

revista
THEOBROMA



ANO 4- JULHO-SETEMBRO - 1974 Nº 3

Ilhéus-Brasil

REVISTA THEOBROMA

Julho - setembro 1974

Ano IV Nº 3

Publicação trimestral dedicada à divulgação de investigação científica relacionada com problemas agrônômicos e sócio-econômicos de áreas cacauceiras. Editada pelo Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), Departamento da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC).

COMISSÃO EDITORIAL

Alvim, Paulo de T.
Cruz, Luiz C.
Sales, José C. de
Vello, Fernando

ASSESSORES CIENTÍFICOS

Aitken, William M.
Alencar, Maria H.
Alvim, Ronald
Barroco, Hélio E.
Barros, Raimundo S.
Cabala R., F. Percy
Carletto, Geraldo A.
Loureiro, Edmar S.
Maravalhas, Nelson
Mariano, Antônio H.
Medeiros, Arnaldo G.
Menezes, José A. S.
Miranda, Emo Ruy de
Pereira, Clovis P.
Rocha, Hermínio M.
Silva, Luiz F. da
Silva, Pedrito
Ventocilla, José A.

Endereço para correspondência (Address for correspondence):

Revista Theobroma
Centro de Pesquisas do
Cacau (CEPEC).
Caixa Postal 7
45.600 - Itabuna-Bahia
Brasil

Tiragem
3.000 exemplares

CONTEÚDO

1. *The possible role of abscisic acid and cytokinins in growth rhythms of Theobroma cacao L.* R. Alvim, P. de T. Alvim, R. Lorenzi e P. F. Saunders. 3

Fitormônios e ritmos de crescimento em *Theobroma cacao* L. (Resumo) p. 11.

2. *Mortalidade dos polinizadores Forcipomyia spp. (Diptera, Ceratopogonidae) causada pela aplicação de inseticidas nos cacauais baianos.* S. de J. Soria e J. M. Abreu. 13

Mortality of *Forcipomyia* spp. midges (Diptera, Ceratopogonidae) following insecticide applications in Bahian cocoa plantations. (Summary) p. 25.

3. *Nematodes of the cocoa region of Bahia, Brazil. IV - Nematodes in the rhizospheres of pepper (Piper nigrum L.) and clove (Eugenia caryophyllata Thunb.).* R. D. Sharma e P.A.A. Loof. 26

Nematódios da região cacauceira da Bahia, Brasil. IV - Nematódios na rizosfera de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) e cravo-da-Índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). (Resumo) p. 31.

NOTA

- Patogenicidade do Bacillus thuringiensis Berliner contra o "mandaruvá" da seringueira (Erinnyis ello L.) (Lepidoptera: Sphingidae).* J. M. Abreu. 33

Pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* Berliner against the rubber leaf caterpillar (*Erinnyis ello* L.) (Lepidoptera: Sphingidae). p. 35.

THE POSSIBLE ROLE OF ABSCISIC ACID AND CYTOKININS IN GROWTH RHYTHMS OF *Theobroma cacao* L.*

R. Alvim **

P. de T. Alvim ***

R. Lorenzi ****

P. F. Saunders ****

In the State of Bahia, Brazil, cacao buds are usually dormant between May and August. From September to April the tree shows intermittent growth, when periods of rest alternate with periods of profuse bud activity, the latter comprising two main flushings in September/October and February/March, sometimes with two or three minor ones between October and February (3).

The influence that climatic factors exert upon growth periodicity of tropical species is not so easy to understand as in plants of temperate regions, where well defined changes in environmental conditions occur. Nevertheless, cycles of leaf flushing in the cacao tree are undoubtedly under the influence

of such factors. Temperatures below 28°C were reported to be unfavourable to flushing (8). A relatively small temperature rise during the rest period (from 21-23 to 24-27°C) has been suggested to be necessary for leaf bud burst in Bahia (3). Bud growth in Trinidad was also correlated with the occurrence of a relatively dry period after the rainy season or, conversely, with the beginning of rains after a dry period (11). The March/April flush of cacao in Ghana was associated with the onset of rains (9). Cacao in Bahia undergoes intensive flushing when rains follow a dry spell (4). Observations under controlled soil moisture conditions have shown that depletion of soil water results in abundant flushing almost immediately after cacao has been wa-

* Received for publication in July, 1974. Portion of a Ph.D. thesis submitted to the University of Wales, Aberystwyth, Wales, U.K.

** Ph.D., Division of Plant Physiology, CEPEC.

*** Ph.D., Division of Plant Physiology, CEPEC.

**** Ph. D, Department of Botany and Microbiology, University of Wales, Aberystwyth, Wales, U.K.

tered, whilst plants continuously irrigated eventually cease flushing (14). The frequency and quantity of rains also affect leaf fall in cacao, which occurs in greater intensity during the dry periods. Leaf abscission in Bahia takes place throughout the year, but is particularly conspicuous during the major peaks of leaf flushing (3).

On the other hand, bud growth in cacao appears to be held in check simply by correlative inhibition exerted by the mature leaves of the shoot, since defoliation experiments have been shown effective in bringing about flushing even from May to August, the response being proportional to the number of leaves removed (3).

In view of these facts, Alvim et al (4) proposed an explanation for the growth rhythm of cacao from September to April, when temperature in Bahia is not a limiting factor. The hypothesis postulates a **hydroperiodic** reaction to the environment, which would involve hormonal changes, starting with a possible increase in the abscisic acid (ABA) content of the mature leaves, triggered by a dry spell, and the consequent formation of abscission layers in these leaves. It is well known that water stress can bring about large increases of ABA in leaves of many species (13, 16, 19) and that this inhibitor is involved in abscission (17). As a consequence of leaf abscission, the amount of ABA translocated

from the leaves to the shoot tips would decrease. Bud growth would be expected to occur soon after the abscission process starts or, in case of severe drought, with the onset of rains, as a result of a shift in the hormonal content of the terminal buds towards growth promoting substances. The defoliation experiments cited above have also been taken to indicate that promoters produced by the roots are involved in the control of bud growth in cacao. This possibility is supported by the observation that if some branches are girdled bud growth is promoted on intact branches.

The following account describes the identification of abscisic acid and the detection of cytokinin activity in extracts of cacao buds. Additionally, the hypothesis that short periods of water stress increase the ABA content of cacao leaves and that defoliation is capable of modifying the inhibitor/promoter balance of the terminal buds of this plant have been tested.

MATERIALS AND METHODS

Abscisic acid was identified in cacao buds by combined gas-liquid chromatography/mass spectroscopy. Leaf buds were harvested in liquid nitrogen and freeze-dried at the Centro de Pesquisas do Cacau in Bahia, Brazil, and then sent by air mail to the University of Wales, in Aberystwyth, U. K., where they were extracted and purified for qualitative analysis by gas-liquid

chromatography (GLC) by the method of Lenton et al (10).

A severe drought (total rainfall of approximately 60 mm) occurred in the area selected for the defoliation experiment during the months of January and February and all trees were dormant when the treatments were applied. The treatments given consisted of defoliating five equally illuminated shoots from each of 20 cacao trees on three separate occasions (14, 19 and 24/2/73). One hundred terminal buds were harvested from each treatment on the day following the last defoliation. At the same time an equal number of control buds were excised from shoots which had been left intact. On this date, despite the little rainfall, bud growth was apparent in the shoots which had been defoliated on 14/2 and 19/2/73. Quantitative analysis of ABA by GLC was performed as described by Alvim (5). Briefly, radioactive abscisic acid was added as internal standard and the tissues were homogenized and extracted in 80% aqueous methanol, using 100 ml of solvent per gram dry weight of buds. The methanol was evaporated and the resulting aqueous solutions centrifuged and acidified to pH 2.6. ABA was then extracted in three equal volumes of diethyl ether. The remaining aqueous fractions were kept frozen for cytokinin bioassays and the ether layers were combined, reduced to dryness, taken up in a suitable volume of 5% sodium bicarbonate and their pH was adjusted to 7.0.

The resulting solutions were slurried in water washed polyvinylpyrrolidone powder, filtered, acidified to pH 2.6 and re-extracted in ether as before. After evaporation of the ether the extracts were chromatographed on thin-layer plates, methylated and gas-chromatographed.

Aqueous phases from the first ether partition were taken to pH 8.0 and extracted in three equal volumes of water saturated normal butanol. The butanol was dried and the residues redissolved in a small volume of 80% ethanol for paper chromatography in isopropanol:ammonia:water, 10:1:1 (v/v/v). Soybean callus assays (12) were performed with an amount of extract equivalent to 1.54 grams dry weight of buds. These bioassays were repeated twice.

The effect of moisture stress on the ABA content of cacao leaves was determined by applying different irrigation regimes to 6 month old seedlings growing in 12 x 28 cm pots. Water which had been applied daily was stopped on different days so that the plants were harvested after 8, 6 or 4 days of no water. Each treatment consisted of 10 seedlings from each of which five selected leaves were harvested. The tissues were macerated, extracted and analysed as previously described. The water potential of the leaves was measured at harvest by means of a pressure chamber (15).

RESULTS AND DISCUSSION

In Figure 1 the ABA contents of leaves subjected to various levels of moisture stress are presented and in Figure 2 the variation in leaf water potential. As the period of imposed drought increased there was an increase in the amount of ABA found in the leaves. After 8 days of no water wilting had still not occurred in the test plants although this did start to develop 10 days after water began to be withheld in some of the border plants, when very low leaf water potentials were found for these plants (Figure 2).

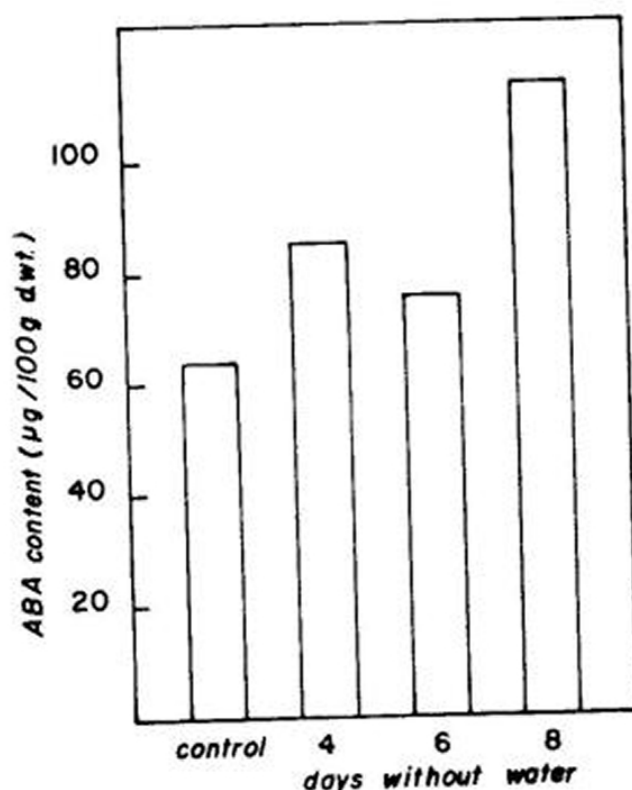


Figure 1 - Abscissic acid contents of cacao leaves subjected to a varying number of days of imposed drought.

