatélites polimórficos em CCN-51 e SIC-864

O resultado obtido no *screening* dos 49 *primers* para microssatélites em gel de poliacrilamida (Figura 1), permitiu a seleção de 32 *primers* que geraram bandas polimórficas entre os genitores, os quais foram marcados com fluorescência e utilizados na amplificação de amostras de DNA dos *bulks* das plantas resistentes e suscetíveis para ambas as enfermidades.

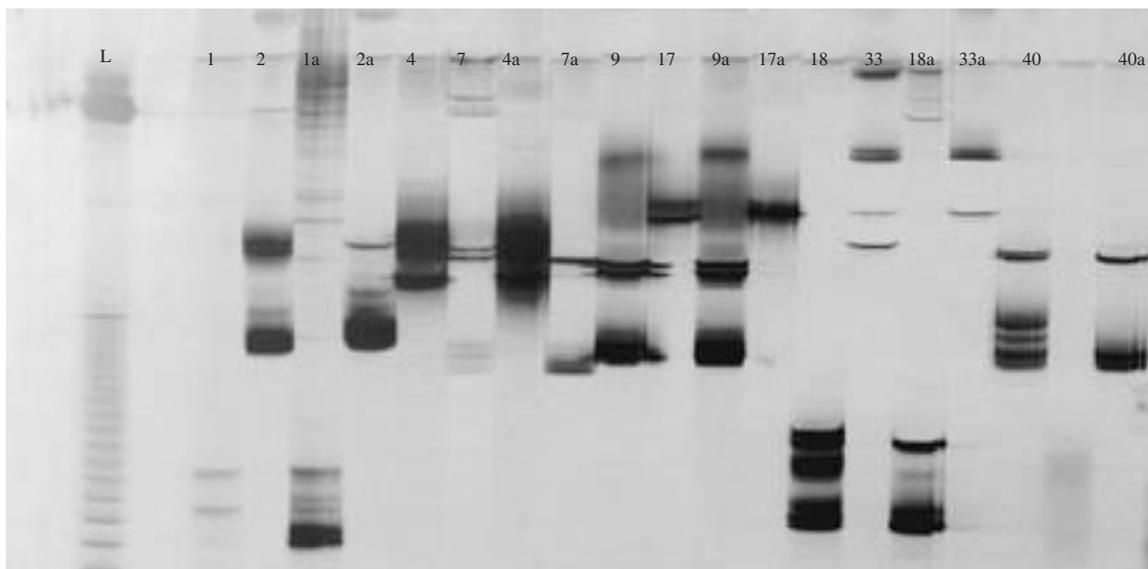


Figura 1. Padrões de bandas polimórficas obtidos em gel de poliacrilamida, corado com prata, das amplificações dos genitores (SIC-864 e CCN-51). As canaletas apenas com numeração correspondem ao SIC-864 e as canaletas com numeração adicionada da letra "a", ao CCN-51. A canaletas com a letra L corresponde ao padrão do tamanho de fragmento de 10 pb (*ladder*). A numeração corresponde aos seguintes *primers*: (1 e 1a) mTcCIR1, (2 e 2a) mTcCIR2, (4 e 4a) mTcCIR4, (7 e 7a) mTcCIR7, (9 e 9a) mTcCIR9, (17 e 17a) mTcCIR17, (18 e 18a) mTcCIR18, (33 e 33a) mTcCIR33 e (40 e 40a) mTcCIR40.

Identificação dos candidatos a marcadores genéticos

Visando comprovar a funcionalidade dos *primers* para microssatélites selecionados como polimórficos, os produtos de PCR dos quatro *bulks* foram separados em gel de agarose a 3%. Em seguida, todos os produtos das reações que apresentaram bandas no gel de agarose foram aplicados em gel de poliacrilamida a 6%, no seqüenciador automático de DNA ABI Prism 377 (Figura 2), cuja eletroforese mostrou os padrões de bandas dos triplex para os *bulks* contrastantes para vassoura-de-bruxa e podridão-parda. Isso permitiu a obtenção dos comprimentos dos alelos amplificados por cada par de *primers* para microssatélites de cada um dos *bulks* (Tabela 2).

Observou-se que os locos mTcCIR 4, 7, 16, 17, 25, 37, 42, 43, 45, 47 e 60 apresentaram, pelo menos, um alelo exclusivo por *bulks* de DNA, no caso dos *bulks* resistentes (RVB) e suscetíveis (SVB) à vassoura-de-bruxa; adicionalmente, o mesmo se observou com relação aos locos

Tabela 2. Comprimento dos alelos amplificados a partir dos *bulks* de DNA por cada par de *primers* para microssatélites.

Triplex	Loco	Alelo	Resistente à vassoura-de-bruxa	Suscetível à vassoura-de-bruxa	Resistente à podridão-parda	Suscetível à podridão-parda
5	mTcCIR 31	1	335	335	290	335
		2	337	337	335	337
6	mTcCIR 7	1	157	157	157	158
		2	161	157	161	158
	mTcCIR 44	1	168	168	168	167
		2	180	180	180	213
mTcCIR 60	1	207	196	210	211	
	2	209	213	211	213	
7	mTcCIR 2	1	256	256	256	256
		2	256	256	256	255
	mTcCIR 4	1	262	255	262	263
		2	271	273	270	271
mTcCIR 17	1	254	271	270	271	
	2	272	273	273	273	
8	mTcCIR 9	1	276	276	276	286
		2	286	286	286	286
	mTcCIR 45	1	285	253	253	253
		2	289	253	289	283
mTcCIR 33	1	289	289	289	272	
	2	289	289	289	285	

¹*Bulks* de DNA das cinco plantas representativas de cada fenótipo

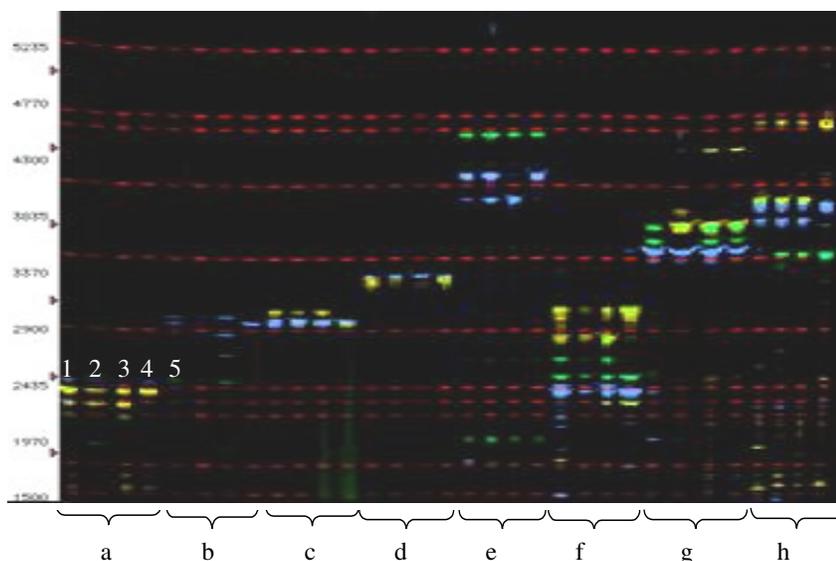


Figura 2. Padrões de bandas de DNA obtidas em gel de poliacrilamida 6%, dos *bulks* amplificados pelos triplex de *primers* microssatélites. (1) *Bulk* resistente à vassoura-de-bruxa; (2) *bulk* suscetível à vassoura-de-bruxa; (3) *bulk* resistente à podridão-parda; (4) *bulk* suscetível à podridão-parda e (5) padrão de peso molecular (GeneScan ROX 500). (a)Triplex 1 (*primers* mTcCIR 37, 25 e 21); (b)triplex 2 (*primers* mTcCIR 49, 29 e 30); (c)triplex 3 (*primers* mTcCIR 10, 24 e 43); (d)triplex 4 (*primers* mTcCIR 35, 47 e 42); (e)triplex 5 (*primers* mTcCIR 16, 28 e 31); (f)triplex 6 (*primers* mTcCIR 7, 44 e 60); (g)triplex 7 (*primers* mTcCIR 2, 4 e 17); e (h)triplex 8 (*primers* mTcCIR 9, 45 e 33).

mTcCIR 9, 21, 25, 31, 33, 42, 43, 44, 45, 47 e 49, no caso dos *bulks* resistentes (RPP) e suscetíveis (SPP) à podridão-parda. Portanto, esses locos são candidatos a marcadores genéticos, associados à resistência à vassoura-de-bruxa e podridão-parda e, por isso, os *primers* que amplificaram esses locos deverão ser utilizados para análise da população segregante, visando genotipar todos os indivíduos, de modo a confirmar e quantificar essa associação. Esses *primers* foram mapeados em oito dos 10 grupos de ligação do cacau por diferentes autores (Lanaud et al., 1996; Motilal et al. 2000; Risterucci et al. 2000; Pugh et al. 2000; Kuhn et al., 2003; Clement et al., 2003; Risterucci et al., 2003; Lanaud et al., 2004; Faleiro et al., 2006), indicando que oito regiões independentes do genoma podem estar explicando variação nessas características na população do presente estudo. Destes, apenas o primer 43 foi

mapeado no grupo de ligação 4 por Motilal et al. (2000), a 13 cM do marcador TACAT5 que explica 8,10% da variação fenotípica da resistência em folha na população oriunda de UPA-402 e UF-676. Adicionalmente, os marcadores de resistência à vassoura-de-bruxa típicos do clone Scavina-6, os primers 24, 30 e 35 (Faleiro et al., 2006), não foram polimórficos entre os *bulks* de plantas resistentes e suscetíveis nesta população. Isso possibilita sugerir que os potenciais marcadores indicados neste trabalho refiram-se a novas fontes de resistência a essa doença.