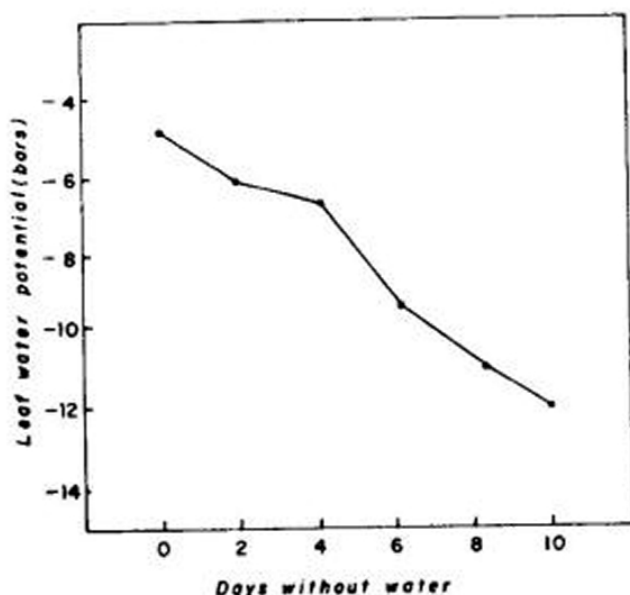


Figure 2 - Changes in leaf water potential in plants subjected to different levels of moisture stress.

Figure 3 shows the effect of defoliation on the amount of ABA in the buds. In Figure 4 are shown the results for the soybean callus bioassays. Following defoliation ABA levels decreased markedly and cytokinin activity increased, both effects occurring before bud out-growth.

Combined gas-liquid chromatographic/mass spectroscopy confirmed the identity of the ABA peak previously recorded by gas-liquid chromatography alone.

The hypothesis that shoot growth is influenced by a hormone formed in the roots was first put forward by Went (18), who used the name *caulocaline* to refer to this hypothetical root promoter. More recently, Doorembos (6) suggested that

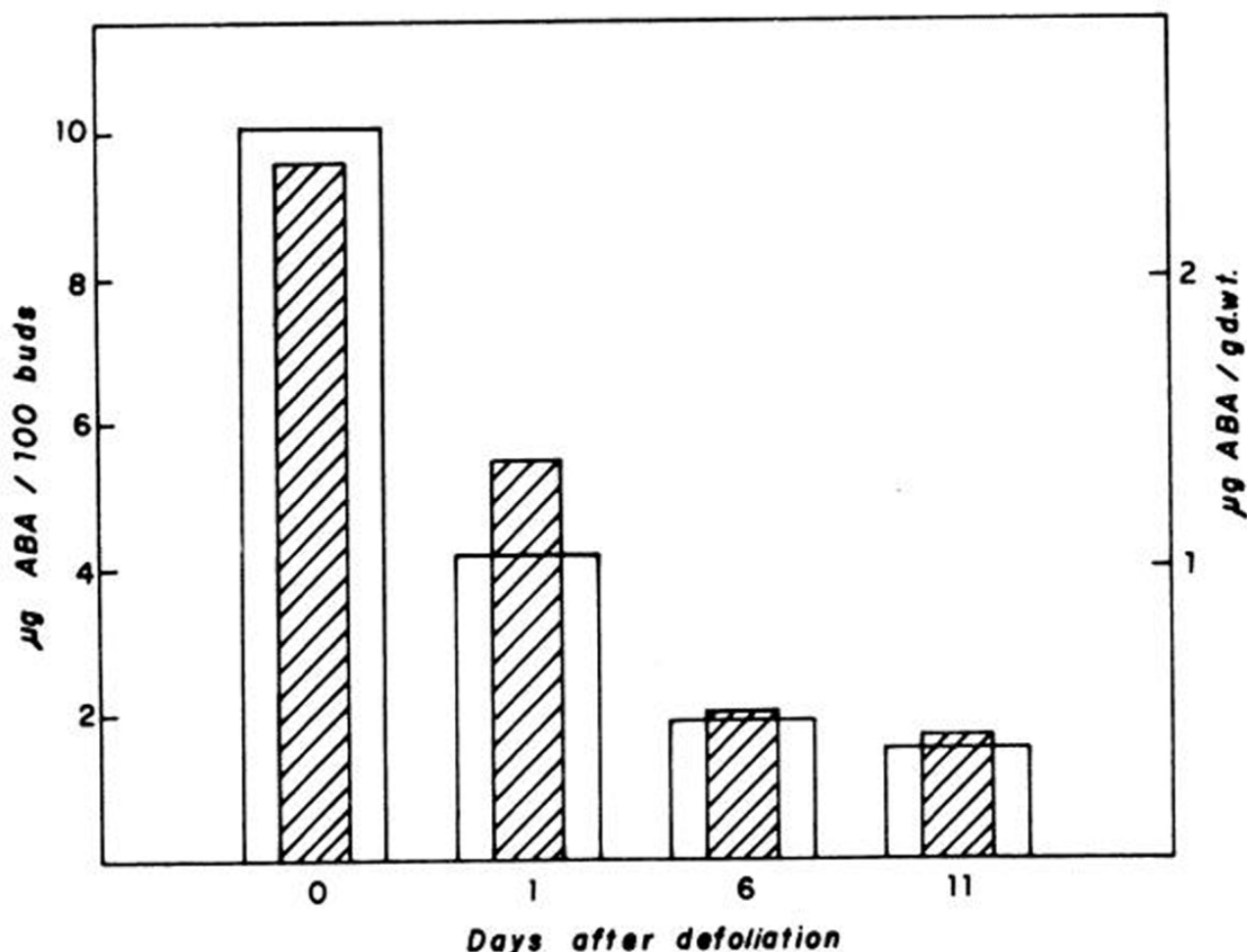


Figure 3 – The effect of defoliation on the ABA content of cacao buds. Concentrations expressed as $\mu\text{ ABA/g dry weight}$ represented by hatched columns and as $\mu\text{ ABA/100 buds}$ by open columns.

growth periodicity is under the influence of inhibitory substances produced by the leaves and stimulating factors originating in the roots. The evidence obtained in the present work gives support to this view and is in agreement with suggestion by Alvim et al (4) concerning the role of ABA in the control of shoot growth in cacao. During the inter-flush periods growth of cacao buds seems to be held in check by a direct inhibitory effect of ABA produced by the foliage. The results indicate also that

cytokinins play an important role in the mechanism of flushing.

An analogy could be tentatively traced between the processes leading to an inter-flush period in the cacao tree and the gradual decrease of extension growth occurring during the preparative stages for dormancy in temperate species (5). In both cases, an inhibitor/promoter balance appears to be involved. It could be suggested that, with the development of an increasing leaf area, more and more ABA is translocated from the leaves to the grow-

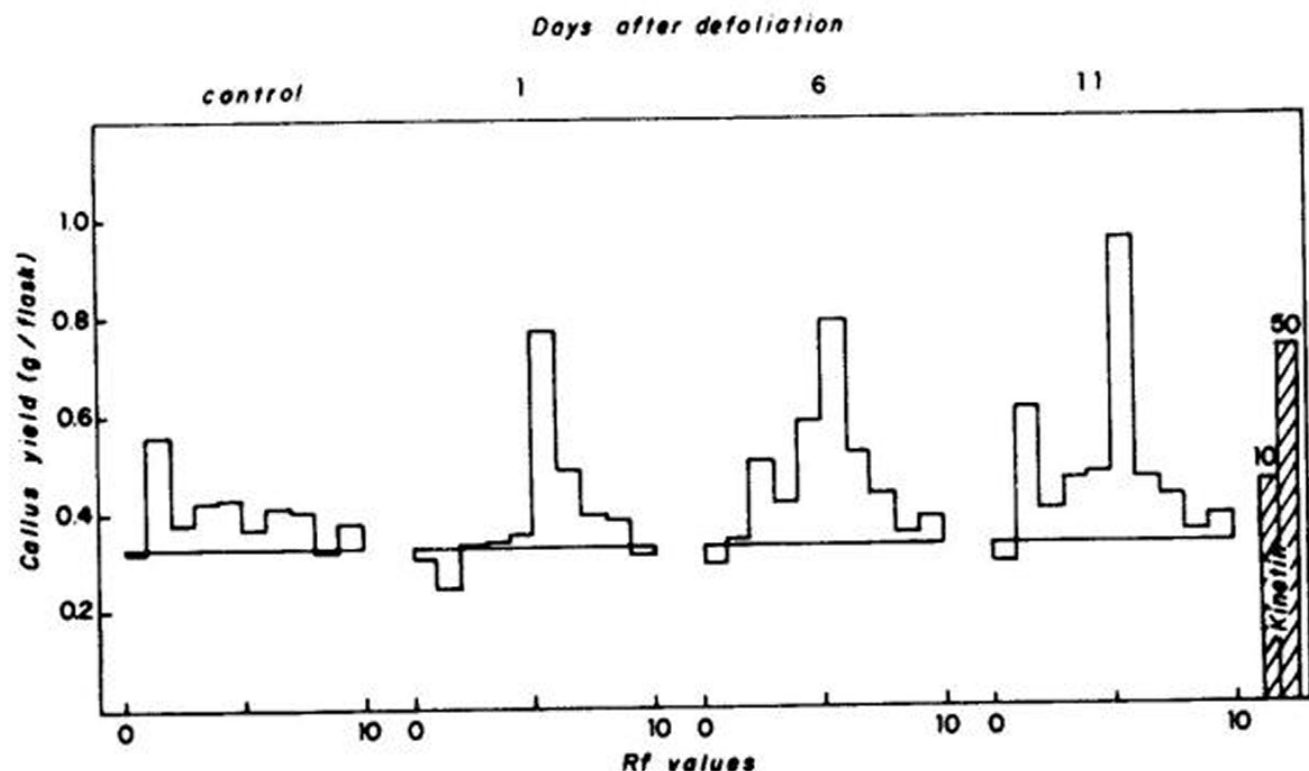


Figure 4 – The effect of defoliation on the cytokinin activity of cacao buds, as assessed by the soybean callus bioassay. Kinetin controls in μ / l .

ing points and larger amounts of root cytokinins are diverted to the leaves. The inhibitor/promoter ratio in the shoot tips would consequently be gradually increased. A situation may be reached in which the leaf area attains a **critical** value, at which the action of ABA totally overcomes the growth effects of cytokinins and other promoters. For growth to be resumed following this state of total correlative inhibition, the **critical** leaf area would have to be somewhat reduced. Perhaps at this stage a dry spell, which appears to enhance or even to be obligatory for the renewal of growth in some species, would exert its role. A **critical** number of water stressed leaves could increase ABA levels to the point of inducing

the formation of abscission layers. These layers would act as barriers against both the diversion of root cytokinins to the leaves and leaf ABA to the shoot tips, thus triggering the mechanism of growth flushes.

It is noteworthy that leaf abscission in cacao is highly correlated with soil moisture: when a dry period follows a wet or medium period, leaves of different ages are shed intensively. In plants continuously irrigated many of the original leaves still remain after nearly 600 days and these plants stop flushing (14). It is also relevant that young cacao plants do not show the seasonal growth periodicity of mature trees, flushing

episodically throughout the year, even during periods of lower temperatures and shorter days (2). This may have ontogenic reasons, but could be equally due to the fact that the total leaf area of small plants is not large enough to maintain the apex inhibited through an adverse ABA/cytokinin balance when large supplies of cytokinins are available from a rapidly developing root system. A similar situation occurs in other intermittently growing species (1, 7). It is known that cacao trees on the outskirts of a plantation flush earlier than those in the centre (8), this probably being the result of higher exposure to the factors which increase transpiration and could lead to an earlier formation of abscission layers. The correlation between flushing of cacao and maxi-

mum air temperatures reported by Humphries (8) could also be due to the indirect effect of high temperatures on transpiration. Alvim et al (4) observed that when a drought occurred in June/July, 1971, which are normally the wettest months of the year in Bahia, an off-season leaf fall was followed by a conspicuous flushing in July/August. Flushing during this period of the year is rarely observed in Bahia.

The above mentioned observations together with the results reported in this work, lend support to the theory according to which internal moisture stress, apparently because of its effect on ABA/cytokinin balance within the vegetative buds, would be the primary stimulus for synchronous growth flushes in mature cacao trees as normally observed under field conditions.

LITERATURE CITED

1. ALVIM, P. de T. Tree growth periodicity in tropical climates. *In* Zimmermann, N.H., ed. Formation of wood in forest trees. New York, Academic Press, 1964. pp. 479-495.
2. ———. Eco-physiology of the cacao tree. *In* Conference Internationale sur les Recherches Agronomiques Cacaoyères. Abidjan, 15-20 novembre, 1965. Paris, Jouve, 1967. pp. 23-25.
3. ———, MACHADO, A.D. and GRANGIER Jr., A. Alguns estudos sobre as relações de água, solo e crescimento do cacaueiro. *In* Conferência Internacional de Pesquisas em Cacau, 2a., Salvador e Itabuna, Bahia, Brasil, 19 a 26 de novembro, 1967. Itabuna, Centro de Pesquisas do Cacau, 1969. pp. 316-324.
4. ———, MACHADO, A.D. and VELLO, F. Physiological responses of cacao to environmental factors. *In* International Cocoa Research Conference, 4th., Trinidad and Tobago, 1972.

5. ALVIM, R. Studies on endogeneous hormones in relation to dormancy in wood plants. Ph.D. Thesis. Aberystwith, University of Wales, 158 p. 1973.
6. DOOREMBOS, J. Review of the literature on dormancy in buds of wood plants. Mededelingen van de Landbouwhogeschool te Wageningen (Nederland) 53:1-24. 1953.
7. HOLDSWORTH, M. Intermitent growth of the mango tree. Journal of Western Africa Science Association 7 : 163-171. 1973.
8. HUMPHRIES, E.C. A consideration of the factors controlling the opening of buds in the cacao tree (*Theobroma cacao* L.) Annals of Botany (n. s.) 8:259-267. 1944.
9. HURD, R.G. and CUNNINGHAM, R.K. A cocoa shade and manurial experiment at the West Africa Cocoa Research Institute. III. Physiological results. Journal of Horticultural Science 36:126-127. 1961.
10. LENTON, J.R., PERRY, V.M. and SAUNDERS, P.F. The identification and quantitative analysis of abscisic acid in plant extracts by gas-liquid chromatography. Planta (Germany) 96:271-280. 1971.
11. McDONALD, J.A. An environmental study of the cacao tree. Part I. In Imperial College of Tropical Agriculture. Annual Report on Cacao Research 1:29-38. 1971.
12. MILLER, C.O. In Modern methods of plant analysis. Linkskens, H. F. and Tracey, M.V., eds. Berlin, Springer Verlag, 1963. p.194.
13. MOST, B.H. ABA in immature apical tissue of sugar cane and in leaves of plants exposed to drought. Planta (Germany) 101:67-75. 1971.
14. SALE, P.J.M. Growth, flowering and fruiting of cacao under controlled soil moisture conditions. Journal of Horticultural Science 45:99-118. 1970.
15. SCHOLANDER, P.F. et al. Sap pressure in vascular plants. Science (U.S.A.) 148:339-346. 1965.

16. SIMPSON, G.M. and SAUNDERS, P.F. Absciscic acid associated with wilting in dwarf and tall *Pisum sativum*. *Planta* (Germany) 102: 272-276. 1972.
17. WAREING, P.F. and PHILLIPS, I.D.J. The control of growth and differentiation in plants. Asprey, G.F. and Lyon, A.G., eds. Oxford, Pergamon Press, 1970. 303 p.
18. WENT, F.W. Specific factors other than auxins affecting growth and root formation. *Plant Physiology* 13:55-80. 1938.
19. WRIGHT, S.T.C. and HIRON, R.W.P. ($\pm$) Absciscic acid, the growth inhibitor induced in detached wheat leaves by a period of wilting. *Nature* (England) 224:719-720. 1969.

SUMMARY

Absciscic acid was identified in extracts of cacao buds by combined gas-liquid chromatography/mass spectroscopy. Cytokinin activity was detected in these extracts by biological assay. Both hormones were found to vary in concentration in response to defoliation treatments. ABA levels in the leaves increased following depletion of soil moisture. The possible role of these hormones in the control of bud growth is discussed.

It is suggested that a **feed-back** inhibition may operate in cacao and other species of intermittent growth, in that shoot growth can eventually become limited by a critical leaf area. According to this hypothesis, internal moisture stress, which appears to be a prerequisite for synchronous flushing of cacao under field conditions, would trigger the hormonal control of bud growth, thanks to its effect on leaf shedding or on the formation of abscission layers.

FITORMÔNIOS E RITMOS DE CRESCIMENTO EM *Theobroma cacao* L.

RESUMO

Através de cromatografia gas-líquida e espectroscopia de massa, identificou-se ácido abscísico em extratos de gemas vegetativas do cacaueiro. Constatou-se ainda a presença de citocininas nestes extratos, através de sua atividade no crescimento de calos cotiledonais de soja.

As concentrações desses hormônios nas gemas terminais variaram quando se retiraram as folhas de seus ramos. Mostrou-se ainda que os níveis de ácido abscísico nas folhas aumentam à medida que diminui a disponibilidade de água para a planta.

Discutem-se os possíveis papéis desses hormônios na dormência da gema vegetativa do cacaueiro.



MORTALIDADE DOS POLINIZADORES *Forcipomyia* spp.
(DIPTERA, CERATOPOGONIDAE)
CAUSADA PELA APLICAÇÃO DE INSETICIDAS
NOS CACAUAIS BAIANOS *

Saulo de Jesus Soria **

João Manuel Abreu ***

O uso de inseticidas com amplo espectro de ação, como o BHC, para combater as pragas do cacauero na Bahia, tem originado controvérsias. Não se conhece em profundidade o grau de benefício dessa prática em confronto com a sua influência sobre as populações de polinizadores.

A avaliação do efeito de inseticidas na entomofilia do cacauero tem sido feita por métodos indiretos, nos quais foram considerados a polinização, frutificação e produção, na pressuposição de que estes fenômenos são o resultado da interferência dos polinizadores. Cardona (1), na Colômbia, estudou a influência de sete inseticidas na polinização e frutificação do cacauero, tendo verificado que o BHC e o Dieldrin, nas dosagens comerciais foram os menos preju-

juiciais. Stelzer e colaboradores (12), na Costa Rica, concluíram que aplicações de Dieldrin ou de DDT não tiveram efeito adverso na polinização do cacauero, tendo, pelo contrário, proporcionado maior produção. Ainda na Costa Rica, Knoke e Saunders (7), ao estudarem a influência do Carbaryl, Malathion, Dieldrin e Dimetoato no desenvolvimento da flor e produção de frutos, constataram que o Carbaryl aumentou a produção total de frutos, enquanto o Malathion, Dieldrin e Dimeotato, em ordem decrescente, tiveram efeito adverso, quando comparados com a pulverização com água.

Em Gana, Entwistle e Hurd (4) realizaram experimentos para verificar o efeito de pulverizações mensais com Lindane e Dieldrin sobre a polinização e fertilização

* Recebido para publicação em agosto, 1974.

** Ph.D., Divisão de Fitoparasitologia, CEPEC.

*** M.S., Divisão de Fitoparasitologia, CEPEC.

das flores do cacaueiro e número de mosquinhas ceratopogonídeas. Os resultados obtidos mostraram que estes inseticidas provocaram diminuição de população dos insetos polinizadores, não se encontrando diferenças aparentes na sua densidade e nos índices de fertilização. Sobre este experimento, Entwistle (3) opina que os resultados negativos do efeito do Lindane e Dieldrin sobre os níveis de polinização e frutificação podem ser intensificados quando são tratadas grandes áreas por um período muito prolongado. Estudos realizados por Ventocilla (14), na Bahia, indicam que o BHC 1% (pó), aplicado por meio de helicóptero provocou uma insignificante diminuição na polinização dos cacaueiros.