Esses resultados evidenciam o potencial dessa população para o mapeamento de genes de resistência às enfermidades vassoura-de-bruxa e podridão-parda, com o uso desses *primers*.

Conclusões

Os genitores, bem como os *bulks* de plantas resistentes e suscetíveis da população derivada do cruzamento SIC-846 X CCN-51, possuem polimorfismos moleculares que tornam esta população adequada ao mapeamento genético.

Os polimorfismos identificados nos locos mTcCIR 4, 7, 16, 17, 37 e 60 são potenciais marcadores moleculares associados a genes de resistência à vassoura-de-bruxa, os locos mTcCIR 9, 21, 31, 33, 44, 45 e 49, a genes de resistência podridão-parda, e os locos mTcCIR 25, 42, 43 e 47 a genes relacionados a essas duas doenças.

Agradecimentos

Ao *Common Fund of Commodities (CFC)*, *International Cocoa Organization (ICCO)* e à Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC) – CFC/ICCO/CEPLAC – *Biomol Project*, pelo auxílio financeiro e pela concessão da bolsa de estudos para o curso de Mestrado do primeiro autor.

Literatura Citada

- AIME, M. C.; PHILLIPS-MORA, W. 2005. The causal agents of witches' broom and frosty pod rot of cacao (chocolate, *Theobroma cacao*) form a new lineage of Marasmiaceae. *Mycologia* 97:1012-1022.
- CAMPO, E. C.; ANDÍA, F. C. 1997. Cultivo y Beneficio del Cacao CCN-51. El Conejo (Equador) 136p.
- CLEMENT, D. et. al., 2003. Mapping QTL for yield components, vigor, and resistance to *Phytophthora palmivora* in *Theobroma cacao* L. *Genome* 46:204-212.
- CRESTE, S.; TULLMANN NETO, A.; FIGUEIRA, A. 2001. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. *Plant Molecular Biology Reporter* 19: 299 – 306.
- DANTAS NETO, A. et al. 2005. Caracterização de uma população de cacaueiro para mapeamento de genes de resistência à vassoura-de-bruxa e podridão-parda. *Fitopatologia Brasileira* 30:380-386.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13 - 15.
- FALEIRO, F. G. et al. 2006. Mapping QTLs for witches' broom (*Crinipellis pernicioso*) resistance in cacao (*Theobroma cacao* L.). *Euphytica* 149: 227 - 235.
- FALEIRO, F. G. et al. 2002. Otimização da extração e amplificação de DNA de *Theobroma cacao* L. visando à obtenção de marcadores RAPD. *Agrotrópica (Brasil)* 2: 31 - 34.
- GRAMACHO, I. C. P. et al. 1992. Cultivo e Beneficiamento do Cacao na Bahia. Ilhéus, Ceplac/Cenex. 124p.
- KUHN, D. N. et al. 2003. Resistance gene homologues in *Theobroma cacao* as useful genetic markers. *Theoretical Applied Genetics* 107:191-202.
- LANAUD, C. et al. 1996. Mapping quantitative trait loci (QTL) for resistance to *Phytophthora palmivora* in *Theobroma cacao*. In 12th International Conference on Cocoa Research, Salvador, Bahia, Brasil, 1999. Proceedings. Lagos, Nigeria, Cocoa Producer's Alliance.
- LANAUD, C. et al. 1999. Isolation and characterization of microsatellites in *Theobroma cacao* L. *Molecular Ecology* 8: 2141 - 2152.
- LANAUD, C. et al. 2004. Characterization and genetic mapping of resistance and defense gene analogs in cocoa. *Molecular Breeding* 13: 211-227.
- LUZ, E. D. M. N.; SILVA, S. D. V. M. 2001. Podridão-parda dos frutos, cancro e outras doenças causadas por *Phytophthora* no cacaueiro. In: Luz, E. D. M. N.; Santos, A. F. dos; Matsuoka, K; Bezerra, J. L. Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil. Campinas, Livraria e Editora Rural. pp.175 – 265.
- MEDEIROS, A. G. 1977. Sporulation of *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. in relation to epidemiology and chemical control of black pod disease. Tese Doutorado. Riverside. University of California. 220p.
- MICHELMORE, R. W.; PARAN, I.; KESSELI, R.V. 1991. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Genetics* 88: 9828 – 9832.
- MOTILAL et al. 2000. *Theobroma cacao* L.: Genome Map and QTLs for *Phytophthora palmivora* resistance. In: International Conference on Cocoa Research, Kota Kinabalu, Malaysia, 13. 2000. Proceedings. Kota Kinabalu, Cocoa Producer's Alliance. pp.111-118.
- PEREIRA, J. L. M. et al. 1989. Primeira ocorrência de vassoura-de-bruxa na principal região produtora de cacau do Brasil. *Agrotrópica (Brasil)* 1(1): 79 - 81.
- PIRES, J. L. 2003. Avaliação quantitativa e molecular de germoplasma para o melhoramento do cacaueiro com ênfase na produtividade, qualidade de frutos e resistência a doenças. Tese Doutorado. Viçosa, UFV. 242p.
- PUGH, T. et al. 2004. A new cacao linkage map based on codominant markers: development and integration of 201 new microsatellite markers. *Theoretical Applied Genetics* 108: 1151 – 1161.
- QUEIROZ, V. T. et al. 2003. Identification of a major QTL in cocoa (*Theobroma cacao* L.) associated with resistance to witches' broom disease. *Plant Breeding* 122: 268 – 272.
- RISTERUCCI, A. M. et al. 2000. A high-density linkage map of *Theobroma cacao* L. *Theoretical Applied Genetics* 101: 948 - 955.
- RISTERUCCI, A. M. et al. 2003. Identification of QTLs related to cocoa resistance to three species of *Phytophthora*. *Theoretical Applied Genetics* 108:168-174.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATS, T. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2ed. New York, Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Laboratory. 653p.
- ZANE, L.; BARGELLONI, L.; PATARNELLO, T. 2002. Strategies for microsatellite isolation: a review. *Molecular Ecology* 11: 1 - 16.

ADAPTABILIDADE E ESTABILIDADE DE CULTIVARES DE MILHO NA ZONA AGRESTE DO NORDESTE BRASILEIRO NA SAFRA DE 2006

Vanice Dias de Oliveira¹, Hélio Wilson Lemos de Carvalho¹, Milton José Cardoso², Marcelo Abdon Lira³, Manoel Henrique Bonfim Cavalcante⁴ e Sandra Santos Ribeiro¹

¹Embrapa Tabuleiros Costeiros, Av. Beira Mar, 3250, Jardins, C.P. 44, CEP: 49025-040, Aracaju, Sergipe, Brasil. E-mail: vanice_dias@yahoo.com.br.

²Embrapa Meio-Norte, Av. Duque de Caxias, 5650, Buenos Aires, CEP: 64006-220. Teresina, Piauí, Brasil.

³EMPARN, Av. Jaguarari, 2192, Lagoa Nova, CEP: 59062-500, Natal, Rio Grande do Norte, Brasil.

⁴Secretaria de Estado da Agricultura de Alagoas, Rua Domingos Correa, 1150, São Luiz, CEP: 57301-070. Arapiraca, Alagoas, Brasil.

Duas redes experimentais, envolvendo a avaliação de variedades e híbridos de milho, foram realizadas em diferentes ambientes da Zona Agreste do Nordeste brasileiro, no ano agrícola de 2006, visando conhecer a adaptabilidade e a estabilidade desses materiais para fins de recomendação. Em ambas as redes, utilizou-se o delineamento experimental em blocos ao acaso, com três repetições. Constataram-se, nas análises de variâncias conjuntas, diferenças entre cultivares e ambientes e comportamento diferenciado dessas cultivares diante das variações ambientais. As altas produtividades de grãos de milho alcançadas em ambientes do agreste nordestino colocam essas áreas em condição de competir com áreas dos Estados do Paraná, Goiás e Mato Grosso, reduzindo os custos com a importação de milho de outras partes do país. Os híbridos mostraram melhor adaptação que as variedades, constituindo-se em alternativas importantes para os produtores que investem em tecnologias modernas de produção. Dentre os híbridos, sobressaíram-se Agromen 30 A 05, AG 8060, DKB 393, DAS 2 A 525, AG 5020, dentre outros.

Palavras-chave: *Zea mays* L., variedades, híbridos, previsibilidade, interação genótipo x ambiente.

Adaptability and stability of corn cultivars in the brazilian northeast agreste during 2006 agricultural year. The adaptability and stability of corn varieties and hybrids were evaluated on two network field trials in the Brazilian Northeast Agreste Region during the 2006 agricultural year in view to be recommended. The experiments were carried out on completely randomized block design with three replications. The grouped analysis of variance showed differences among cultivars x environment and cultivars x environmental variations. The high corn productivity obtained in those environmental conditions of the Brazilian Northeast Agreste Region, showed that such areas are in a competitive condition as a corn production region in relation to other Brazilian states as Paraná, Goiás and Mato Grosso do Sul, thus reducing the need and costs of corn importation. The hybrids behaved better than varieties representing an important alternative to farmers seeking modern technologies. Among the hybrids AGROMEN 30A05, AG8060, DKB 393, DAS 2A525 and AG 5020 were highlighted.

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

Introdução

No Nordeste brasileiro o milho é amplamente utilizado na indústria, na culinária e agropecuária, tendo nessa última atividade, crescimento expressivo na avicultura e suinocultura. Contudo, a produção regional é insuficiente para atender a demanda, sendo necessário recorrer à importação para suprir a necessidade desse mercado. Diante desse fato, infere-se que estimulando a produção de milho em áreas de agreste nordestino, a qual oferece condições de solo e clima propícias à produção de grãos em sequeiro, pode-se suprir o déficit gerado pelo consumo. De fato, produtividades elevadas na Zona Agreste do Nordeste brasileiro têm sido constatadas em ensaios de competição de cultivares de milho nos municípios de Teresina, PI, Arapiraca, AL, Simão Dias, SE, Nossa Senhora das Dores, SE, Frei Paulo, SE e Paripiranga, BA (Cardoso et al., 2003; Souza et al., 2004a e Carvalho et al. 2005a e 2005b).

Ressalta-se que em razão de grande parte dos híbridos nessa região expressarem adaptabilidade ampla (Cardoso et al., 2003; Souza et al., 2004b e Carvalho et al., 2005a), a recomendação desses materiais para os sistemas de produção pouco tecnificados têm ocorrido com sucesso, a exemplo dos sistemas de produção praticados pela maioria dos produtores de milho dessas áreas.

Fundamentados nesses resultados favoráveis, a exploração do milho tem se expandido de forma significativa nessa região, aonde os rendimentos médios, no âmbito das propriedades rurais, vêm atingindo patamares superiores a 6 t/ha. Esses altos rendimentos registrados nesses ambientes equiparam-se às médias encontradas nos Estados do Paraná, Mato Grosso e São Paulo, o que evidencia a alta potencialidade dessas áreas para produção do milho.

O mercado para variedades de milho no agreste nordestino é crescente; também, o crescimento dos sistemas de produção de melhor técnica em áreas do agreste tem demandado largamente o uso de híbridos de milho de melhor adaptabilidade e estabilidade de produção. Diante desse fato, torna-se necessário promover a competição de materiais, através da implantação de redes de ensaios de variedades e híbridos, visando direcionar as recomendações para os diversos sistemas de produção existentes.

Estima-se que cerca de 60% da área brasileira plantada com milho utiliza mais de 160 híbridos diferentes (Pinazza & Alimandro, 1998). A indústria sementeira do milho é muito dinâmica, e a cada ano novas cultivares são postas no mercado, tanto pela iniciativa privada quanto pela pública (Santos et al., 2002). Segundo esses autores, a escolha certa sobre qual híbrido plantar é fundamental para que o produtor obtenha altas produtividades e níveis satisfatórios no desenvolvimento da atividade agrícola. Torna-se necessário verificar o desempenho dos principais materiais

disponibilizados no mercado, o que poderá trazer ao produtor, informações valiosas sobre qual ou quais materiais ele deverá utilizar em sua lavoura.

A interação genótipos x ambientes exerce importância significativa no processo de recomendação de cultivares. Ramalho et al. (1993) admitem que quanto maior o número de ambientes e de cultivares, a presença da interação quase sempre revela a existência de cultivares com adaptação específica a ambientes específicos, bem como de cultivares com adaptação mais ampla, porém nem sempre com alto potencial para a produtividade em ambientes inferiores, o que impede que se faça uma recomendação segura para uma ampla região.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a adaptabilidade e a estabilidade de variedades e híbridos de milho quando submetidos a diferentes condições ambientais da Zona Agreste do Nordeste brasileiro.

Materiais e Métodos

Variedades e híbridos de milho foram avaliados em duas redes experimentais, em diversos ambientes da Zona Agreste no ano agrícola de 2006. Essa região apresenta clima ameno e período chuvoso de abril/maio a agosto/setembro. De modo geral, segundo Silva et al. (1993), a precipitação média anual, nessa zona, varia de 500 mm a 800 mm. Em uma das redes utilizadas, avaliaram-se 38 materiais (22 variedades e 16 híbridos) e os ensaios foram instalados nos municípios de Teresina, no Piauí; Apodi e Ipanguaçu, no Rio Grande do Norte; Arapiraca, em Alagoas; Nossa Senhora das Dores, Frei Paulo e Simão Dias, em Sergipe e Paripiranga e Sítio do Quinto, na Bahia. A outra rede, formada por 46 híbridos, teve os ensaios instalados nos municípios de Teresina, Arapiraca, Nossa Senhora das Dores, Frei Paulo, Simão Dias, Paripiranga e Adustina/BA. Todos esses ensaios foram instalados em regime de sequeiro.

Em ambas as redes utilizou-se o delineamento experimental em blocos ao acaso, com três repetições e as parcelas foram constituídas de quatro linhas de 5,0 m de comprimento, a espaços de 0,80 m, com 0,40 m entre covas, dentro das fileiras. Mantiveram-se, após o desbaste, duas plantas/cova. No plantio realizou-se uma adubação conforme indicação da análise de solo de cada área experimental. Os dados de peso de grãos obtidos foram submetidos à análise de variância pelo modelo de blocos ao acaso. A análise de variância conjunta obedeceu aos critérios de homogeneidade dos quadrados médios residuais (Gomes, 1990), considerando aleatórios os efeitos de blocos e ambientes e, como fixo, o efeito de cultivares, e foi processada conforme Vencovsky e Barriga (1992), com auxílio do aplicativo computacional GENES (Cruz, 2001).

Os parâmetros de adaptabilidade e estabilidade foram estimados utilizando-se o método de Eberhart & Russel (1966). Segundo esses autores, a adaptabilidade é compreendida como a capacidade do genótipo em responder à melhoria ambiental, entendendo-se como adaptabilidade ampla os materiais com $b = 1$; adaptabilidade específica a ambientes favoráveis aqueles com $b > 1$ e adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis aqueles com $b < 1$. A estabilidade refere-se à previsibilidade de comportamento do material em relação ao modelo linear de regressão que é dada pelos desvios de regressão (s^2_d). Materiais com desvios de regressão iguais a zero evidenciam alta estabilidade nos ambientes considerados.

Resultados e Discussão

Observando-se os resultados referentes à rede formada por variedades e híbridos (Tabela 1), percebe-se que ocorreram diferenças significativas ($p < 0,01$ e $p < 0,05$), o que mostra comportamento diferenciado entre os materiais avaliados, dentro de cada local. Os coeficientes de variação oscilaram entre 7% e 15%, o que indica boa

precisão dos ensaios, segundo Scapim et al. (1995), que identificaram os limites de valores de coeficiente de variação para classificação da precisão dos experimentos com a cultura do milho. A produtividade média de grãos nos ensaios variou de 4.003 kg/ha, no ensaio de Arapiraca/AL a 7.571 kg/ha, em Frei Paulo/SE, sobressaindo como ambientes mais favoráveis ao cultivo do milho os municípios de Frei Paulo/SE e Simão Dias, com produtividades médias de 7.571 kg/ha e 7.377 kg/ha, respectivamente. Os municípios de Ipanguaçu/RN, Paripiranga/BA e Sítio do Quinto/BA, por apresentarem resultados médios de grãos superiores à média geral, também se qualificaram como ambientes bastante favoráveis para esse tipo de cultivo. Esse desempenho da Zona Agreste do Nordeste brasileiro vem sendo evidenciado nas últimas safras, conforme assinalaram Carvalho et al. (2004 e 2005a) e Souza et al (2004b). As elevadas produtividades médias de grãos de milho registradas nessas áreas fazem dessa região importante celeiro para a produção de milho no Nordeste brasileiro.

Analisando-se os resultados encontrados na rede experimental formada por híbridos (Tabela 2), observa-se que ocorreram diferenças significativas ($p < 0,01$) entre os híbridos avaliados, no âmbito de ambientes. De igual

Tabela 1. Resumos das análises de variância conjunta para a produção de grãos (kg/ha), avaliados em 38 cultivares de milho, em nove ambientes do Agreste nordestino, no ano agrícola de 2006.

Local/Estado	Quadrados médios		Média	C.V. (%)
	Cultivares	Resíduo		
Teresina/PI	1.027867,0**	204239,1	5151	9
Apodi/RN	592332,8*	334441,1	5017	12
Ipanguassu/RN	2.046646,8**	1073318,1	6795	15
Arapiraca/AL	1.374650,7**	221709,9	4003	12
N. Sra. Dores/SE	1720203,2**	269499,9	5461	10
Frei Paulo/SE	3313976,8**	460216,1	7571	9
Simão Dias/SE	3.197728,7**	282110,4	7377	7
Paripiranga/BA	3.087611,2**	288556,4	6383	8
Sítio do Quinto/BA	2.499320,9**	422776,5	6506	10

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

Tabela 2. Resumos das análises de variância conjunta para a produção de grãos (kg/ha), avaliados em 46 híbridos de milho, em sete ambientes do Agreste nordestino, no ano agrícola de 2006.

Local/Estado	Quadrados médios		Média	C.V. (%)
	Cultivares	Resíduo		
Teresina/PI	1154954,7**	415548,7	7357	8,8
Arapiraca/AL	679711,4**	153570,2	4493	8,7
N. Sra. das Dores/SE	830974,6**	292769,5	6164	8,8
Frei Paulo/SE	1803866,7**	574884,5	8921	8,5
Simão Dias/SE	1828417,7**	576975,3	8109	9,4
Adustina/BA	2038582,3**	580917,4	7427	10,3
Paripiranga/BA	2033206,9**	296902,4	8147	6,7

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

maneira, os coeficientes de variação encontrados conferiram boa precisão aos ensaios. As médias de produtividades obtidas com os híbridos, no âmbito de ensaios, revelaram a mesma tendência observada na rede anterior (Tabela 1), registrando-se uma oscilação de 4.493 kg/ha, no município de Arapiraca/AL, a 8.921 kg/ha, no município de Frei Paulo/SE, destacando-se os municípios de Frei Paulo e Simão Dias, ambos no agreste de Sergipe, e Paripiranga, no agreste baiano, com produtividades entre 8.109 kg/ha e 8.921 kg/ha. Os municípios de Adustina, no agreste baiano, e Teresina, no agreste piauiense, também mostraram alta potencialidade para o desenvolvimento do cultivo do milho, com rendimentos médios de grãos de 7.427 kg/ha e 7.357 kg/ha, respectivamente. Essa boa adaptação dos híbridos nessas áreas tem provocado um incremento considerável na procura por esse tipo de material genético, observando-se, no âmbito das propriedades rurais, rendimentos médios superiores a 6,0 t/ha.