Num estudo preliminar efetuado pelos autores, em agosto de 1972, no CEPEC, Ilhéus, Bahia, foi verificado que o polvilhamento de cacauais com BHC 1,5% provocou um declínio de 90% na população de *Forcipomyia* spp. O estudo foi efetuado em área onde estavam sendo feitas amostragens diárias de polinizadores para determinação das curvas de flutuação populacional. A falta de um esquema apropriado de experimentação para determinar mortalidades, considerando a flutuação em área não polvilhada, não permitiu estabelecer conclusões sobre o efeito do inseticida nestas populações.

Com base nos trabalhos acima referidos, foi realizada a presente

pesquisa para avaliar o efeito de três inseticidas em termos de mortalidade de polinizadores. O nome *Forcipomyia*, neste trabalho, abrange as espécies *Forcipomyia* (*Forcipomyia*) *genualis* (Loew) e, em menor frequência, *F. (Forcipomyia) pictoni* Macfie e *F. (Forcipomyia) spp.* (10). O nome *Euforcipomyia* abrange as espécies *Forcipomyia* (*Euforcipomyia*) *sp.* 1 e, em menor frequência, *F. (Euforcipomyia) spatulifera* Saunders (10).

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios que se descrevem a seguir foram conduzidos em áreas experimentais do CEPEC durante as épocas de maior intensidade de população de polinizadores (maio-agosto)*, nos anos de 1973 e 1974.

Ensaio I.

Nesse ensaio, foi feita a avaliação da mortalidade de *Euforcipomyia* e *Forcipomyia* como resultado de polvilhamentos com BHC 1,5%, Carbaryl 7,5% e Parathion metílico 1,5%, aplicados à razão de 16 kg/ha. Para cada inseticida, foi destinada uma parcela de 625 m², em cujo centro foram tomados, ao acaso, 10 cacaueiros, sob os quais foram estendidos lençóis de 4 x 4 m. A seguir, proce-

* Observação feita pelo autor principal em pesquisa ainda em andamento.

deu-se ao tratamento das parcelas, às primeiras horas da manhã. As coletas dos insetos foram feitas 2; 6 e 24 horas após o tratamento. Ao final destas coletas, procedeu-se ao tratamento de choque das árvores amostradas com BHC 12%, de acordo com o método de Collyer (2). As coletas dos indivíduos mortos pelo tratamento de choque foram feitas 2; 6 e 24 horas após a sua aplicação. Foi usada uma lupa manual com aumento de 10x para distinguir microdípteros dos demais microinsetos presentes nos lençóis. Os microdípteros de cada árvore foram coletados e acondicionados em frascos pequenos com álcool 70% e conduzidos ao laboratório para posterior identificação genérica e quantificação com o auxílio de estereomicroscópio. A população adulta total foi calculada somando-se o total de insetos mortos devido à ação de cada inseticida ao total de insetos mortos por aplicação do BHC 12%.

Ainda neste ensaio, foram utilizadas duas parcelas adicionais, com níveis de floração contrastantes, também com 625 m², em cujo centro foram tomados, ao acaso, 10 cacaueiros. Nestas parcelas, foram avaliadas, pelo método de choque, as populações dos polinizadores a fim de verificar a interferência da floração sobre a sua população.

Ensaio II.

Efetuada 1 ano após o ensaio anterior, do qual diferiu pelo ta-

manho das parcelas (2.500 m²), método de contagem da população adulta total e por terem sido tomados, ao acaso, cinco cacaueiros no centro das parcelas. Como no ensaio anterior, foi empregado o método de choque, tendo sido somados os números de insetos mortos encontrados nos lençóis 24 horas após a aplicação do inseticida (tratamento) e número de insetos mortos por aplicação do BHC 12%. A diferença de tamanho das parcelas se deveu a um dos objetivos do ensaio, ou seja, verificar os efeitos da bordadura sobre as avaliações de mortalidade.

Ensaio III.

Neste ensaio, foi feita a avaliação da mortalidade de *Forcipomyia* spp., contando-se o número de insetos sobreviventes após polvilhamento com BHC 1,5% aplicado à razão de 16 kg/ha em duas parcelas de 2.500 m² cada. No meio de cada uma delas, foram etiquetadas 36 plantas, nas quais eram efetuadas amostragens semanais das populações.

As amostragens foram feitas pela observação visual dos polinizadores presentes nos botões florais, pétalas, estaminóides, sépalas, ápices secos de folhas e frutos pecos até a altura de 1,80 m, entre as 8:00 e 10:00 horas, antes e depois do polvilhamento, sendo os dados registrados em cartões individuais para cada árvore (9).

A avaliação foi feita comparando-se o número de indivíduos ob-

servados nas 36 árvores tratadas, em relação às 36 não tratadas. A percentagem de mortalidade dos polinizadores foi calculada pela fórmula de Henderson e Tilton (5).

$$\% = 100 \left| 1 - \frac{A \times B}{C \times D} \right|$$

em que

- A = número de insetos contados após o polvilhamento;
 B = número de insetos contados na testemunha, antes do polvilhamento;
 C = número de insetos contados antes do polvilhamento;
 D = número de insetos contados na testemunha, depois do polvilhamento.

Os dados foram tomados semanalmente, por um período de 21 dias, para se observar se ocorreria restauração da população aos níveis anteriores ao polvilhamento.

RESULTADOS

Ensaio I.

A mortalidade de *Euforcipomyia* e *Forcipomyia*, após a aplicação do BHC 1,5%, foi de 75 e 36%, respectivamente. As mortalidades, após a aplicação do Parathion metílico, foram de 44 e 46% para *Euforcipomyia* e *Forcipomyia*, respectivamente, enquanto que pela ação do Carbaryl foram de 68 e 69%, respectivamente (Quadro 1).

A tendência das curvas de mortalidade de *Euforcipomyia* e *Forcipomyia* por ação do BHC mostra que a mortalidade mais elevada ocorreu 2 horas após o tratamento, caindo a níveis mínimos 6 horas após o mesmo e, daí em diante, aumentou em graus variáveis mas não atingiu os níveis iniciais (Figuras 1 e 2). A tendência das curvas de mortalidade, sob a ação do Parathion metílico e do Carbaryl, para os mesmos polinizadores, foi simi-

Quadro 1 — Populações de *Forcipomyia* spp. e sua mortalidade (%) 24 horas após o polvilhamento com diversos inseticidas (avaliação feita pelo método de choque). CEPEC, julho, 1973.

Inseticida	<i>Euforcipomyia</i>		<i>Forcipomyia</i>	
	Nº	%	Nº	%
BHC 1,5%	740	75	993	36
Carbaryl 7,5%	34	68	63	69
Parathion metílico 1,5%	35	44	52	46

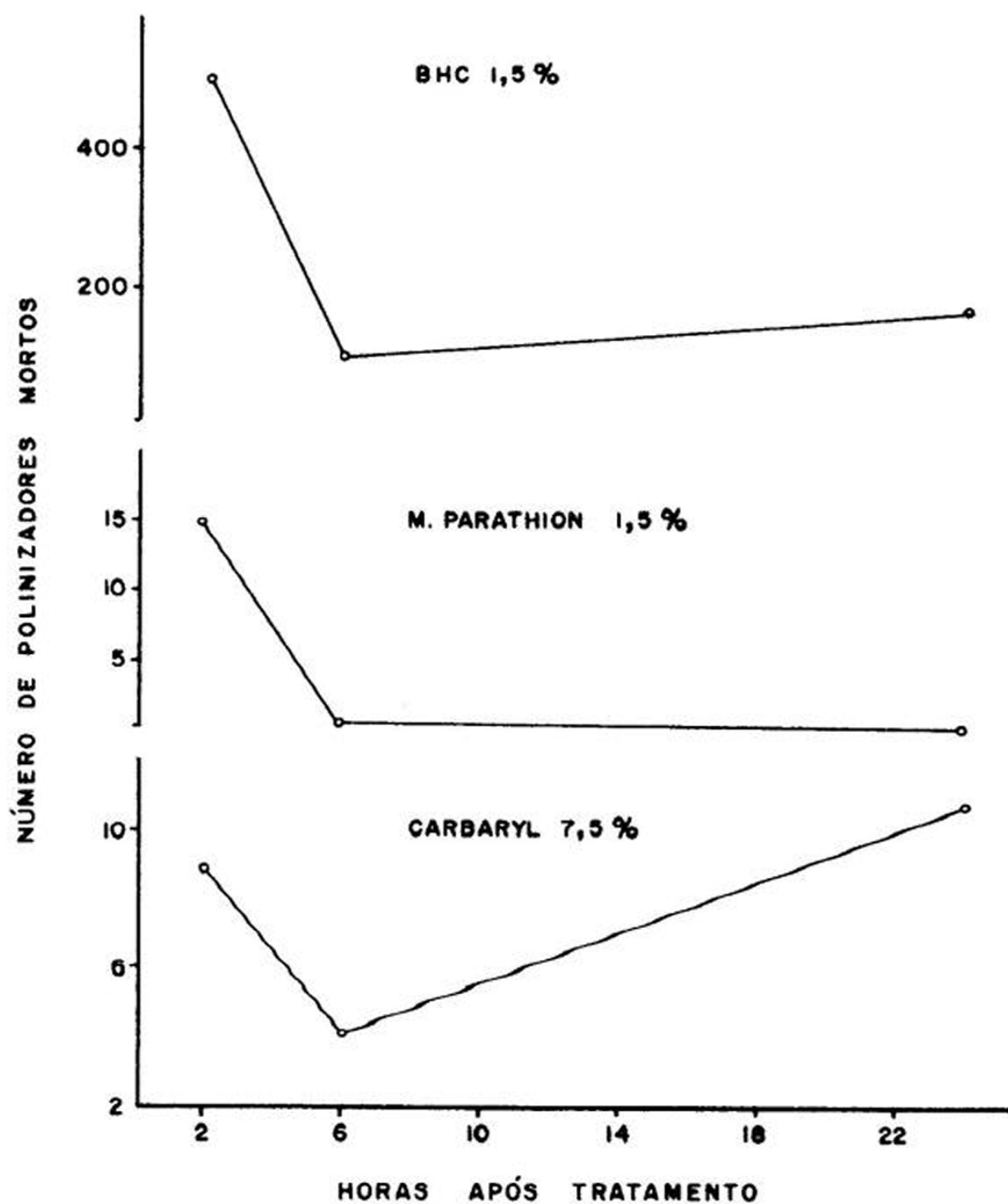


Figura 1 – Mortalidade de *F. (Euforcipomyia) spp.* após polvilhamentos com inseticidas em parcelas experimentais do CEPEC, Bahia, Brasil, agosto-setembro/73.