Houve efeitos significativos ($p < 0,01$) quanto aos ambientes, cultivares e interação cultivares x ambientes, nas duas redes experimentais (Tabelas 3 e 4), indicando comportamento diferenciado entre os materiais avaliados e os ambientes, e comportamento inconsistente desses materiais diante das variações ambientais. Interações significativas têm sido detectadas em trabalhos de competição de cultivares, conforme Carneiro (1998), Gama et al. (2000), Gomes et al. (2002) e Carvalho et al. (2005a e 2005b). Em todos esses casos, os autores mencionados

Tabela 3. Análise de variância conjunta de rendimentos de grãos (kg/ha) de 38 cultivares de milho em nove ambientes do Agreste nordestino, no ano agrícola de 2006.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Quadrados médios
Ambientes (A)	8	160316697,9**
Cultivares (C)	37	13048143,5**
Interação (A x C)	296	726524,3**
Resíduo	666	395207,6

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

Tabela 4. Análise de variância conjunta de rendimentos de grãos (kg/ha) de 46 híbridos de milho em sete ambientes do Agreste nordestino, no ano agrícola de 2006.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Quadrados médios
Ambientes (A)	6	302574061,3**
Cultivares (H)	45	5268336,3**
Interação (A x H)	270	850225,1**
Resíduo	630	413081,1

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

procuraram minimizar o efeito dessa interação por meio da recomendação de cultivares de melhor estabilidade fenotípica (Ramalho et al., 1993).

Verificando-se as estimativas dos parâmetros de adaptabilidade e estabilidade na rede formada por variedades e híbridos (Tabela 5), nota-se que a produtividade média de grãos (b_0) variou de 4.678 kg/ha (Assum Preto) a 7.381 kg/ha (PL 1335), com média geral de 6.025 kg/ha, destacando-se com melhor adaptação as cultivares com rendimentos médios de grãos superiores à média geral (Venconsky e Barriga, 1992). Os híbridos mostraram melhor adaptação do que as variedades, concordando com os resultados obtidos em trabalhos similares de melhoramento realizados no Nordeste brasileiro (Carvalho et al., 2000, 2002 e 2004).

Quanto ao coeficiente de regressão 'b', que corresponde a resposta linear da cultivar à variação nos ambientes desfavoráveis e favoráveis, as estimativas variaram de 0,57 a 1,56, respectivamente, em relação a variedade Caatingueiro e ao híbrido SHS 5050, sendo ambos estatisticamente diferentes da unidade (Tabela 5). Considerando as dezessete cultivares que expressaram melhor adaptação ($b_0 >$ média geral), cinco apresentaram estimativas de 'b' diferentes da unidade e doze expressaram estimativas de 'b' não significativas ($b = 1$), o que evidencia comportamento diferenciado dessas cultivares nas diferentes classe de ambientes. Os híbridos SHS 5050, SHS 4060, SHS 5070, SHS 4050 e SHS 4040 mostraram ser muito exigentes nas condições desfavoráveis ($b > 1$).

No que se refere à estabilidade, onze das cultivares avaliadas mostraram desvios da regressão estatisticamente deferente de zero, o que evidencia comportamento imprevisível nos ambientes considerados. Apesar disso, Cruz et al. (1989) consideram que aqueles materiais que apresentam valores de $R^2 > 80\%$ não devem ter os seus graus de previsibilidade comprometidos. Assim, as cultivares que mostraram valores de $R^2 > 80\%$ apresentaram um bom ajustamento às retas de regressão.

Em trabalhos de competição de cultivares, em que se avaliam materiais de diferentes bases genéticas, surge o questionamento sobre a maior ou menor estabilidade das cultivares em relação ao grupo a que pertence (Ribeiro et al., 2000). Resultados de inúmeros trabalhos com a cultura do milho permitem inferir não haver relação fixa entre a homogeneidade ou heterogeneidade de determinado genótipo e sua estabilidade, sendo possível selecionar cultivares mais estáveis em qualquer grupo, quer sejam variedades, híbridos simples, híbrido triplo ou híbrido duplo (Carvalho et al. 2005 e Cardoso et al. 2007), o que também foi constatado no presente trabalho.

Considerando-se esses resultados (Tabela 5), infere-se que os híbridos SHS 5050, SHS 4060, SHS 5070, SHS

Tabela 5. Estimativas das médias e dos parâmetros de adaptabilidade e estabilidade de 38 cultivares de milho em nove municípios do Agreste nordestino, no ano agrícola de 2006. Média = 6025 kg/ha e C. V. (%) = 10,4, modelo Eberhart & Russel [5].

Cultivares	Médias	b	s _d ²	R ²
PL 1335 ¹	7381 a	1,03 ns	428855,4 **	75
SHS 5050 ²	7341 a	1,56 **	-21535,0 ns	97
SHS 4060 ³	7286 a	1,28 **	27511,8 ns	94
SHS 5070 ²	7108 a	1,37 **	140453,2 *	92
BRS 1030 ¹	7048 a	0,94 ns	378471,6 **	74
BRS 3003 ²	7043 a	0,84 ns	314215,5 **	72
BRS 1010 ¹	6768 a	1,11 ns	218372,9 *	85
SHS 4050 ³	6654 b	1,38 **	-16686,4 ns	96
BR 206 ³	6475 b	1,15 ns	118788,7 ns	89
SHS 4040 ³	6424 b	1,22 *	143205,6 *	90
PL 6880 ³	6350 b	1,16 ns	61675,3 ns	92
BRS 3150 ²	6303 b	1,15 ns	76722,5 ns	91
CPATC 4 ⁴	6294 b	1,12 ns	-14946,1 ns	94
Sintético Precoce 1x ⁴	6216 b	1,02 ns	88686,9 ns	88
BRS 2110 ³	6174 b	1,03 ns	12775,5 ns	92
BRS 2223 ³	6153 b	0,93 ns	-31253,6 ns	93
SHS 500 ⁴	6135 b	0,98 ns	66262,7 ns	89
BRS 2114 ³	6021 c	0,99 ns	150681,3 *	85
Sintético 1X ⁴	5917 c	1,08 ns	3222,3 ns	93
CPATC 5 ⁴	5852 c	1,01 ns	-88418,9 ns	97
Sertanejo ⁴	5784 c	0,90 ns	-67796,4 ns	95
CPATC 7 ⁴	5757 c	0,97 ns	-10141,3 ns	93
São Francisco ⁴	5754 c	1,02 ns	-12822,8 ns	93
CPATC 3 ⁴	5738 c	1,10 ns	2897,2 ns	93
Asa Branca ⁴	5703 c	0,77 *	-48202,2 ns	92
BRS 2020 ³	5679 c	0,64 **	19040,5 ns	81
Sintético Dentado ⁴	5645 c	0,99 ns	-106091,1 ns	98
Sintético 2X ⁴	5616 c	0,99 ns	47408,6 ns	89
AL 34 ⁴	5564 c	0,91 ns	25304,0 ns	89
AL 25 ⁴	5521 c	0,91 ns	261087,1 **	77
AL Bandeirante ⁴	5452 c	0,73 *	37414,4 ns	84
AL Manduri ⁴	5385 d	0,93 ns	-90977,4 ns	97
Potiguar ⁴	5297 d	0,84 ns	-75796,3 ns	95
Gurutuba ⁴	5229 d	0,84 ns	242959,4 **	76
Caatingueiro ⁴	5119 d	0,57 **	85024,8 ns	71
BR 106 ⁴	5058 d	0,96 ns	151871,7 *	84
Cruzeta ⁴	5019 d	0,79 ns	182827,0 *	76
Assum Preto ⁴	4678 d	0,61 **	-8237,1 ns	85

** e * Significativamente diferente para b, a 1% e 5% de probabilidade pelo teste t de Student, respectivamente. ** e * Significativamente diferente de zero a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F. As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. ¹Híbrido simples; ²híbrido triplo; ³híbrido duplo e ⁴variedade.

4070 e SHS 4040 por apresentaram rendimentos médios acima da média geral ($b_0 >$ média geral) e serem exigentes nas condições desfavoráveis ($b > 1$), justificaram suas recomendações para as condições favoráveis. Os demais materiais componentes do grupo de melhor adaptação ($b_0 >$ média geral) e com estimativa de 'b' semelhantes à unidade ($b = 1$), evidenciaram adaptabilidade ampla, constituindo-se em alternativas importantes para a agricultura regional.

Ressalta-se que as variedades Gurutuba, Caatingueiro, Cruzeta e Assum Preto, apesar de demonstrarem baixa adaptação, sua superprecocidade constitui forte justificativa para o uso nas áreas de semi-árido, por reduzirem o risco de frustração de safras nessas regiões. A variedade Assum Preto, por ser também um material de alta qualidade protéica, pode ser utilizada em programas de combate à fome e à miséria.

Os parâmetros de adaptabilidade e estabilidade estimados com relação aos híbridos estão na Tabela 6, verificando-se que a produtividade média de grãos variou de 6.107 kg/ha (BRS 2110) a 8.434 kg/ha (Agromen 30 A 06), despontando com melhor adaptação os híbridos com rendimentos médios superiores à média geral, destacando-se entre eles, os híbridos Agromen 30 A 06, AG 8060, DKB 393 e DAS 2 A 525. As estimativas do coeficiente de regressão variaram de 0,72 nos híbridos AG 405 e HS 101142 a 1, 41, no híbrido DKB 393, sendo ambos estatisticamente diferentes da unidade. Dentre os 21 híbridos que mostraram melhor adaptação ($b_0 >$ média geral), seis apresentaram estimativas de b diferentes da unidade, e 15 apresentaram estimativas de b não significativas, revelando comportamento diferenciado desses híbridos nas diferentes classes de ambientes. Os híbridos DKB 393, Agromen 31 A 31, DKB 350, Agromen 20 A 20 e Agromen 35 A 42 qualificaram-se para ambientes favoráveis por apresentarem melhor adaptação ($b >$ média geral) e estimativas de $b > 1$. Apenas o híbrido HS 101142, nesse grupo de melhor adaptação, mostrou-se pouco exigente nas condições desfavoráveis ($b < 1$), justificando sua recomendação para as condições desfavoráveis. De grande interesse para a região são os híbridos que evidenciaram adaptabilidade ampla ($b_0 >$ média geral e $b = 1$), os tornado de grande importância para os diferentes sistemas de produção em execução na Zona Agreste do Nordeste brasileiro.

Conclusões

- 1- Os híbridos mostram melhor adaptação que as variedades;
- 2- Os híbridos que evidenciam adaptabilidade ampla consubstanciam-se em alternativas importantes para os diferentes sistemas de produção da região.

Tabela 6. Estimativas das médias e dos parâmetros de adaptabilidade e estabilidade obtidas pelo método de Eberhart & Russel [5], para a produção de grãos avaliados em 46 híbridos de milho em sete ambientes do Agreste nordestino, no ano agrícola de 2006. Média = 7231 kg/ha e C. V. (%) = 8,9.

Cultivares	Médias	b	s ² _d	R ²
Agromen 30 A 06 ²	8.434 a	1,04 ns	115094,9 ns	92
AG 8060 ²	8.199 a	1,18 ns	-21901,3 ns	97
DKB 393 ¹	8.095 a	1,41 **	-48090,6 ns	98
2 A 525 ¹	8.084 a	1,10 ns	68197,0 ns	94
AG 5020 ¹	7.837 b	1,07 ns	42602,0 ns	94
DKB 455 ¹	7.786 b	1,05 ns	254982,8 *	88
AG 7000 ¹	7.745 b	1,01 ns	-80443,7 ns	88
DKB 390 ¹	7.738 b	0,83 ns	-13823,5 ns	93
Agromen 31 A 31 ²	7.729 b	1,26 **	356610,5 **	89
DKB 350 ²	7.646 b	1,28 **	-79690,2 ns	98
Agromen 3050 ²	7.633 b	1,16 ns	427924,8 **	86
HS 101142 ¹	7.579 b	0,72 **	142572,9 ns	83
Agromen 20 A 20 ²	7.512 c	1,32 **	280105,3 **	91
DKB 979 ²	7.441 c	1,15 ns	91100,5 ns	93
BRS 3003 ²	7.439 c	0,83 ns	-72322,8 ns	96
Agromen 35 A 42 ²	7.380 c	1,24 *	-106292,5 ns	99
A 010 ¹	7.364 c	1,12 ns	264410,8 *	89
SHS 4080 ³	7.346 c	1,16 ns	291898,3 **	89
2 C 605 ¹	7.345 c	1,02 ns	335488,2 **	85
HS 0000 ¹	7.318 c	0,88 ns	-53714,6 ns	96
DAS 657 ²	7.233 d	1,09 ns	3619,4 ns	56
2 C 599 ¹	7.222 d	1,05 ns	-31671,7 ns	96
AG 2040 ²	7.179 d	1,14 ns	133607,0 ns	92
Agromen 25 A 23 ²	7.166 d	1,07 ns	71059,8 ns	93
HS 1987 ¹	7.160 d	1,03 ns	102677,9 ns	92
DKB 466 ¹	7.131 d	1,00 ns	-24519,8 ns	96
BM 2202 ²	7.099 d	1,02 ns	112238,4 ns	92
DKB 747 ²	7.098 d	0,80 *	191892,1 *	83
BM 1021 ¹	7.058 d	1,10 ns	182812,9 *	90
2 C 577 ²	7.053 d	0,89 ns	-20905,6 ns	94
HS 1081 ²	7.016 d	0,84 ns	123897,9 ns	87
DAS 8420 ²	7.006 d	0,92 ns	-24975,6 ns	95
Pioneer 30 P 70 ¹	6.974 d	0,85 ns	744397,8 **	68
Agromen 30 A 00 ²	6.959 d	0,75 *	178320,3 *	82
AG 9010 ¹	6.905 d	0,80 *	174062,7 *	84
Agromen 3100 ²	6.895 d	0,94 ns	-34237,3 ns	95
Agromen 34 A 11 ²	6.831 d	0,88 ns	78211,7 ns	90
2 A 120 CL ²	6.807 d	0,77 *	607967,0 **	68
Agromen 2012 ³	6.772 d	1,04 ns	18707,3 ns	94
AG 2060 ²	6.764 d	0,95 ns	-41429,2 ns	96
DAS 8480 ¹	6.746 d	0,87 ns	183386,1*	86
A 4454 ³	6.614 e	0,90 ns	155871,2 ns	88
AG 405 ²	6.480 e	0,72 **	209092,2 *	80
DKB 435 ²	6.382 e	0,80 ns	21468,8 ns	91
SHS 4070 ³	6.345 e	0,94 ns	466372,3 **	80
BRS 2110 ³	6.107 e	0,80 ns	6943,3 ns	92

** e * Significativos a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste t de Student, para b. ** e * Significativos a 1% e 5%, respectivamente, pelo teste F para s²_d. As médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. . ¹Híbrido simples; ²híbrido triplo e ³híbrido duplo.

Literatura citada

- CARDOSO, M. J.; et al. 2003. Desempenho de cultivares de milho na Região Meio-Norte do Brasil. *Agrotropica (Brasil)* 15(1): 53-60.
- CARDOSO, M. J.; et al. 2007. Estabilidade do rendimento de grãos de variedade de *Zea mays* L. no meio-norte brasileiro. *Revista Ciência Agronômica (Brasil)* 38 (1): 78-83.
- CARNEIRO, P. C. S. 1998. Novas metodologias de análise de adaptabilidade e estabilidade de comportamento. Tese de Doutorado. Lavras, ESAL. 168p.
- CARVALHO, H. W. L. de; et al. 2000. Estabilidade de cultivares de milho em três ecossistemas do Nordeste brasileiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35(9):1773-1781.
- CARVALHO, H. W. L. de; et al. 2002. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no nordeste brasileiro no triênio 1998 a 2000. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37(11): 1581-1588.
- CARVALHO, H. W. L. de; et al. 2004. Adaptabilidade e estabilidade de híbridos de milho no Nordeste brasileiro. *Revista Científica Rural (Brasil)* 9(1):118-125.
- CARVALHO, H. W. L. de; et al. 2005. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Nordeste brasileiro no ano agrícola de 2003. *Revista Científica Rural (Brasil)*10(2):43-52.
- CARVALHO, H. W. L. de; et al. 2005. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho no Nordeste brasileiro. *Revista Pesquisa Agropecuária Brasileira* 40(5): 471-477.
- CRUZ, C. D.; TORRES, R. A. de; VENCOSKY, R. 1989. An alternative approach to the stability analysis by Silva and Barreto. *Revista Brasileira de Genética* 12: 567-580.
- CRUZ, C. D. 2001. Programa Genes: Versão Windows; aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa.
- EBERHART, S. A.; RUSSELL, W. A. 1966. Stability parameters for comparing varieties. *Crop Science* 6(1): 36-40.
- GAMA, E. E. G.; et al. 2000. Estabilidade de produção de germoplasma de milho avaliado em diferentes regiões do Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 36(6): 1143-1149.
- GOMES, F. P. 1990. Curso de estatística experimental. São Paulo, Nobel. 450p.
- GOMES, M. de S.; et al. 2002. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho para produtividade de matéria seca degradabilidade ruminal da silagem. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo* 1(2): 82-90.
- PINAZZA, L. A.; ALIMANDRO, R. 1998. Milho híbrido: desafios de uma semente. *Agronomy*. pp.18-19.
- RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; ZIMMERMANN, M. J. de O. 1993. Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicação no melhoramento do feijoeiro. Goiânia, Editora UFG. pp.131-169. (Publicação, 120).
- SANTOS, P. G.; et al. 2002. Avaliação do desempenho agrônomico de híbridos de milho em Uberlândia, MG. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37(5): 597 - 602.
- SCAPIM, C. A.; CARVALHO, C. G. P. de; CRUZ, C. D. 1995. Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 30(5):683-686.
- SILVA, F. B. R. de; et al. 1993. Zoneamento ecológico do Nordeste: diagnóstico do quadro natural e agrossocioeconômico. Petrolina, Embrapa-CPATSA/ Embrapa-CNPS, v. 1.
- SOUZA, E. M. de.; CARVALHO, H. W. L. de; LEAL, M. de L. da S. 2004. Adaptabilidade e estabilidade de variedades e híbridos de milho no Estado de Sergipe no ano agrícola de 2002. *Revista Ciência Agronômica (Brasil)* 35(1):52-60.
- SOUZA, E. M. de.; et al. 2004. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho em diferentes ambientes dos estados de Sergipe e Alagoas. *Agrotropica (Brasil)*16(1): 23-30.
- VENCOSKY, R.; BARRIGA, P. 1992. Genética biométrica no fitomelhoramento. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética. 496p. ●

MYCORRHIZAL FUNGI IN SOILS CULTIVATED WITH COCOA IN ATLANTIC RAIN FOREST, BAHIA, BRAZIL

Quintino Reis de Araujo^{1,2}, *Olívia Cordeiro de Almeida*¹, *Sandoval Oliveira de Santana*¹,
*Bruno Tomio Goto*³, *Uided Maaze Tiburcio Cavalcante*³,
*José Luiz Bezerra*¹, *Paulo César Lima Marrocos*¹

¹ Centro de Pesquisas do Cacau, CP. 07, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil. E-mail: quintino@cepec.gov.br ² Universidade Estadual de Santa Cruz, ³ Universidade Federal de Pernambuco, Laboratório de Micorrizas. Rua Prof. Nelson Chaves, s/n, Cidade Universitária. 50670-901, Recife, Pernambuco, Brasil. Tel: (81) 2126.8000, Fax: (81) 2126.8029

The mycorrhizal fungi can be, and in many cases are, fundamental for the efficient nutrition process and appropriate development and production for most of the plants. Because the new scientific focuses based on agro environmental processes and, specially, for areas with deficient socioeconomic conditions and poor soils, biological alternatives of agricultural management based on mycorrhiza utilization for example, can be recommended. This preliminary study aimed at to identify the main mycorrhiza species associated with two main soils cultivated with cocoa, in the south of Bahia, Brazil. A larger diversity of genus / species in the Ultisol (Argissolo), and a prevalence of the genus *Acaulospora* in the Oxisol (Latossolo) was verified.

key words: Native mycorrhizal fungi, *Theobroma cacao*, Atlantic Rain Forest.