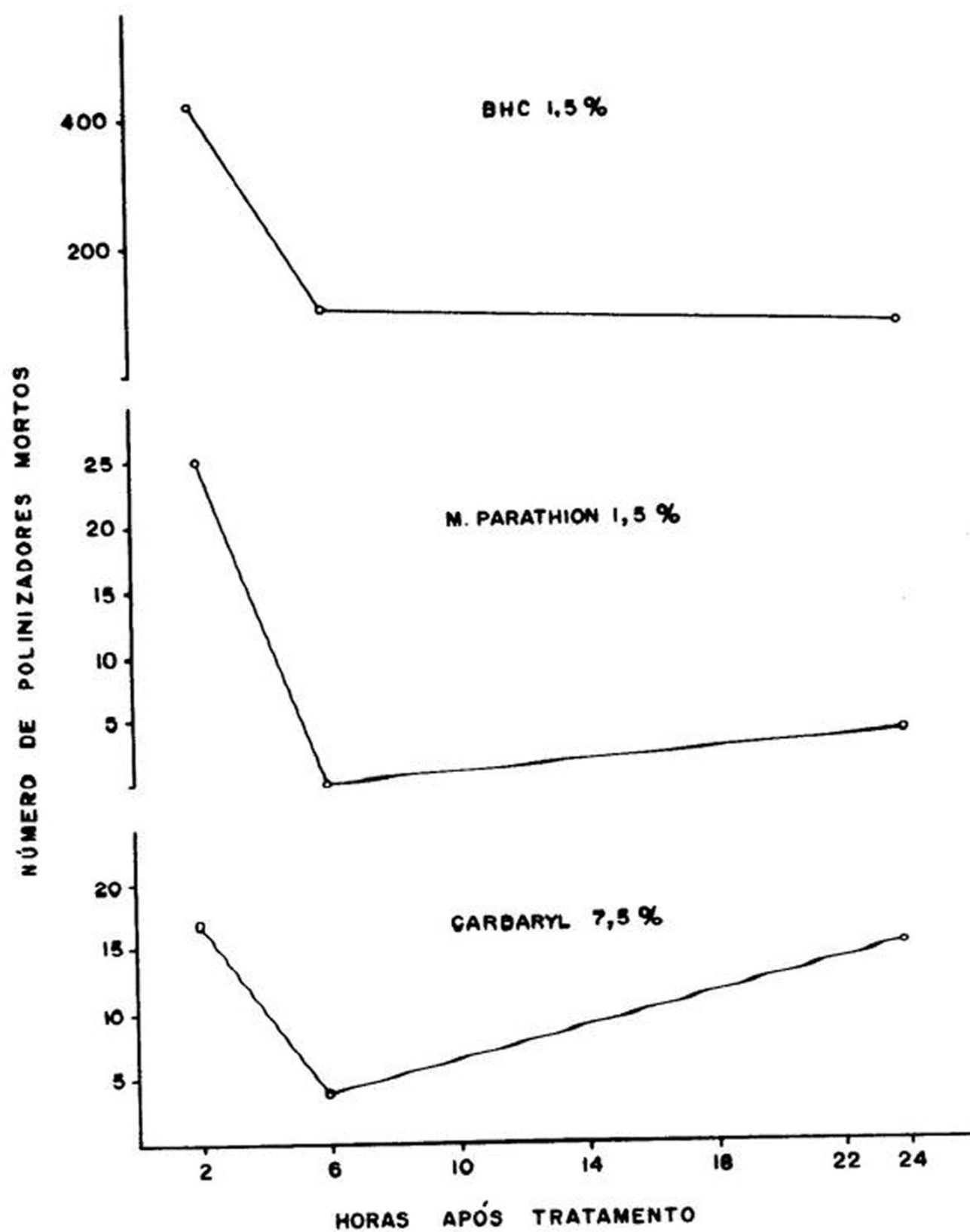


Figura 2 — Mortalidade de *F. (Forcipomyia) spp.* após polvilhamento com inseticidas em parcelas experimentais do CEPEC, Bahia, Brasil, agosto-setembro/73.

lar à encontrada para o BHC (Figuras 1 e 2).

Os resultados relacionados com a abundância de polinizadores face a níveis contrastantes de floração (Quadro 2) indicaram que as populações de polinizadores na parcela com densidade baixa de floração foi mais do que o dobro da encontrada na parcela com densidade alta de floração (32 vezes superior).

Ensaio II.

Os resultados relacionados com a determinação de mortalidade pelo método de choque indicaram que as de *Euforciomyia* e *Forciomyia*, após aplicação de BHC 1,5% (Quadro 3), foram 79% para ambas as espécies. As mortalidades de *Euforciomyia*, após aplicação de Carbaryl e Parathion metílico, foram de 70 e 83%, respectivamente,

enquanto para *Forciomyia* foram de 66 e 87%, respectivamente.

Ensaio III.

Os totais de mosquinhos encontradas nas 36 árvores amostradas na área tratada e testemunha podem ser observados no Quadro 4. Sobre os totais apresentados neste quadro, foi observada uma mortalidade de 91% de mosquinhos *Forciomyia* spp.

Os resultados relacionados com a determinação do período de restauração das populações (Quadro 5) na parcela polvilhada, face à testemunha, indicaram que o nível inicial de população, aproximadamente 166 mosquinhos por parcela, foi recuperado 1 semana após o polvilhamento, seguido de um incremento progressivo nas 2 semanas de observação seguintes.

Quadro 2 — Número de flores e populações acumuladas de *Forciomyia* spp. em duas parcelas de 10 cacaueiros cada, com densidade contrastante de floração. CEPEC, julho, 1973.

Floração	Número de flores	Níveis de populações	
		<i>Euforciomyia</i>	<i>Forciomyia</i>
Densidade alta (A)	2896	294	422
Densidade baixa (B)	90	740	983
Relação A/B	32/1	1/2	1/2

Quadro 3 — Populações de *Forcipomyia* spp. e sua mortalidade (%), 24 horas após o polvilhamento com diversos inseticidas, em duas parcelas de cinco cacaueiros cada (avaliação feita pelo método de choque). CEPEC, julho, 1974.

	<i>Euforcipomyia</i>	<i>Forcipomyia</i>	Média
BHC 1,5 — Tratamento	31	64	
Choque	8	17	
%	79	79	79
Carbaryl 7,5%			
Tratamento	30	53	
Choque	13	27	
%	70	66	68
Parathion metílico 1,5%			
Tratamento	66	137	
Choque	14	21	
%	83	87	85

Quadro 4 — Totais de mosquinhas *Forcipomyia* spp. encontradas nas 36 árvores tratadas e não tratadas antes e depois da aplicação do BHC 1,5%. CEPEC, julho-agosto, 1974.

	Tratamento		Testemunha	
	Antes	Depois	Antes	Depois
Insetos	166	14	224	221
Mortalidade (%)	—	91	—	—

DISCUSSÃO

A avaliação de populações de polinizadores em parcelas com níveis contrastantes de floração permitiu comprovar que o método de choque utilizado nos dois primeiros

ensaios é o mais eficiente porque não depende da floração, mas sim da disponibilidade de insetos.

Comparando a mortalidade dos inseticidas em relação aos dois grupos de polinizadores (Quadro 3),

Quadro 5 – Flutuação das populações de *Forcipomyia* spp. amostradas em 36 árvores em área polvilhada com BHC 1,5% face à área testemunha. CEPEC, julho-agosto, 1974.

Variável	Data de contagem				
	29-7	31-7	6-8	13-8	20-8
Tratamento *	166	14	136	224	284
Testemunha	224	221	92	162	484

* As árvores foram polvilhadas em 30 de julho.

verificou-se ser o Parathion metílico o mais nocivo (85% de mortalidade), seguido do BHC (79%) e, por último, do Carbaryl (68%).

A mortalidade mais elevada observada no segundo ensaio, quando comparada à do primeiro, foi aceita como a mais confiável, pois os seus resultados foram obtidos de árvores mais protegidas da afluência de insetos das áreas adjacentes às parcelas tratadas. A possibilidade de penetração de insetos até as cinco árvores etiquetadas, no centro das parcelas de 2.500 m², no segundo ensaio, é muito menor que a de atingirem as 10 árvores marcadas no centro das parcelas de 625 m² utilizadas no primeiro ensaio.

A mortalidade inicial elevada pode ser atribuída à ação do inseticida aplicado. O decréscimo do número de insetos mortos, no intervalo de 2 a 6 horas após o tratamento, pode ser atribuído à diminuição da população de adultos, eliminados pelos inseticidas. O aumento do número de insetos mor-

tos no intervalo entre 6 e 24 horas após o tratamento foi atribuído à emergência de adultos dos criadouros naturais bem como ao transporte casual pelas correntes aéreas de populações das áreas não tratadas.

A mortalidade calculada com base na contagem visual de insetos vivos nas diversas partes do cacauzeiro foi elevada (91%), quando comparada com a mais alta encontrada pelo método de choque (79%). Esta última – que abrange a população total do ambiente – foi aceita como a mais conclusiva, tendo em vista que a contagem visual está mais sujeita a falhas humanas que o método de choque. Apesar disso, a amostragem visual permitiu acompanhar a flutuação das populações por um período determinado até se obter a restauração da população.

Considerando-se que as taxas de crescimento das populações de insetos no ecossistema do cacauzeiro ainda são desconhecidas, é prematuro discutir o que ocorreria com

essas populações após a aplicação eventual ou periódica de inseticidas. Estudos de Knipling (6) com outros insetos mostraram que um nível inferior a 80% de mortalidade manteria a população estável desde que ela apresentasse uma taxa de crescimento normal cinco vezes maior em cada geração. Tendo em vista que as mortalidades avaliadas pelo método de choque (admitidas como conclusivas) foram de 79; 68 e 85% para o BHC 1,5%, Carbaryl 7,5% e Parathion metílico 1,5%, respectivamente, e que a taxa de crescimento normal de *Forcipomyia* e *Euforcipomyia* é provavelmente superior à mencionada por Knipling (6), conclui-se que os níveis mencionados de mortalidade manteriam as populações estáveis.