Fungos micorrízicos em solos cultivados com cacau na Mata Atlântica da Bahia, Brasil.

Os fungos micorrízicos podem ser, e em muitos casos são, fundamentais para o eficiente processo de nutrição e adequado desenvolvimento e produção, para a maioria das plantas. Diante dos novos enfoques científicos baseados em processos agroecológicos e, em particular, para regiões de condições sócio-econômicas deficientes e solos pobres, alternativas biológicas de manejo agrícola, a exemplo do uso de micorrizas, podem ser recomendadas. Este estudo preliminar objetivou identificar as principais espécies de micorrizas associadas aos dois principais solos cultivados com cacau, no sul da Bahia, Brasil. Verificou-se uma maior diversidade de gêneros / espécies no solo Bt (Argissolo), e um predomínio do gênero *Acaulospora* no solo Bw (Latossolo).

Palavras-chave: Micorrizas nativas, *Theobroma cacao*, Mata Atlântica

Introduction

Among the microorganisms that inhabit the interface between the roots of plants and the soil, some fungi have a special role because their capacity to penetrate into the alive cells of the host plant without causing damages and, at the same time, extending besides the area of depletion of the roots to establish intimate contact of their hyphae with the aggregates and the soil microorganisms. This symbiosis formed by the fungus with the roots of the host plant, known as mycorrhiza, is characterized by the mutual benefits of the association which form a dynamic system (Oliveira and Trindade, 2000).

Several mycorrhiza types exist, like Vesicular-arbuscular mycorrhiza (VAM) which are spread in the soil and in the world flora being the mycorrhiza type that prevails in the plants of economical interest. The main agronomic meaning of use of VAM is the ability to increase the efficiency of the uptake of P and Zn, which are diffused very slowly in the soil. Besides, the hyphae increase the superficial area of the roots for absorption of P of the solution of the soil.

Fungi facilitate the soil exploration, because their hyphae have better adaptability and present a larger volume, than the roots would be capable, supplying water and nutrients to the plants. Mycorrhizae are very fragile beings and they die if don't find roots to interact. VAM exercise effect in the

relationship water-plant, and have a great importance for the host plant under low water supply. Increasing humidity levels means, in general, the increasing in availability of some nutrients in the surface of the roots P absorption, for example, is directly proportional to the level of soil humidity (Lima, 1996).

To some vegetable species, the dependence to the presence of those fungi is so accentuated, that in the total absence of the symbiosis the plants don't answer satisfactorily to P fertilization (Oliveira and Trindade, 2000). Mycorrhizal dependence is defined as "the degree that the plants need to be mycorrhizal active to produce a maximum growth under given level of soil fertility", and numbered expressed by the relationship among the growth of VAM-plants and no VAM-plants, multiplied by 100 (Silveira, 1992).

In countries with deficiency of socioeconomic and structural conditions, and low use of essential inputs, the adoption of biological technologies, as mycorrhizal associations, could mean a good alternative (Sieverding and Saif, 1984). Sanches and Salinas (1980) recommend the mycorrhiza use for the best P action, in the tropical oxisols and ultisols management.

For many communities of several nations, the philosophy and the practice of agriculture are changing from a conventional focus for a sustainable approach. The sustainable agricultural systems are characterized by reduced utilization of synthetic inputs and an increase on procedures related with conservationist practices. In the history of agriculture, the role of microorganisms in sustainable agriculture has been neglected in the conceptual discussions of the theme, in spite of those organisms play relevant part in the integrated management, plant diseases, cultural rotation, biological control, strategies of fertilization and soil conservation (Oliveira and Trindade, 2000).

The arbuscular mycorrhizal symbiosis is recognized for its multiple positive effects on plant growth and for its important contribution towards the maintenance of soil quality. In spite of these benefits to agriculture, at present, the realization of the full potential of this symbiosis has not yet been reached. The understanding of interactions existing among crops, fungal partners and environmental conditions must improve to allow for the efficient management of the mycorrhizal symbiosis through selected agronomic practices and inoculation of cultivated crops (Hamel, 1996).

Endomycorrhizal of the vesicular-arbuscular type are widespread (Mosse, 1973) and have been reported in tropical crops such as sugar cane, coffee, oil palm, tea, rubber, cocoa (Johnson, 1949). The presence of vesicular-arbuscular mycorrhiza in cocoa and palm oil, was reported by Pyke (1935) and Laycock (1945). Since long time it has been observed that the cocoa plants are very dependent of the mycorrhizal fungi, specially the vesicular-arbusculars (Laycock, 1945).

The cocoa tree is a well-known plant and has great

economical and industrial interest. It is grown in acid soils of the tropical areas in which the P availability is reduced. Considering that the generalized occurrence of mycorrhiza in cocoa tree is accepted the arbuscular mycorrhiza is very important for the cocoa nutrition. Besides the cocoa tree, several arboreal and herbaceous plants depend on the mycorrhiza to absorb nutrients with low availability in the soil, such as P and Zn (Lima, 1996). It has been presented experimental evidences that VAM influence the growth of cocoa tree, and the colonized plant had better growth and larger absorption of nutrients than the no colonized (Barbosa, 1992). Besides the cocoa tree, other plants like citrus, wheat and soy have showed relative dependence of the mycorrhiza for P absorption.

Phosphorus is related with the mycorrhiza dependence of the plants. There are differences among species and cultivars of the same species of plants, for the capacity of P extraction and for the demand of this element. Those species or cultivars of plants with smaller absorption capacity and with larger demand of P can get more benefit and have more dependence of the symbiosis. Besides P there is mycorrhizal dependence of the plants for absorption of Mn, Zn and Cu (Barbosa, 1992).

Cocoa seedlings cultivated in Brazilian tableland soils (haplorthox), presented a large growth (Santos, 1986), when associated with mycorrhiza (*Gigaspora margarita*). It was studied in Venezuela, that *Glomus etunicatum* is the VAM species that seems to be preferentially associated with cocoa plants (Cuenca *et al.*, 1991). This species also tolerates a wide range of soil pH values. The authors observed in an old established plantation that the fertilization diminishes the percentage of VAM infection, both in cocoa plants and in their shade trees.

Mycorrhizal studies in soils of the Cocoa Researches Center, of the South of Bahia, Brazil (Santos, 1981) indicated that: there is a natural mycorrhizal infection in roots of cocoa trees; the most frequent genus was *Glomus*; in young cocoa trees and in the adults, the infection was increased with larger incidence of solar radiation; the high level of P (43 mg kg^{-1}) in the soil causes a quick decrease on the rate of root infection.

The basic evaluation carried out in this work, had as objective the initial identification of mycorrhiza in two of the predominant soils of Southern Bahia, Brazil, That have agricultural aptitude to and are cultivated by cocoa. The present information represents the preliminary scientific data for more detailed studies in that region.

Material and Methods

The soils studied in this evaluation belongs to the groups of Latossolo (Oxisol - Bw) and Argissolo (Ultisol - Bt), selected for the reason they are present in most indicated areas to the cocoa cultivation, in the Southeast area of Bahia, covering, respectively, around 20 and 11% of the

total mapped area of 88,900 km² (Silva *et al.*, 1975).

Composed soil samples, in three replications formed by five other simple samples, were collected in the 0-20 cm layer for the mycorrhizal analyses and for the soil properties, trying to maintain the present roots. The collection places were:

B-textural (Bt - Ultisol) – in municipality of Lomanto Junior – state of Bahia, under cocoa plantation, approximately 60 years old, located in the coordinates 14° 44' 32" South and 39° 23' 14" West, in approximate altitude of 105 m. Besides cocoa, other trees were present in the area, like: corindiba (*Trema micranta*), eritrina (*Erythrina glauca*), jack tree (*Artocarpus heterophylla*), orange tree (*Citrus sinensis*), gameleira tree (*Ficus* sp.).

B-latossólico (Bw - Oxisol) - in municipality of Ilhéus - state of Bahia, under cocoa plantation, approximately 30 years old, located in the coordinates 14° 47' 38" South and 39° 05' 31" West, in approximate altitude of 63 m. The area also possessed plants of rubber tree (*Hevea brasiliensis*), jack tree, orange tree, jenipapo fruit tree (*Genipa americana*).

For mycorrhizal identification the soil samples were homogenized, taking 50 g for processing by humid sieving technique (Gerdemann and Nicolson, 1963), following by centrifugation in sucrose (Jenkins, 1964). For appropriated identification, the spores were placed on slides with PVLG (polyvinyl-alcohol in lacto glycerol) or with reagent of Melzer + PVLG (1:1) and observed in microscope, based on the manual of Schenck and Pérez (1990) and the site of INVAM (www.invam.wvu.edu). In this process the identification of the species was made. For soil analysis the basic methods had adopted the Embrapa (1997) procedures.

Results and Discussion

The basic characterization of the soils is presented in the Table 1 and the identified mycorrhizae in the Table 2.

In the studies of native VAM the most important data are those regarding the diversity. In spite of the same number of species in both analyzed soils, a larger diversity of genera / species was observed in the soil Bt - Ultisol, and the prevalence of the genus *Acaulospora* in the soil Bw - Oxisol.

Some observations could be noted in the visual analysis of the samples: a larger number of spores was verified in the samples of the Oxisol; the species of *Glomus* could not be identified due to the low number of spores; to evaluate the diversity in full detail, is recommended to select a larger number of collection points, samples of thicker layers and to adopt the culture trap.

In the present work the largest diversity, based on the genus, of VAM in the soil Bt - Ultisol, in relation to Bw - Oxisol, can be a consequence of the chemical conditions presented by the soils. In the Oxisol, in spite of the best levels of Ca and Mg, the large levels of available micronutrients could inhibit VAM. Large levels of nutrients in the soil tend to inhibit the symbiosis, especially N and P (Silveira and Cardoso, 1987). P is the largest restrictive; N should be preferentially as nitrate, because the ion ammonium is more poisonous to VAM (Chambers *et al.*, 1980).

The mycorrhizae were found among pH 2,7 to 9,2, but the association of the fungi is affected directly by the effects of the pH on the permeability of the membranes of the plant and of the fungi or indirectly by the nutrient availability. In acid soils Al can acts as a fungus repellent, then the lime in general is beneficial for VAM (Maluf *et al.*, 1988). The micronutrients can also be an inhibition factor, when there are high concentrations, particularly Zn and Mn (Hepper, 1979). There is larger formation of VAM in soils under low concentrations of Zn, Cu, Fe and Mn.

The excess of humidity can interfere on spore germination and in the fungi colonization. On the other side, the host presents larger tolerance to the drought in function of the hormonal and nutritional alterations caused by the symbiosis (Silveira, 1992).

Table 1 - Chemical (1A) and physical (1B) properties of the evaluated soils (Bw: Oxisol, and Bt: Ultisol).

Solo	pH H ₂ O	Al	H+Al	Ca	Mg	Ca+Mg	K	N	P	Fe	Zn	Cu	Mn
Bw	5.0	0.0	4.0	5.1	4.2	9.3	0.14	1.22	4	191	8	67	164
Bt	5.2	0.2	9.1	2.6	3.0	5.6	0.12	1.62	3	162	2	2	8

Solo	AG	AF	SI	AT	AN	SI/AT	EU	GF	Dp
Bw	406	242	230	123	61	1.9	166.8	50.3	2.61
Bt	176	114	223	487	51	0.5	313.5	89.7	2.64

AG=Coarse sand; AF=Fine sand; SI=Silt; AT=Total clay; AN=Natural clay; EU=Humidity equivalent; GF=Flocculation degree; Dp=Particle density.

Table 2 – Species of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) in the rhizosphere of cocoa trees (*Theobroma cacao*, L.) in two soil of South of Bahia, Brazil.

Species of AMF	Soil	
	Ultisol - Bt (Argissolo)	Oxisol - Bw (Latossolo)
<i>Acaulospora tuberculata</i> Janos and Trappe	+	+
<i>Acaulospora excavata</i> Ingleby and Walker	–	+
<i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe	–	+
<i>Acaulospora mellea</i> Spain and Schenck	+	+
<i>Glomus</i> spp. Tulasne and Tulasne	–	+
<i>Glomus sinuosum</i> (Gerdemann and Schenck) Almeida and Schenck	+	–
<i>Gigaspora gigantea</i> (Nicolson and Gerdemann) Gerdemann and Trappe	+	–
<i>Scutellospora pellucida</i> (Nicolson and Schenck) Walker and Sanders	+	–

(+) presence; (–) absence.

The present results suggest a relationship between the occurrence of *Acaulospora* and the sandiest soils, while the largest diversity of species links with larger clay tenors in the soil. Could be searched also about the connection between the inverse relationship of the sand content and the equivalent humidity, and the best environmental condition to *Acaulospora*.

In general the studied soils don't present adverse conditions, in the sense of inhibiting the mycorrhiza. The data that, more directly can be approached, for influences on VAM, would be large values of potential acidity (H + Al), N, total clay and equivalent humidity in the soil Bt - Ultisol, and of Ca, Mg and micronutrients (Fe, Zn, Cu and Mn) in the soil Bw - Oxisol.

Plants with symbiosis tend to absorb more Ca, Zn, Cu and Fe; and the decrease of Mn and Al in these plants can mean that the symbiosis performs a role of direct protection of the plant to the toxicity of those elements and/or it is involved in the tolerance of the plants to them (Maluf *et al.*, 1988).

Literature Cited

- BARBOSA, R.C.M. 1992. Eficiência do fosfato de alumínio Jandiá no desenvolvimento do cacau, na presença e ausência da calagem e de fungos endomicorrízicos vesículo-arbusculares. Dissertação de Mestrado. Piracicaba, ESALQ. 87p.
- CHAMBERS, C.A.; SMITH, S. E.; SMITH, F.A. 1980. Effects of ammonium and nitrate on mycorrhizal infection, nodulation and growth of *Trifolium subterraneum*. *New Phytologist* 85:47-62.
- CUENCA, G. HERRERA, R.; MENESES, E. 1991. Las micorrizas vesículo arbusculares y el cultivo del cacao en Venezuela. *Acta Científica Venezolana* 42:158-159.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. 1997. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Manual de métodos de análise do solo. Rio de Janeiro. 212p.
- GERDEMANN, J. W.; NICOLSON, T. H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and

decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46: 235-244.

- HAMEL, C. 1996. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. Volume 60, Issues 2-3. pp. 197-210
- HEPPER, C.M. 1979. Germination and growth of *Glomus coledonium* spores. The effects of inhibitors and nutrients. *Soil Biology Biochemistry* 11:269-277.
- JENKINS, W. R. 1964. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* 48: 692.
- JOHNSON, A. 1949. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in sea island cotton and other tropical crops. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 26:118-121.
- LAYCOCK, D.H. 1945. Preliminary investigations into the function of the endotrophic mycorrhiza of *Theobroma cacao* L. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 22(4): 77-80.
- LIMA, E. C. 1996. Efeito de fungo micorrízico e do estresse osmótico nos parâmetros cinéticos da absorção de fósforo (Km, Vmáx e Cmin) em *Theobroma cacao* L. Dissertação de Mestrado. Salvador, Universidade Federal da Bahia. 65p.
- MALUF, A. M.; SILVEIRA, A.P.D.; MELO, I.S. 1988. Influência da calagem e da micorriza vesículo-arbuscular no desenvolvimento de cultivares de leucena tolerante e intolerante al alumínio. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 12:17-24.
- MOSSE, B. 1973. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza; *Annual Review Phytopathology* 11:171-196.
- OLIVEIRA, A.R.O.; TRINDADE, A. V. 2000. Micorrizas na agricultura. Embrapa Mandioca e Fruticultura, <http://www.embrapa.br:8080/aplic/rumos.nsf/>.
- PYKE, E.E. 1935. Mycorrhiza in cacao. *Reporter Cacao Research Trinidad*. pp.41-48.
- SANCHES, P.A. and SALINAS, J.G. 1980. Low-input technology for managing oxisols and ultisols in tropical America. *Advance Agronomy* 34:279-406.
- SANTOS, M.M.L. 1981. Micorriza em cacauzeiros (*Theobroma cacao* L.) Dissertação de Mestrado. Salvador, Universidade Federal da Bahia. 92p.
- SANTOS, O.M. 1986. Efeito de diferentes fontes de fósforo e fungos micorrízicos vesículo-arbusculares sobre o crescimento e absorção de nutrientes em plantas de cacau. *Ciência (Brasil)* (38): 81-90.
- SCHENCK, N. C.; PÉREZ, Y. 1990. Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi. 3 ed. Gainesville, Synergistic Publ.
- SIEVERDING, E.; SAIF, S.R. 1984. VA mycorrhiza management: a new, low cost, biological technology for crop and pasture production on infertile soils? Discussion paper for CIAT annual review, February 1. Cali, Colombia.
- SILVA, L. F. et al. 1975. Solos e Aptidão Agrícola. Ilhéus, CEPLAC/IICA. 179p. (Diagnóstico Sócio- Econômica da Região Cacauzeira, 2)
- SILVEIRA, A. P. D. 1992. Micorrizas. In: Cardoso, E.J.B.N.; Tsai, S.M.; Neves, M.C.P. *Microbiologia do solo*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. pp.257-282.
- SILVEIRA, A. P. D.; CARDOSO, E.J.B.N. 1987. Influência do tipo de solo e do fungo micorrízico vesículo-arbuscular no desenvolvimento de três cultivares de feijão. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 11:37-44.

ESTABELECIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE PROTOCOLO PARA OBTENÇÃO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES EM THEOBROMA CACAO UTILIZANDO O SISTEMA MULTIPLEX EM SEQUENCIADOR ABI PRISM 377

Milton Macoto Yamada¹, Karina Peres Gramacho¹, Fábio Gelape Faleiro², Alfredo Dantas Neto¹, Reinaldo Figueiredo dos Santos¹

¹CEPLAC, CEPEC, Laboratório de Biotecnologia, Caixa postal 7, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil

²EMBRAPA Cerrados, BR 020, km 18, 08223, 73301-970, Planaltina- Distrito Federal, Brasil.

O uso de marcadores microsatélites em cacau vem crescendo desde o desenvolvimento dos primeiros *primers*. O objetivo deste trabalho foi estabelecer e otimizar uma metodologia para obtenção desses marcadores em cacau, utilizando o sequenciador automático ABI Prism 377 no sistema multiplex. A metodologia de extração de DNA e a reação de PCR que vinham sendo utilizadas no laboratório do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC) para obtenção de microsatélites em géis de agarose foi mantida. Testando diversas diluições, o melhor procedimento foi adicionar 1,5 µL do produto da PCR de cada 3 *primers* marcados em 25 µL de H₂O desionizada e, deste, retirar 3 µL para ser adicionado a 1,5 µL do tampão de carregamento.

Palavras-chave: marcadores moleculares, metodologia, gel de poliacrilamida.

Establishment and protocol optimization to obtaining microsatellites markers in Theobroma cacao using multiplex system in ABI PRISM 377 sequencer. The use of microsatellite markers in cocoa is growing since the development of the first primers. The objective of this work was to establish and to optimize a methodology for obtaining of those markers in cocoa, using the automatic sequencer ABI Prism 377 in mutiplex system. The methodology of DNA extraction and PCR reaction is the same as has been used in Cocoa Research Center (CEPEC) for microsatellite in agarose gel. Testing several dilutions, the best procedure was to add 1,5 µL of the PCR product for each 3 marked primers in 25 µL of deionided water and from this take 3 µL to be added to 1,5 µL of loading buffer.

Key words: molecular markers, methodology, polyacrilamide gel.

O uso de marcadores moleculares para auxiliar no programa de melhoramento genético do cacaueiro vem se tornando rotina desde o descobrimento da técnica de RAPD (Williams et al.1990).O uso de marcadores microsatélites vem crescendo desde o desenvolvimento dos primeiros *primers* (Lanaud et al. 1999) culminando com o mapeamento genético do cacaueiro usando 201 marcadores microsatélites (Pugh et al. 2004). No Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), os marcadores microsatélites vêm sendo utilizados para estudos de diversidade genética (Yamada et al. 2003, Faleiro, F.G. et al. 2004, Faleiro, A.S.G.et al.2004) e também para o mapeamento genético (Faleiro et al. 2006). Os marcadores microsatélites podem ser obtidos usando agarose em cuba horizontal (Yamada et al.2003), poliacrilamida em

gel vertical (Creste, Tulmann Neto e Figueira, 2001) ou em poliacrilamida usando o sequenciador automático. O último método vem recebendo atenção especial, considerando que os resultados são consistentes, podem correr mais *primers* ao mesmo tempo no mesmo gel e a estimativa do tamanho de cada alelo é mais precisa, possibilitando a união de dados de genotipagem obtidos em diferentes géis e em diferentes laboratórios. Atualmente, são encontrados diferentes protocolos para obtenção de microsatélites em cacaueiro, e neste trabalho, o objetivo foi estabelecer e otimizar uma metodologia para obtenção dos marcadores, utilizando o sequenciador automático ABI Prism 377.

A metodologia de extração de DNA otimizada por Faleiro et al. (2002) e a reação de PCR que vinham sendo utilizadas

no laboratório para obtenção de microssatélites em géis de agarose (Yamada et al. 2003) (Tabela 1) foi mantida para o trabalho de poli-acrilamida em gel vertical no sequenciador ABI prism 377. Para a aplicação das amostras resultantes da PCR foi feito um experimento testando-se diferentes diluições (1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30 e 1:40). Baseado nesse experimento a diluição 1:10 gerou o melhor resultado.

O tampão de carregamento utilizado foi o da *Applied Biosystem* que consiste de 250µl de formamida, 50 µl de *gene scan size standard ROX 500* e 25 µL de tampão de carregamento para 100 amostras. A recomendação do uso de 3 µL dessa mistura (protocolo da *Applied Biosystem*) para cada amostra foi modificada para o uso de 1,0 µL, sendo que não houve diferença na qualidade das bandas verificadas no gel.

O passo seguinte foi ajustar a combinação de 3 *primers* marcados com diferentes fluorescências para serem utilizados de forma multiplex, e depois retira-se 1µL de cada *primer* totalizando 3 µL para cada amostra, e desses 3 retira-se 2 µL para misturar com 1 µL do tampão de carregamento. Antes de carregar no gel, as amostras sofrem o processo de denaturação que consiste no aquecimento a 95°C por 3 minutos, e em seguida, resfriada no gelo causando o choque térmico.

O procedimento padrão foi modificado para facilitar o trabalho e economizar material, adicionando 1,5µL de produto da amplificação de cada *primer* em 25 uL de H₂O desionizada /amostra. Deste total, foi retirado 3 µL para ser adicionado a 1,5 µL do tampão de carregamento. Dos ajustes e metodologias testadas, foi a que apresentou o melhor resultado (Figura 1) para multiplex de 3 *primers*.

Outras observações mostraram que no caso do *primer* (FAM) pode-se usar 1 µL do produto da reação porque cora intensamente, e também o ROX 500 pode ser diminuído. O aumento do volume da mistura do tampão (1,5 µL) com produto da reação (3µL) facilitou o manuseio e aumentou a disponibilidade do produto para o carregamento do gel.

Tabela 1. Protocolos de PCR utilizado para microssatélite em gel de agarose.

Componente	1 reação	PCR	Temp- Tempo
H2O	5,1 µL	1 ciclo	94° C - 4 min
Tampão	1,7 µL		
Mg Cl2	0,7 µL	10 ciclos	94° C - 30 seg
DNA	3,0 µL		60° C - 1 min
dntp	1,5 µL		72° C - 1,5 min
Taq	0,5 µL		
<i>Primer 1</i>	1,5 µL	30 ciclos	94° C - 30 seg
<i>Primer 2</i>	1,5 µL		46° C - 1 min
			72° C - 1,5 min
		1 ciclo	72° C - 6 min 4° C - 8

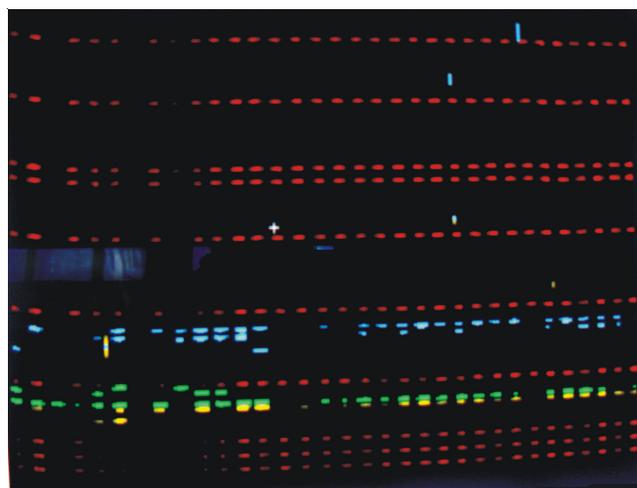


Figura 1. Imagem do gel de 3 *primers* microssatélites marcados de 32 amostras.

Agradecimentos

À FAPESB pelo auxílio financeiro concedido ao projeto de pesquisa.

Literatura Citada

- CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; FIGUEIRA, A. 2001. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. *Plant Molecular Biology Reporter* 19: 299-306.
- FALEIRO, F.G. et al. 2002. Otimização da extração e amplificação de DNA de *Theobroma cacao* L. visando obtenção de marcadores RAPD. *Agrotrópica (Brasil)* 14(2): 31-34.
- FALEIRO, F.G. et al. 2004. Variability in cacao accessions from the Brazilian, Ecuadorian and Peruvian Amazons based on molecular markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 4:227-233.
- FALEIRO, A.S.G. et al. 2004. Variability in cacao selected by producers for resistance to witches' broom based on microsatellite markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 4: 290-297.
- FALEIRO, F.G. et al. 2006. Mapping QTLs for witches' broom (*Crinipellis pernicioso*) resistance in cacao (*Theobroma cacao* L.). *Euphytica* 149:227-235.
- LANAUD, C. et al. 1999. Isolation and characterization of microsatellites in *Theobroma cacao* L. *Molecular Ecology* 8:2141-2143.
- PUGH, T. et al. 2004. A new cacao linkage map based on codominant markers: development and integration of 201 new microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics* 108: 1151-1161.
- YAMADA, M. M. et al. 2003. Genetic variability and heterozygosity of cocoa accessions of Parinari (Pa) population, based on microsatellite markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 3(4):289-296.
- WILLIAMS, J.G. et al. 1990. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acid Research* 18: 6531-6535. ●

AGRADECIMENTOS AOS CONSULTORES CIENTÍFICOS

Em 2007, 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.

- Antônio Figueira (2) CENA/USP
- Arnaldo Colozzi Filho (1) EMBRAPA /IAPAR - Londrina - PR
- Carlos Roberto F. Brandão (1) Museu de Zoologia - SP
- Edna Castilho Leal (1) EMBRAPA/CPATC - Aracaju - SE
- Edna Dora M. N. Luz (1) CEPLAC/CEPEC
- Edson Lopes Lima (1) CEPLAC/SUPOR
- Fábio Gelape Faleiro (2) EMBRAPA CERRADOS
- Fernando Antonio Teixeira Mendes (1) CEPLAC/SUPOR
- Luiza Nakayama (1) CEPLAC/SUPOR
- Mario Lúcio V. Resende (1) UFLA/Lavras - MG
- Manfred Willy Muller (1) CEPLAC/ESOMI
- Messias Gonzaga Pereira (3) UENF/ CCTA/ RJ
- Milton Macoto Yamada (3) CEPLAC/CEPEC
- Paulo Sergio B. de Albuquerque (1) CEPLAC/SUPOR
- Raul René Valle (1) CEPLAC/CEPEC
- Roland Vencovsky (1) ESALQ/USP
- Ronam Xavier Correa (2) UESC - BA
- Salvador Trevizan (1) UESC - BA
- Saulo de Jesus Soria (1) EMBRAPA UVA E VINHO - RS
- Wilson B. Crócomo (1) UNESP/FCAV - SP

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

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