O controle químico de insetos é altamente eficiente em termos de número de insetos mortos quando a população é alta, mas ineficiente quando ela é baixa (6). De acordo com os resultados do presente trabalho, sabe-se que os níveis populacionais originais são restabelecidos 1 semana após a aplicação do inseticida; donde se conclui que essas aplicações, em épocas de baixo nível populacional das mosquinhas, teriam pouco efeito na polinização do cacaueiro. Além disso, a disponibilidade de ovos, larvas e pupas dos polinizadores, protegidos nos criadouros naturais (11), provavelmente facilitou a rápida restauração das populações.

A persistência do poder residual do BHC nos solos de clima tempe-

rado é de 2 anos (8), a do Parathion metílico, 45 dias e a do Carbaryl, 9 dias (13). Estes inseticidas, em confronto com outros, de efeito residual mais prolongado, são mais seguros, evitando a acumulação de tóxicos no ambiente, bem como os efeitos nocivos aos polinizadores.

Os dados aqui apresentados podem ser usados como uma explicação para os resultados encontrados por Ventocilla (14), Cardona (1), Stelzer e colaboradores (12), Knoke e Saunders (7) e Entwistle e Hurd (4), nos quais não foram encontradas mudanças significativas nos níveis de polinização e/ou frutificação do cacaueiro após ensaios com inseticidas no campo.

CONCLUSÕES

1. A mortalidade de *Euforcipomyia* após aplicação de BHC 1,5%, avaliada pelo método de choque, foi de 79% enquanto utilizando a fórmula de Henderson e Tilton foi de 91%. As mortalidades deste inseto por aplicação do Parathion metílico e Carbaryl exclusivamente pelo método de choque foi de 83 e 70%, respectivamente.
2. A mortalidade de *Forcipomyia* por aplicação do BHC 1,5% avaliada pelos métodos de choque e de Henderson e Tilton atingiu níveis de 79 e 91% respectivamente. As mortalidades deste inseto por aplicação de Parathion metílico e Carbaryl, exclu-

sivamente pelo método de choque, foram de 87 e 66%, respectivamente.

3. O Parathion metílico foi o inseticida que causou, em conjunto, mortalidade mais elevada (85%), seguido do BHC (79%) e do Carbaryl (68%).
4. A abundância do *Euforciomyia* e *Forcipomyia* não está relacionada com a disponibilidade de flores.
5. O método de choque (knock-down) para avaliar mortalidade de polinizadores mostrou-se o mais eficiente, pois a avaliação não depende da disponibilidade de flo-

res por árvore e sim da presença de insetos.

6. A restauração das populações de polinizadores é iniciada 24 horas após o tratamento, atingindo os níveis originais 1 semana após a aplicação dos inseticidas.
7. O combate às pragas do cacauero com BHC 1,5%, Parathion metílico 1,5% ou Carbaryl 7,5%, na dosagem de 16 kg/ha, aplicados nas épocas de renovação de folhas — quando as populações dos polinizadores se encontram em níveis mais baixos —, não compromete a sua sobrevivência e, conseqüentemente, a polinização do cacauero.

AGRADECIMENTOS

Aos Eng.-Agr^{os} Pedrito Silva e José A. Ventocilla, pelas sugestões apresentadas na elaboração deste artigo.

LITERATURA CITADA

1. CARDONA, E. Influencia de siete insecticidas en la polinización y fructificación del cacao y breve estudio de los insectos polinizadores. Cacao en Colombia 2:41 - 61. 1953.
2. COLLYER, E. A method for the estimation of insect populations on fruit trees. Report E. Malling Research Station. 1949 - 1950. pp. 148 - 151. 1951.
3. ENTWISTLE, P.F. Pests of cacao. London, Longman, 1972. 779 p.
4. ENTWISTLE, H.M. e HURD, J. The effects of insecticides on pollination, flower setting and numbers of pollinator insects. In West African Cocoa Research Institute. Annual Report 1957 - 58. Tafo, Ghana, 1959. pp. 42 - 44.

5. HENDERSON, C.F. e TILTON, E.W. Tests with acaricides against the brown wheat mite. *Journal of Economic Entomology* 48 (2): 157 - 161. 1955.
6. KNIPLING, E.F. Some basic principles in insect population suppression. *Bulletin of the Entomological Society of America* 12(1): 7 - 15. 1966.
7. KNOKE, S.K. e SAUNDERS, J.L. Induced fruit set of *Theobroma cacao* by mistblower applications of insecticides. *Journal of Economic Entomology* 59(6): 1427 - 1430. 1966.
8. MENZIE, C.M. Fate of pesticides in the environment. *Annual Review of Entomology* 17: 199 - 222. 1972.
9. SORIA, S. de J. Locais de coleta e distribuição de *Forcipomyia* (Diptera, Ceratopogonidae) relacionadas com a floração e frutificação do cacaueiro na Bahia, Brasil. *Revista Theobroma (Brasil)* 3(2): 41 - 49. 1973.
10. ————. Identidade e caracterização taxonômica preliminar das mosquinhas *Forcipomyia* (Diptera, Ceratopogonidae) associadas com a polinização do cacaueiro na Bahia. *Revista Theobroma (Brasil)* 4(1): 3 - 12. 1974.
11. ————. e SILVA, P. A polinização do cacaueiro na Bahia e algumas implicações do uso de inseticidas e outras práticas culturais. *Cacau Atualidades (Brasil)* 11(1): 15 - 20. 1974.
12. STELZER, M.U. et al. Resultados de pruebas preliminares para determinar los efectos de las aspersiones de insecticida sobre la producción del cacao en Costa Rica. *Cacau (Costa Rica)* 6(2): 1 - 14. 1961.
13. TECHNICAL INFORMATION on Sevin Carbaryl insecticide. New York, Union Carbide Corporation, Agricultural Products, 1968. 56 p.
14. VENTOCILLA, J.A. Efeito do BHC sobre as mosquinhas Ceratopogonídeas polinizadoras do cacaueiro. *In Conferência Internacional de Pesquisas em Cacau, 2a., Salvador e Itabuna, Bahia Brasil, 19 - 26 de novembro, 1967. Memórias. Itabuna, Centro de Pesquisas do Cacau, 1969. pp. 287 - 289.*

RESUMO

O BHC 1,5%, Parathion metílico 1,5% e Carbaryl 7,5% foram usados em experimentos de campo na dosagem de 16 kg/ha para avaliar o seu

efeito sobre populações de *Euforcipomyia* e *Forcipomyia*, os dois grupos de insetos mais importantes para a polinização do cacauero.

As contagens de mosquinhas mortas foram feitas 2; 6 e 24 h após a aplicação do inseticida. Após a última contagem, foi feito um tratamento de choque (knock down) com BHC 12%, para calcular a sua população total e as respectivas percentagens de mortalidade. Ambos os grupos de mosquinhas foram afetados pelos inseticidas. O Parathion metílico foi o mais tóxico (85% de mortalidade) seguido do BHC (79%) e Carbaryl (68%). A mortalidade mais elevada foi registrada no intervalo de 2 h após a aplicação dos inseticidas. A população das mosquinhas iniciou a recuperação 24 h após o polvilhamento com o BHC e dentro de 1 semana ultrapassou os níveis originais. Após a aplicação de Carbaryl e Parathion metílico, precisa-se provavelmente do mesmo período para a recuperação dos níveis originais de população dos insetos. Isto sugere que, nas dosagens empregadas e com intervalos apropriados entre os polvilhamentos — períodos entre lançamentos de folhas —, esses inseticidas não são prejudiciais à sobrevivência das mosquinhas polinizadoras do cacauero.

MORTALITY OF *Forcipomyia* spp. MIDGES (DIPTERA, CERATOPOGONIDAE) FOLLOWING INSECTICIDE APPLICATIONS IN BAHIAN COCOA PLANTATIONS

SUMMARY

Three insecticides BHC 1.5%, Methyl Parathion 1.5% and Carbaryl 7.5% were used in field trials at the rate of 16 kg commercial product per hectare to assess their relative toxicity on *Euforcipomyia* and *Forcipomyia* populations, the two midge groups chiefly responsible for the pollination of cocoa.

Dead midge counts were made 2, 6 and 24 hours after insecticide application. Following the 24 hours collection a 12% BHC knock-down application was made to calculate total adult population and thereby the respective mortality percentages. Both midge groups were equally affected by each insecticide. Of the three insecticides, Methyl Parathion was the most toxic — 85% mortality, followed by BHC — 79% and Carbaryl 68%. Highest mortality was recorded for the 2 hours collection. The midge population started to recover within 24 hours of the BHC treatment and within 1 week had surpassed the pre-application levels. This suggests that at the given dosages and with sufficient time intervals between applications the above insecticides, particularly BHC are not prejudicial to the overall survival of either of the two cocoa pollinating midges ■

NEMATODES OF THE COCOA REGION OF BAHIA, BRAZIL.
IV - NEMATODES IN THE RHIZOSPHERES
OF PEPPER (*Piper nigrum* L.)
AND CLOVE (*Eugenia caryophyllata* Thunb.)*

Ravi Datt Sharma**

Pieter Aart Albertus Loof***

Both pepper (*Piper nigrum* L.) and clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb.), used as spices or condiments in flavouring foodstuffs, are being increasingly planted in the rainforest zone of Bahia. The total area in pepper and clove is variously estimated as 268 ha and 588 ha respectively with corresponding yields of about 195 and 133 tonnes (1,6).

As part of a general nematode survey carried out between May, 1971 and May, 1974 in the southern part of the State of Bahia, soil and root samples were collected both from pepper and clove. Sampling involved both healthy and diseased plants.

The symptoms of the sick pepper vines were characterized by stunting, bronzing and interveinal yellowing of leaves, followed by

complete yellowing and defoliation, dieback and the gradual death of the vines. Root systems of such vines were severely galled and cracked due to what appeared to be heavy root-knot nematode infestation. The sick plants had very low fruit production or no fruit at all. In one location the heavily galled system of diseased vines were also black and deteriorated, possibly due to combined attack by nematodes and *Fusarium solani* F. *piper*.

Some clove trees showed deteriorated root system and progressive drying of leaves resulting in death of the trees.

This paper deals with plant parasitic and free-living nematodes found in some rhizospheres of pepper and clove in Bahia.

* Received for publication in September, 1973.

** Division of Phytoparasitology, CEPEC.

*** Nematology Department, Landbouwhogeschool, Wageningen, The Netherlands.

MATERIALS AND METHODS

Eighteen soil and root samples were taken, nine being from pepper plantations and nine from clove plantations.

Of the pepper samples four were taken from one property in Una and other five from three properties in Ituberá. The clove samples came from six farms in Ituberá.

The methods for extraction of the nematodes and subsequently mounting for permanent slides, are described by Sharma and Loof (9).

RESULTS AND DISCUSSION

The results of the survey are listed in Tables 1 and 2. The root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* was the dominant species found associated with pepper yellows, a finding also observed by Sher et al (13) in Thailand. From a literature search (2, 3, 5, 7, 12, 13, 14) it would appear that *Aphelenchoides* sp., *Discocriconemella limitanea*, *Dolichodorus* sp., *Helicotylenchus* sp., *H. dibytera*, *Trichodorus* sp. and *Xiphinema vulgare* have been found for the first time in association with pepper in the field. *Radopholus similis*, the usual cause of serious yellows was not found in our samples, but some of the field symptoms were quite similar to those described by Thorne (13) and Van der Vecht (14). It is realized that identical symptoms may be produced by different root-infesting nematode species.

R. similis was recently reported associated with some banana plant importations in Bahia (8) and it must be hoped that measures will be taken to limit its spread.

The spiral nematode *H. dibytera* was the dominant species found associated with clove. *Dolichodorus* sp., *H. dibytera*, *M. incognita*, *Rotylenchulus reniformis* and *Trichodorus* sp., were common to both pepper and clove whereas *Aphelenchoides* sp., *D. limitanea*, *Helicotylenchus* sp. and *X. vulgare* were associated only with pepper. The root-knot nematode, *Meloidogyne* sp. reported by Ghesquiere (4) was not found in our samples. The association between clove and the five species listed in Table 1 is considered as the first of its kind.

Based on the results of previous surveys (9, 10, 11), out of the 29 genera and 38 species of free-living nematodes listed in Table 2, 12 species are recorded for the first time in Bahia namely: *Acrobeloides* sp., *Bastiania acarayensis*, *Cruznema lambdiense*, *Dorylaimoides parvus*, *Iotonchus* cf. *risoeciae*, *Monobystera villosa*, *Myelonchulus brachiuris*, *Prismatolaimus* sp., *Prodorylaimus hamatus*, *Sporonchulus* sp., *Trischistoma pelucidum* and *Tylenchus leptosoma*.

CONCLUSION

The root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* is probably a serious pest of pepper in Bahia and practical means of control should

Table 1 – Plant parasitic nematodes found associated with pepper (*Piper nigrum* L.) and clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) in the Cocoa Region of Bahia.

Genus / Species	Occurrence *	
	Pepper (9 samples)	Clove (9 samples)
<i>Aphelenchoides</i> sp.	2	0
<i>Discocriconemella limitanea</i>	1	0
<i>Dolichodorus minor</i>	2	1
<i>Helicotylenchus</i> sp.	1	0
<i>H. dihystra</i>	6	7
<i>Meloidogyne incognita</i>	9	2
<i>Rotylenchulus reniformis</i>	2	2
<i>Trichodorus</i> sp.	1	4
<i>Xiphinema vulgare</i>	1	0

* Number of positive samples.

Table 2 – Free-living nematodes found associated with pepper (*Piper nigrum*) and clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) in the Cocoa Region of Bahia.

Genus / Species	Occurrence *	
	Pepper (9 samples)	Clove (9 samples)
<i>Achromadora</i> sp	+	-
<i>Acrobeles</i> sp.	+	-
<i>Acrobeloides</i> sp.	+	+
<i>Alaimus</i> sp.	+	+
<i>Aphelenchus avenae</i>	+	+
<i>Aporcelaimellus</i> sp.	-	+
<i>A. obtusicaudatus</i>	+	+
<i>A. cf. paracentrocercus</i>	+	-
<i>Axonchium amplicole</i>	+	+
<i>Basirotyleptus</i> sp.	-	+

+ = present

- = absent

Table 2 – Continued

Genus / Species	Occurrence *	
	Pepper (9 samples)	Clove (9 samples)
<i>Bastania acarayensis</i>	+	-
<i>Cobbonchus</i> sp.	+	+
<i>Chronogaster</i> sp.	-	+
<i>Cruznema lambdiense</i>	-	+
<i>Dorylaimellus</i> sp.	+	+
<i>Dorylaimoides parvus</i>	-	+
<i>Eudorylaimus</i> sp.	+	+
<i>E. ettersbergensis</i>	+	+
<i>E. granuliferus</i> (group)	+	+
<i>E. cf. minutus</i>	-	+
<i>Heterocephalobus longicaudatus</i>	+	+
<i>Iotonchus</i> sp.	+	+
<i>I. cf. risoceiae</i>	+	-
<i>Mesodorylaimus parasubtilis</i>	+	+
<i>Mesorhabditis</i> sp.	-	+
<i>M. cf. paucipapillata</i>	+	-
<i>Monohystera villosa</i>	-	+
<i>Mylonchulus minor</i>	+	-
<i>M. brachyuris</i>	+	-
<i>Prismatolaimus</i> sp.	+	-
<i>Prodorylaimus hamatus</i>	+	-
<i>Rhabditis</i> sp.	+	-
<i>Sporonchulus</i> sp.	+	-
<i>S. dentatus</i>	+	+
<i>Thornenema</i> sp.	+	-
<i>Trischistoma pellucidum</i>	+	-
<i>Tylenchus leptosoma</i>	+	-
<i>Zeldia</i> sp.	+	-

+ = present

- = absent

be considered. While the burrowing nematode *Radopholus similis*, well known from pepper, banana and

citrus, was not encountered in our samples, it is recommended that strict quarantine measures should

be taken to prevent its spread, especially bearing in mind that the CEPLAC Diversification Scheme

plans to promote increased clove and pepper plantings within the Bahian cocoa region.

LITERATURE CITED

1. CASTRO NETO, A. de, et al. O cravo-da-Índia na região cacauzeira, estudo preliminar. In Ilhéus, Bahia, Brasil. DEPEX/CEPLAC, Informe, July, 1972. 10 p.
2. CHRISTIE, J.R. The yellows disease of citrus. Plant disease Reporter 41: 267-268. 1957.
3. DELACROIX, H. Pathologie végétale maladies vermiculaires. II - Sur une maladie du poivrier (*Piper nigrum* L.) en Cochichine. Agriculture Pratique de Pays Chauds. 1: 672 - 680. 1901 - 02.
4. GESQUIERE, J. Laboratoire d'Entomologie d'Eala (Equateur). Reports de l'entomologiste. Bulletin Agricole du Congo Belge 12: 703 - 732. 1921.
5. LUC, M. and GUIRAN, G. de. Les nematodes associés aux plantes de l'Ouest Africain. Liste préliminaire. Agronomie Tropicale 15(4): 434 - 449. 1960.
6. MANDARINO, E. Relatório sobre a pimenta-do-reino na Bahia. In Ilhéus, Bahia, Brazil. CEPLAC/DEPEX, Informe, 1974.
7. MARTIN, G.C. The common root-knot nematode and crop rotation. Rhodesian Farmer (Reprint of a series of articles, 13th July, 1956 onwards) 20 p.
8. SHARMA, R.D. Nematóide cavernícola atacando a bananeira na Bahia. Cacau Atualidades (Brazil) 11(1): 4 - 6. 1974.
9. ——— and LOOF, P.A.A. Nematodes associated with different plants at the Centro de Pesquisas do Cacau, Bahia. Revista Theobroma (Brazil) 2(4): 38 - 43. 1972.
10. ——— and ———. Nematodes of the Cocoa Region of Bahia, Brazil. I - Plant parasitic and free-living nematodes associated with rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). Revista Theobroma (Brazil) 3(1): 36 - 41. 1973.

11. SHARMA R.D. and LOOF, P.A.A. Nematodes of the Cocoa Region of Bahia, Brazil. III - Plant parasitic and free-living nematodes in the rhizospheres of six different plant species. *Revista Theobroma (Brazil)* 4(1): 39-43. 1974.
12. SHER, S.A., CHURAM, C. and PHOLCHARDEN, S. Pepper yellows disease and nematodes in Thailand. *FAO Plant Protection Bulletin* 17(2): 33. 1969.
13. THORNE, G. Principles of nematology. New York, McGraw-Hill, 1961. 553 p.
14. VECHT, J. van der. Op planten parasiterende aaltjes (Tylenchidae). In Kalshoven, L.G.E., ed. De plagen van de cultuurgewassen in Indonesie. s'Gravenhage, W. van Hoeve, 1959. pp. 16-42.

SUMMARY

Eighteen soil and root samples collected from the rhizospheres of pepper (*Piper nigrum* L.) and clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) revealed the presence of nine species of plant parasitic nematodes. Nematodes common to both pepper and clove were *Dolichodorus* sp., *Helicotylenchus dibystrera*, *Meloidogyne incognita*, *Rotylenchulus reniformis* and *Trichodorus* sp. Besides the above mentioned nematode species, *Aphelenchoides* sp., *Discocriconemella limitanea*, *Helicotylenchus* sp. and *Xiphinema vulgare* were also associated with pepper. Out of 29 genera and 38 species of free-living nematodes recorded in this survey, 12 species are recorded for the first time in Bahia namely: *Acrobeloides* sp., *Bastiania acarayensis*, *Cruznema lambdiense*, *Dorylaimoides parvus*, *Iotonchus* cf. *risoeciae*, *Monobystera villosa*, *Mylonchulus brachyuris*, *Prismatolaimus* sp., *Prodorylaimus hamatus*, *Sporonchulus* sp., *Trischistoma pellucidum* and *Tylenchus leptosoma*.

NEMATÓDIOS DA REGIÃO CACAUEIRA DA BAHIA, BRASIL IV - NEMATÓDIOS NA RIZOSFERA DE PIMENTA-DO-REINO (*Piper nigrum* L.) E CRAVO-DA-INDIA (*Eugenia caryophyllata* Thunb.)

RESUMO

Em 18 amostras de solo e raízes coletadas na rizosfera de pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) e cravo-da-India (*Eugenia caryophyllata* Thunb.)

foi detectada a presença de nove espécies de nematódios parasitas. Os nematódios associados a ambos os cultivos são: *Dolichodorus* sp., *Helicotylenchus dibytera*, *Meloidogyne incognita*, *Rotylenchulus reniformis* e *Trichodorus* sp. Além destes, *Aphelenchoides* sp., *Discocriconemella limitanea*, *Helicotylenchus* sp. e *Xiphinema vulgare* foram encontrados associados somente à pimenteira. Dos 29 gêneros e 38 espécies de nematódios não parasitas, 12 novas espécies são encontradas pela primeira vez na Bahia, a saber: *Acrobeloides* sp., *Bastiania acarayensis*, *Cruznema lambdiense*, *Dorylaimoides parvus*, *Iotonchus* cf. *risoeciae*, *Monobystera villosa*, *Mylonchulus brachyuris*, *Prismatolaimus* sp., *Prodorylaimus hamatus*, *Sporonchulus* sp., *Trischistoma pellucidum* e *Tylenchus leptosoma*.



PATOGENICIDADE DO *Bacillus thuringiensis* BERLINER
CONTRA O "MANDAROVÁ" DA SERINGUEIRA
(*Erinnyis ello* L.) (LEPIDOPTERA : SPHINGIDAE).*

João Manuel Abreu **

A lagarta da mariposa *Erinnyis ello* L. é a praga mais importante que ataca a seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.), o segundo cultivo mais importante da região cacaueira da Bahia. A lagarta se alimenta das folhas e, durante os surtos mais severos, causa a desfolhação completa de grandes plantações.

O sucesso alcançado nos últimos 20 anos com a aplicação do *Bacillus thuringiensis* Berliner contra mais de 137 espécies de insetos das ordens Lepidoptera, Hymenoptera, Diptera e Coleoptera (1) motivaram a realização de um ensaio explorativo para determinar a patogenicidade desta bactéria contra *E. ello*. O ensaio constou de cinco tratamentos e quatro repetições. As lagartas foram coletadas no campo e permaneceram 1 dia em repouso no laboratório. Cinco lagartas do 3º instar foram confinadas em cubas de vidro (14 cm de diâmetro e 5 cm de altura), cobertas com placas de Petri contendo papel de filtro umedecido. Duas cubas de vidro foram usadas para cada repetição. As lagartas foram alimentadas com folhas de seringueira previamente mergulhadas em diluições de esporos de *B. thuringiensis* (Dipel, pó molhável—Abbott Laboratórios do Brasil) e secas ao ar. A partir do segundo dia, todas as lagartas receberam o mesmo alimento da testemunha. A percentagem de mortalidade foi calculada 1; 3; 5 e 7 dias após o início do ensaio. Ao final do ensaio, as fezes secas ao ar (11% de umidade) foram pesadas para determinar a quantidade relativa de alimento ingerida.

* Recebido para publicação em março, 1974.

* Realizado com recursos do Convênio SUDHEVEA/CEPLAC.

** M.S., Divisão de Fitoparasitologia, CEPEC.

O Quadro 1 mostra as percentagens de mortalidade e o peso das fezes das lagartas. De um modo geral, a mortalidade cresceu com o aumento da concentração de esporos e o número de dias após o tratamento, embora não tenha atingido a eliminação total das lagartas. A mortalidade na testemunha foi elevada, provavelmente por deficiência na manipulação das lagartas. Em termos de peso de fezes, a análise mostrou que as diferenças entre os tratamentos foram significativas ao nível de 1% de probabilidade. As lagartas doentes deixam de se alimentar.

Quadro 1 – *Mortalidade e peso de fezes de lagarta de E. ello alimentadas com folhas de seringueira tratadas com o Bacillus thuringiensis. CEPEC, 1973.*

Diluições *	Mortalidade (%)				Peso de fezes (g)
	Dias após o tratamento				
	1	3	5	7	
1:1.000	5	33	48	70	11,9
2:1.000	3	38	53	70	9,0
3:1.000	10	50	60	80	8,2
4:1.000	8	70	80	88	3,0
Testemunha	3	13	23	45	23,9

* A diluição 1:1.000 contém 25×10^6 esporos/ml.

A conclusão provisória desse ensaio é que os esporos do *B. thuringiensis*, em todas as concentrações usadas afetam drasticamente a capacidade alimentar da lagarta *E. ello* provocando a sua morte. Novos ensaios deverão ser feitos com o aprimoramento da técnica de manipulação do material. É preciso registrar que as lagartas utilizadas no ensaio foram trazidas para o CEPEC de uma plantação distante 150 km e que, apenas 1 dia de repouso no laboratório não é suficiente para a sua recuperação. A adição de um espalhante adesivo à suspensão de esporos deverá também melhorar a eficiência do tratamento.

LITERATURA CITADA

- HEIMPEL, A.M. A critical review of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner and other crystaliferous bacteria. Annual Review of Entomology 12 : 287-322. 1967.

**PATHOGENICITY OF *Bacillus thuringiensis* BERLINER
AGAINST THE RUBBER LEAF CATERPILLAR
(*Erinnyis ello* L.) (LEPIDOPTERA : SPHINGIDAE).**

The caterpillar of the hawkmoth *Erinnyis ello* L. is the most destructive insect pest of the rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell Arg.), the principal diversification crop grown in the Bahian cocoa region. The caterpillar feeds on the young leaves and in severe outbreaks can cause the complete defoliation of large areas.

Due to the success over the last 20 years of the crystal-forming bacteria against more than 137 insect species from the orders Lepidoptera, Hymenoptera, Diptera and Coleoptera (1), an explorative laboratory test was carried out with *Bacillus thuringiensis* Berliner to determine its pathogenicity against *E. ello*. The experiment consisted of four concentration treatments together with a control, with four replicates of each. Caterpillars were collected from a rubber estate and kept at rest for one day in the laboratory. Five caterpillars of the 3rd instar were placed in deep culture dishes (14 cm diameter, 5 cm high) with the inside of their loose fitting lids covered with moistened filter paper. Two culture dishes were used for each replicate. The test caterpillars received for 1 day air-dried young fully expanded rubber leaves previously dipped in the various spore solutions of *B. thuringiensis* (Dipel (wetable powder), Abbott Labs). From the second day onwards all caterpillars were fed on undipped rubber leaves. Mortality (%) was calculated 1, 3, 5 and 7 days after the start of the treatment. At the end of 7 days the air-dried faeces (11% moisture) were weighed to determine relative food consumption.

Mortality and faeces weight for the different treatments are shown in Table 1. Although mortality increased in relation to time and spore concentration, a 100% kill was not achieved in any of the treatments. The unexpectedly high mortality among the control caterpillars is attributed to poor handling techniques. The differences in faeces weight, significant at the 1% level, show that the bacteria caused the caterpillars to stop eating.

The preliminary conclusions which can be drawn from this experiment clearly show that even at a concentration of 1:1000 the spores of *B. thuringiensis* drastically diminish the appetite of the *E. ello* caterpillar and can kill it. However further laboratory experiments are required in which the handling techniques are improved. It is worth remembering that the caterpillars used in this trial came from a rubber estate over 150 km from the CEPEC research station and the one day rest in the laboratory

Table 1. *Mortality and weight of faeces of E. ello caterpillars fed with rubber leaves dipped in B. thuringiensis spore solutions at CEPEC, 1973.*

Concentration	Mortality (%)				Weight of faeces (g)
	Days after Treatment				
	1	3	5	7	
1:1000 *	5	33	48	70	11.9
2:1000	3	38	53	70	9.0
3:1000	10	50	60	80	8.2
4:1000	8	70	80	88	3.0
Control	3	13	23	45	23.9

* 1:1000 concentration contains 25×10^6 esporos/ml

was not sufficient for the caterpillars to recuperate. The addition of a spreader would also improve the efficacy of the bacteria treatment.



INFORMAÇÃO AOS COLABORADORES

Os conceitos e opiniões, emitidos nos artigos, são da exclusiva responsabilidade dos autores. São aceitos para publicação trabalhos que se constituam em real contribuição para um melhor conhecimento dos temas relacionados com problemas agrônômicos e sócio-econômicos de áreas cacaueiras.

Os artigos devem ser datilografados em espaço duplo, com o máximo de 2.500 palavras ou 10 folhas tamanho carta (28,0 x 21,5 cm), em uma só face e com margens de 3 cm por todos os lados. Os originais devem ser acompanhados de duas cópias perfeitamente legíveis.

Desenhos e gráficos devem ser feitos com tinta nankin e não ultrapassar a medida de 18,0 x 20,0 cm; as fotografias devem ter 15,0 x 23,0 cm, em papel fotográfico brilhante com bom contraste. As ilustrações devem ser numeradas e com legendas escritas a máquina, em papel separado. Recomenda-se não dobrá-las para evitar dificuldades na reprodução.

As referências no texto devem ser feitas pelo nome do autor, acompanhado do número de ordem da citação bibliográfica. Ex.: Medeiros (5), ou simplesmente (5). A *Literatura Citada* deve ser organizada por ordem alfabética dos autores, com número de ordem, usando-se o seguinte sistema:

5. MEDEIROS, A.G. Método para estimular a esporulação do *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. em placas de Petri. *Phyton* 22(1):73-77. 1965.

O resumo não deve exceder meia página datilografada, sendo acompanhado de versão em inglês. São aceitos artigos em português, espanhol, inglês e francês.

INFORMATION FOR CONTRIBUTORS

Concepts and opinions given in articles are the exclusive responsibility of the authors. Only articles concerned with agronomic and social-economic problems of cocoa growing areas, which represent a new contribution to the subject, will be accepted for publication.

Articles should be typed in double spacing with a maximum of 2,500 words or 10 letter sized pages (28.0 x 21.5 cm) with a 3 cm margin on all sides, together with two legible copies.

Drawings and graphs should be prepared with India ink not exceeding 18.0 x 20.0 cm; photographs should be 15.0 x 23.0 cm glossy prints with good contrast. Illustrations must be numbered, with the machine typed subtitles on separate paper. To avoid reproduction difficulties it is recommended that enclosures should not be folded.

Text references should appear with the name of the author and/or the order number in the literature citation. The *Literature Cited* should be numbered in alphabetical order employing the following system:

5. MEDEIROS, A.G. Método para estimular a esporulação do *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. em placas de Petri. *Phyton* 22(1):73-77. 1965.

Articles are accepted in Portuguese, Spanish, English, and French.



COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA

