

revista
THEOBROMA



V. 9 - ABRIL - JUNHO - 1979 Nº 2

Ilhéus - Brasil

COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA – CEPLAC
Vinculada ao Ministério da Agricultura, Brasil.

Presidente: Antonio Delfim Netto, Ministro da Agricultura; **Vice-Presidente:** Benedito Fonseca Moreira, Diretor da CACEX; **Secretário Geral:** José Haroldo Castro Vieira; **Secretário Geral Adjunto:** Emo Ruy de Miranda; **Diretor Científico:** Paulo de Tarso Alvim; **Diretor Regional:** Fernando Vello.

REVISTA THEOBROMA

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

Diretor do CEPEC: Luiz Ferreira da Silva; **Vice-Diretor do CEPEC:** Guillermo Enrique Smith Figueroa.

Comissão de Editoração: Saulo de J. Soria, Coordenador; João Manuel Abreu; Ronald Alvim; Ariovaldo Matos; Francisco Ilton Moraes; Jorge Octavio Moreno; Ricardo Rodolfo Tafani.

Editor: José Correia de Sales.

Assessores Científicos que participaram da revisão dos trabalhos contidos no presente número: João Manuel Abreu, Joseph Iturbe, Alex S. Lopez, John Eric Orchard, Maximo E. Resnik, Dunalvo dos Santos, Terezinha Batista Vieira.

Endereço para correspondência (address for correspondence): Editor; Revista Theobroma; Centro de Pesquisas do Cacau-CEPEC; Caixa Postal 7; 45.600, Itabuna, Bahia, Brasil.

Tiragem: 4.000 exemplares

Revista Theobroma, v. 1, n.º 1 1971
Ilheus, Comissão Executiva do Plano
da Lavoura Cacaueira, 1971

4 22,5 cm

1 Cacau - Periódicos - 1 Comissão Executiva do Plano
da Lavoura Cacaueira - ed



11/1/74/5

REVISTA THEOBROMA

V. 9

Abril – junho 1979

N. 2

CONTEÚDO

1. Interação e patogenicidade do *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 e o *Rotylenchulus reniformis* Linford e Oliveira, 1940 na pimenteira-do-reino. **E.C.A. Ferraz e R.D. Sharma.** 45
2. Contribuição para o conhecimento dos açúcares componentes da amêndoa e do mel de cacau. **P.R.F. Berbert.** 55
3. Composição química das folhas do cacaueiro em função da idade e da época do ano. **M.B.M. Santana e K. Igue.** 63

NOTA

- Mosquinhas ceratopogonídeas (Diptera, Nematocera) coletadas de flores do cacaueiro em Palmira, Colômbia: comentários sobre seu papel como polinizadores (em Inglês). **S. de J. Soria e W.W. Wirth.** 77

REVISTA THEOBROMA

V. 9

April - June 1979

No. 2

CONTENTS

1. Interaction and pathogenicity of *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 and *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira, 1940 on black pepper (in Portuguese). **E.C.A. Ferraz and R.D. Sharma.** 45
2. Contribution to the knowledge of the sugars component of cacao beans and "sweatings" (in Portuguese). **P.R.F. Berbert.** 55
3. The mineral composition of cacao leaves as a variation of season and leaf age (in Portuguese). **M.B.M. Santana and K. Igue.** 63

NOTE

- Ceratopogonid midges (Diptera: Nematocera) collected from cacao flowers in Palmira, Colombia: an account of their pollinating abilities. **S. de J. Soria and W.W. Wirth.** 77

INTERAÇÃO E PATOGENICIDADE DO *Meloidogyne incognita*
(KOFOID & WHITE, 1919) CHITWOOD, 1949 E O
Rotylenchulus reniformis LINFORD E OLIVEIRA, 1940
NA PIMENTEIRA DO REINO

Edmir C. A. Ferraz *

Ravi Datt Sharma **

ABSTRACT

Interaction and Pathogenicity of *Meloidogyne incognita*
(Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 and *Rotylenchulus*
reniformis Linford & Oliveira, 1940 on Black Pepper

The interaction and pathogenicity of *Meloidogyne incognita* and *Rotylenchulus reniformis* alone and in combination were studied on black pepper (*Piper nigrum* L. var. "Singapura") in the greenhouse. Six thousand larvae of each species were inoculated alone and in combination on 2 month old rooted cuttings at the two leaf stage grown in 5 kg autoclaved soil. Fifteen months after inoculations, *M. incognita* alone and in combination with *R. reniformis* was highly pathogenic to black pepper. *R. reniformis* was parasitic on but not pathogenic to black pepper up to 15 months after inoculations. Statistically significant growth reductions ($P = 0.01$) in dry top weight and root weight, number of leaves and, leaf area were recorded in plants inoculated *M. incognita*. *R. reniformis* alone had a slight promotive growth effect in comparison with control plants. In combination with *M. incognita* all the growth parameters were slightly higher than with *M. incognita* alone, demonstrating its promotive effect. The number of root-knot galls and egg masses per gram of root were significantly reduced when both species were inoculated together in comparison to *M. incognita* alone showing the inhibitory effect of *R. reniformis* on the multiplication of *M. incognita*. The final population of *M. incognita* increased geometrically while the population of *R. reniformis* was reduced to almost half of the initial population when inoculated alone, and to one sixth when inoculated with *M. incognita*, which needs further investigation.

Recebido para publicação em 28 de março de 1979.

Trabalho apresentado na X Reunión de la Asociación Latino-Americana de Ciencias Agrícolas. Acapulco, Guerrero, México. 22-28 de abril de 1979.

* Divisão de Zoologia; Centro de Pesquisas do Cacau; Cx. Postal 7; 45.600 - Itabuna, Bahia, Brasil.

** Centro de Pesquisas Agropecuárias do Cerrado, EMBRAPA; Cx. Postal 70/0023; 70.600-Planaltina, Distrito Federal, Brasil.

INTRODUÇÃO

A pimenteira do reino (*Piper nigrum* L.) é originária, presumivelmente, do Western Ghats de Malabar, sudoeste da Índia, e foi introduzida há relativamente pouco tempo na África, Ilhas do Pacífico e Américas do Sul e Central (28).

A sua introdução no Brasil verificou-se no início do século XVII, sendo a Bahia o primeiro Estado brasileiro a receber mudas dessa piperácea. Em 1933, a introdução da variedade Singapura no município de Tomé-Açu, Pará, constituiu o marco inicial do incremento dessa cultura na Amazônia (1). Com a intensificação do cultivo, a pimenta passou a ser produto de exportação, tendo, em 1972, a produção do Amazonas atingido 1.000 t, Mato Grosso 100 t e o Pará 13.000 t (4).

As condições edafoclimáticas favoráveis à implantação da pipericultura na Bahia, notadamente no município de Una e Microrregião de Camamu/Taperoá, tem permitido a sua expansão e, em 1977, já se dispunha de uma área cultivada de 267,6 ha (8). Todavia, a exemplo da região Amazônica, a maioria das plantações originadas de um único clone torna a cultura vulnerável a organismos patogênicos, pondo em risco o seu desenvolvimento na Região, haja vista os elevados índices de mortalidade de plantas já verificados.

Em levantamentos nematológicos efetuados na Bahia, Sharma e Loof (24)

registraram, em plantações estabelecidas, altas populações de *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* associados com *Fusarium solani* f. *piperis*. Desta forma, procurou-se, neste trabalho, determinar o efeito patogênico destes nematóides e a possível interação entre eles, já que a pimenteira-do-reino está sujeita à ação de diferentes agentes etiológicos.

REVISÃO DE LITERATURA

O nematóide das galhas, *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919) Chitwood, 1949 e o nematóide reniforme *Rotylenchulus reniformis* Linford e Oliveira, 1940 são importantes parasitas das plantas cultivadas e possuem ampla distribuição geográfica. Extremamente polífagas, essas espécies tem sido constatadas em associação com diversos hospedeiros, em todas as regiões tropicais e subtropicais do mundo.

As informações inerentes ao papel desempenhado por esses nematóides na etiologia de certas enfermidades que ocorrem na pimenteira-do-reino são escassas, embora, em relação a outros cultivos, exista literatura disponível sobre o assunto.

A primeira referência a nematóides associados a essa cultura foi feita por Delacroix (10), na Cochinchina, que registrou a presença de *Meloidogyne* sp.

Vecht (27), Christie (7) e Thorne (26) verificaram na Ilha de Bangka,

Indonésia, que o nematóide carvenícola *Radopholus similis* (Cobb, 1893) Thorne, 1949 foi o responsável por uma grave enfermidade que reduziu consideravelmente o número de pimenteiras.

Ainda na Ilha de Bangka, Ichinoe (14) constatou que a meloidoginose das pimenteiras é amplamente distribuída e está associada a densas descolorações amareladas no limbo foliar.

Além do mais, há outros registros da associação de nematóides parasitas dessa cultura na África Ocidental, Rodésia e Tailândia (11, 17, 25).

No Brasil, foi registrada a ocorrência de *M. incognita* à pimenteira-do-reino por Lordello e Silva (16) e Sharma e Loof (24). Nas proximidades de Belém, Estado do Pará, Ichinoe (13) constatou severas infestações por nematóides em campos de pimenta infestados com *F. solani* f. *piperis*. Ademais, o mesmo autor observou nestes campos a predominância de *M. incognita* e foram vistos sintomas de amarelamento de folhas similares àqueles por ele encontrados na Indonésia, causados por *R. similis*.

No que concerne à interação entre o fungo e o nematóide em pimenteira do reino, Albuquerque e Duarte (2) citam que o *M. javanica* contribui para a penetração das hifas de *F. solani* f. *piperis* nos tecidos do sistema radicular dessa planta.

MATERIAL E MÉTODOS

As mudas de pimenteira foram preparadas por propagação vegetativa de plantas da variedade "Singapura". As estacas foram previamente submetidas a um tratamento fungicida por imersão, durante 20 minutos, em solução de BENLATE, a 0,1%. Posteriormente, foram cultivadas em vasos plásticos contendo 5 kg de solo, em condições de casa de vegetação. Este solo proveio de plantações estabelecidas em campo e foi previamente esterilizado em autoclave a 121°C, sob pressão, durante 2 horas e deixado em repouso por 3 semanas para liberação de gases tóxicos.

Dois meses após o plantio, quando as plantas já apresentavam as primeiras folhas, foi procedida a inoculação das espécies em estudo, a um nível inicial de inóculo de 6.000 larvas por vaso.

A fonte de inóculo foi obtida de plantios existentes em Ituberá, Bahia, através da coleta de solo e raízes de plantas infestadas. Uma vez isolados, o *R. reniformis* e o *M. incognita* foram submetidos, em laboratório, à multiplicação em hospedeiros favoráveis quais sejam, maracujá (*Passiflora edulis*) e tomate (*Lycopersicon esculentum*), respectivamente. À época da inoculação das mudas, as ootecas presentes nas raízes dessas plantas foram retiradas e colocadas em placas de Petri com água destilada e, à temperatura ambiente, os ovos foram postos a eclodir. Da eclosão, prepararam-se ali-

quotas de número conhecido de larvas e procedeu-se à inoculação.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e constou de quatro tratamentos e 12 repetições, sendo a unidade experimental representada por uma planta. No decorrer do estudo, cujo período foi de 30/10/76 a 29/03/78, as mudas foram irrigadas diariamente com água destilada e, mensalmente, supridas com uma solução nutritiva de Hoagland (12).

Os tratamentos foram os seguintes:

- 1) Testemunha; 2) *M. incognita* (MI); 3) *R. reniformis* (RR) e 4) Interação entre *M. incognita* (MI) e *R. reniformis* (RR).

Como parâmetros de avaliação do experimento foram tomados os seguintes dados: peso seco da raiz (g), peso seco da parte aérea (g), número de galhas/g de raiz, número de ootecas/g de raiz, área foliar (cm²) e população final de nematóides, cuja determinação foi feita pelo método descrito por Oostenbrink (20).

No final da investigação procederam-se observações histológicas e, para tanto, foram coletadas raízes infestadas e fixadas em FAA, segundo a fórmula Johansen (15). A coloração empregada seguiu o esquema desenvolvido por Sass (22) para a dupla coloração safraniana — verde rápido.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos (Quadro 1) demonstram que o *M. incognita* redu-

ziu o crescimento e o desenvolvimento da pimenteira-do-reino, medidos em termos de peso seco da raiz e da parte aérea, número de folhas e área foliar das plantas. Estes parâmetros, expressos em percentuais de redução e comparados com as plantas testemunhas, apresentaram os seguintes valores: 66,5; 66,3; 58,0 e 56,9, respectivamente. As diferenças entre as plantas infestadas e as testemunhas foram estatisticamente significativas ($P = 0,01$). A população final do nematóide e o número de galhas e ootecas/g de raiz nas plantas infestadas foram consideravelmente altos, o que demonstra a alta susceptibilidade da pimenteira-do-reino ao nematóide das galhas. As análises histológicas revelaram a presença de fêmeas do nematóide, a formação de células gigantes, necroses celulares, bem como a ocorrência de larvas nos tecidos vasculares.

O reduzido sistema radicular das plantas infestadas implica numa menor área de absorção de água e nutrientes, essenciais para os processos fisiológicos do vegetal. Ademais, as profundas alterações morfológicas e fisiológicas que ocorrem nos tecidos da raiz podem facilitar a penetração de outros microorganismos, seja pelo desimpedimento físico dos tecidos dos vegetais, seja criando um substrato favorável ao estabelecimento de outros patógenos. Tem sido já estabelecido que tecidos de raiz galhada servem como um meio enriquecido para manter a colonização e crescimento de fungos patogênicos

Quadro 1 - Efeito do Meloidogyne incognita, Rotylenchulus reniformis e interação entre eles no crescimento da pimenteira-do-reino (Piper nigrum L.)

Tratamentos *	Peso Seco (g)		Nº de Folhas	Área Foliar (cm ²)	Nº de Galhas p/g de raiz	Nº de Ootecas p/g de raiz	População Final (larvas/vaso)	
	Raiz	P. Aérea					MI	RR
Testemunha	20,90	62,29	96,58	2.221,70	-	-	-	-
RR	25,59	67,19	100,75	2.405,66	-	-	-	3.200
MI	13,99	41,30	55,00	1.266,17	149,7	28,4	199.000	-
RR + MI	15,69	41,96	64,33	1.449,15	97,2	8,7	163.700	1.000
C.V.	23,9	15,5	16,4	14,9				
DMS (P=0,01)	4,51	8,20	12,85	272,35				
DMS (P=0,01)**	4,87	8,86	13,88	294,17				

* RR e MI = Rotylenchulus reniformis e Meloidogyne incognita.

** Estes valores (DMS) correspondem às comparações entre médias que envolvem o tratamento RR + MI, que constou de nove repetições.

(5, 19, 21). Desta forma o *M. incognita* pode se tornar um elemento de predisposição à infecção por outros microorganismos e, neste caso, é provável que o mesmo possa atuar como elemento de predisposição à infecção por *F. solani* f. *piperis* na podridão do pé e raiz da pimenteira do reino, uma enfermidade que vem dizimando os pimentais.

O *R. reniformis* produziu estímulos de crescimento na pimenteira-do-reino. Resultados semelhantes foram registrados para *Festuca* sp. quando em presença de baixos níveis de infestação de *Paratylenchus projectus* (9). Sharma e Swarup (23) verificaram o mesmo estímulo para *Lycopersicon esculentum* quando parasitado por *M. javanica* e *M. incognita acrita*. Por outro lado, resultados similares foram obtidos com *Vicia villosa* em presença de *Criconeoides curvatum* (18). Chapman (6) observou que altos níveis de infestação de *M. arenaria* produziam estímulos de crescimento ao *Trifolium pratense*, tendo Amosu e Taylor (3) verificado o mesmo fenômeno quando esta planta era exposta ao *Tylenchorhynchus agri*. Para a maioria desses resultados, os estímulos verificados foram correlacionados com os aumentos nas populações dos nematóides; todavia, neste estudo, nenhuma correlação foi observada entre estímulos de crescimento e multiplicação do *R. reniformis*. No momento, não existem explicações para este fenômeno; entretanto, futuras investigações podem elucidar este caso.

No que concerne ao tratamento de interação entre *M. incognita* e o *R. reniformis*, foram perdidas três plantas durante o experimento e os dados obtidos revelaram um efeito inibitório do nematóide reniforme sobre a população do *M. incognita*. As plantas, quando inoculadas com ambos os nematóides, exibiram valores dos parâmetros de crescimento (Quadro 1), superiores àqueles das plantas infestadas somente com *M. incognita*, o que se traduz em menor dano provocado. Este efeito inibitório resulta da competição por local de alimentação.

CONCLUSÕES

1. O nematóide das galhas, *M. incognita*, é altamente patogênico à pimenteira-do-reino, pois interfere no processo normal de crescimento e desenvolvimento da planta e, provavelmente, desempenha importante papel na manifestação da "podridão da raiz".
2. Devem ser investigados o efeito sinérgico do *M. incognita* e o fungo *Fusarium solani* f. *piperis* e as bases bioquímicas desta interação, na expressão dos sintomas da doença.
3. O nematóide *R. reniformis* estimulou o crescimento das plantas, o que merece estudos sobre diferentes níveis de infestação e, até 15 meses após a sua inoculação, não foi patogênico e sim parasítico à pimenteira-do-reino.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. João Manuel de Abreu, pela revisão dos originais, aos técnicos agrícolas João Ricardo Santos e Antonia Marli Vieira da Encarnação e ao Sr. Bernardo dos Santos pela ajuda na execução deste trabalho.

LITERATURA CITADA

1. ALBUQUERQUE, F.C. e CONDURU, M.M.P. Cultura da pimenta-do-reino na região amazônica. Belém, IPEAN, 1971, 149 p. (Série Fitotecnia, v. 2 n.º 3).
2. ——— e DUARTE, M.L.R. Moléstias da pimenta-do-reino. *Correio Agrícola (Brasil)* 2 : 18 - 22. 1972.
3. AMOSU, J.O. e TAYLOR, D.P. Stimulation of growth of red clover by *Tylenchorhynchus agri*. *Indian Journal of Nematology* 4 : 132 - 137. 1974.
4. BANCO DA AMAZÔNIA. GERÊNCIA DE CRÉDITO RURAL. Informações sobre algumas culturas da Amazônia. Belém, 1974. pp. 21 - 25.
5. BERGESON, G.B., VAN GUNDY, S.D. e THOMASON, I.J. Effect of *Meloidogyne javanica* on rhizosphere microflora and *Fusarium* wilt of tomato. *Phytopathology* 60 : 1245 - 1249. 1970.
6. CHAPMAN, R.A. Population development of *Meloidogyne arenaria* in red clover. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 18 : 106 - 108. 1963.
7. CHRISTIE, J. R. The yellows diseases of pepper (*Piper*) and spreading decline of citrus. *Plant Disease Reporter* 41 : 267 - 268. 1957.
8. COSTA, A. da S. e SANTOS, E.M. dos. Possibilidades de expansão da pimenteira-do-reino no Sul da Bahia. Ilhéus, Bahia, Brasil. CEPEC. Boletim Técnico n.º 51. 1977. 20 p.
9. COURSEN, B.W. Biology and host-parasite relationships of the nematode *Paratylenchus projectus*. Mag. Sc. Thesis. Maryland, Univ. Maryland, 1957. 41 p.
10. DELACROIX, H. Pathologie vegetale maladies vermiculaires. I — Sur une maladie du poivrier (*Piper nigrum*) en Cochichina. *Agriculture Pratique Des Pays Chauds* 1 : 672 - 680. 1901 - 1902.

11. GHESQUIERES, J. Laboratoire d'Entomologie d'Eala (Equateur); rapports de l'entomologiste. Bulletin Agricole Congo Belge 12 : 703 - 732. 1921.
12. HOAGLAND, D.R. e ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station. Circular no. 347. 1952. 32 p.
13. ICHINOE, M. Infestation of black pepper vines by the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, at Tomé-Açu, Pará, Brazil. Japanese Journal of Nematology 5 : 36 - 40. 1975.
14. ———. Nematode problems of black peppers in Bangka Island, Indonésia. Nematology News Letter 22 (3) : 2. 1976.
15. JOHANSEN, D. A. Plant microtechnique. New York, McGraw Hill, 1940. s.p.
16. LORDELLO, L.G.E. e SILVA, H.M.C. Um nematóide nocivo à pimenteira-do-reino. Revista de Agricultura (Brasil) 49 (4) : 165 - 166. 1974.
17. LUC, M. e GUIRAN, G. de. Les nematodes associés aux plantes de L'Ouest Africain. Liste préliminaire. Agronomie Tropicale 15 (4) : 434 - 449. 1960.
18. MALEK, R.B. e JENKINS, W.R. Aspect of host-parasite relationships of nematodes and hairy vetch. New York. Agricultural Experiment Station. Bulletin no. 813. 1964. 13 p.
19. MELENDEZ, P.L. e POWELL, N.T. Histological aspects of the *Fusarium* wilt root-knot complex in flue-cured tobacco. Phytopathology 57 : 286 - 292. 1967.
20. OOSTENBRINK, M. Estimating nematodes populations by some selected methods. In Sassaer, J.N. e Jenkins, W.R., eds. Nematology. Chapel Hill, N.C., Univ. of North Carolina Press, 1960. pp. 85 - 102.
21. POWELL, N.T. Interactions between nematodes and fungi in disease complexes. Annual Review of Phytopathology 9 : 253 - 274. 1971.
22. SASS, J.E. Botanical microtechnique. 3 ed. Ames, Iowa, Iowa State College Press, 1958. 228 p.
23. SHARMA, R.D. e SWARUP, G. Relation between population levels of *Meloidogyne javanica* and *Meloidogyne incognita* var. *acrita* and root and shoot growth of tomato seedlings. In Symposium International of Nematology, 8th, Antibes, 1965. pp. 79 - 82.

24. SHARMA, R.D. e LOOF, P.A.A. Nematodes of the cocoa region of Bahia, Brazil. IV - Nematodes in the rhizospheres of pepper (*Piper nigrum* L.) and clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). *Revista Theobroma (Brasil)* 4 (3) : 26 - 32. 1974.
25. SHER, S.A., CHUNRAM, C. e PHOLCHARDEN, S. Pepper yellows disease and nematodes in Thailand. *Plant Protection Bulletin* 17 (2) : 33. 1969.
26. THORNE, G. Principles of nematology. New York, McGraw Hill, 1961. 553 p.
27. VECHT, J. van der. Op planten parasiterende aaltjes (Tylenchidae). In Kalshoven, L.G.E., ed. De plagen van de cultuurgewassen in Indonesie. s'Gravenhage, Netherlands, W. van Hoeve, 1959. pp. 16 - 42.
28. ZEVEN, A.C. Black pepper. In Simmonds, N.W., ed. Evolution of crop plants. London, Longman, 1976. pp. 234 - 235.

RESUMO

Foi estudada em casa de vegetação a interação e patogenicidade do *Meloidogyne incognita* e *Rotylenchulus reniformis* sobre a pimenteira-do-reino (*Piper nigrum* L.) variedade "Singapura". As plantas, propagadas vegetativamente e cultivadas em vasos com 6 kg de solo, foram inoculadas com 6.000 larvas de cada espécie quando apresentavam as primeiras folhas, aos 2 meses de idade. Quinze meses após a inoculação, foi demonstrado que o *M. incognita* é altamente patogênico à pimenteira-do-reino, quando sozinho ou em combinação com o *R. reniformis*, enquanto que este último foi parasítico mas não patogênico às plantas. Foram observadas diferenças estatisticamente significativas ($p = 0,01$) entre as plantas infestadas com o *M. incognita* e as testemunhas, em relação ao peso seco da raiz, peso seco da parte aérea, número de folhas e área foliar. O *R. reniformis*, sozinho ou em presença do *M. incognita*, estimulou o crescimento da planta, apresentou um efeito inibitório sobre a multiplicação deste último e a população final foi reduzida consideravelmente, o que sugere futuras investigações.



CONTRIBUIÇÃO PARA O CONHECIMENTO DOS AÇÚCARES COMPONENTES DA AMÊNDOA E DO MEL DE CACAU

*Paulo Romeu Fontes Berbert**

ABSTRACT

Contribution to the Knowledge of the Sugars Component of Cacao Beans and "Sweatings"

The component sugars of cacao bean pulp, from fruits with differing intervals between harvest and breaking of the pods, were identified and quantified by gas-liquid chromatography. Sugars of the cotyledon and shell having different degrees of fermentation were also quantified and identified.

The average total sugar content in the pulp of the bean was 14.25%. The main sugar detected was sucrose. A delay of 6 days between the harvest and breaking of the fruits increased the content of glucose and fructose while decreasing that of sucrose.

The unfermented cotyledon had 2.7% sugar of which sucrose represented 91%. The fermented cotyledon contained 0.79% of sugar, of which 68.3% was fructose. Manitol was the main sugar detected in the shell of the fermented bean, and comprised 68% of the total sugars.

INTRODUÇÃO

Os açúcares existentes na amêndoa do cacau são importantes sob dois diferentes aspectos. O primeiro se refere ao processo de fermentação, pois é a partir dos açúcares existentes na

polpa externa da amêndoa fresca que se desencadeia todo o processo fermentativo do cacau, com a formação de duas substâncias básicas: o álcool etílico e, a partir deste, o ácido acético. O segundo aspecto trata dos açúcares existentes internamente na amên-

Recebido para publicação em 4 de janeiro de 1979.

* Divisão de Bioengenharia; Centro de Pesquisas do Cacau; Caixa Postal 7; 45.600 Itabuna, Bahia, Brasil.

doa. Segundo Forsith e Quesnel (2), Reineccius et al (4) e Seike (6), bem como Dietrich, Flament, Marlon e Rizzi, citados por Reineccius (4), esses açúcares, apesar de existirem em teores relativamente baixos (cerca de 2,7%), tem papel essencial na formação das substâncias responsáveis pelo aroma e sabor do chocolate. Daí, portanto, a importância de um melhor conhecimento dos açúcares componentes da amêndoa e mel de cacau e de suas transformações.

Identificações e quantificações dos açúcares presentes na amêndoa de cacau têm sido feitas por diversos autores (1, 2, 4, 5, 6). Entretanto, encontra-se muita contradição na literatura. Quando se trabalha com identificação de açúcares, mudanças na estrutura da molécula podem ocorrer facilmente devido à utilização de processos analíticos inadequados. Frequentemente os resultados relatados deixam dúvida com respeito à natureza do material analisado e, muitas vezes, não é esclarecido se as amêndoas foram utilizadas com ou sem casca.

MATERIAL E MÉTODO

Foram analisados os açúcares dos seguintes materiais: 1. Mel de cacau, com 0 e 6 dias de intervalo entre a colheita e a quebra dos frutos; 2. Amêndoas com 0; 2; 4 e 6 dias de fermentação; e 3. Casca da amêndoa (testa) com 2; 4 e 6 dias de fermenta-

ção. Estes materiais foram obtidos a partir de frutos da variedade **Comum** das plantações do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), Ilhéus, Bahia, Brasil.

O mel foi obtido centrifugando-se as amêndoas, logo após a abertura dos frutos, a 4000 rpm, por 10 minutos, em uma centrífuga tipo cesto, de Martin Christ, modelo UJ 3, Alemanha. Após obtenção do mel, este foi imediatamente submetido ao processo de extração dos açúcares.

As amêndoas foram obtidas de lotes de cacau fermentado da maneira recomendada pelo CEPEC. Após a sua coleta, as amostras foram separadas em casca (testa) e amêndoa e, imediatamente, submetidas ao processo de extração e liofilização dos açúcares.

As análises foram efetuadas em alíquotas de 5 ml de mel, ou em 10 g de amêndoas, colhidas em setembro e outubro de 1974. Foram feitas em média seis repetições e os processos utilizados para extração e purificação dos açúcares foram os de Reineccius et al (4).

Os extratos foram liofilizados sem auxílio de calor externo para evitar transformações nas estruturas químicas dos açúcares. Os liofilizados foram redissolvidos em 3 ml de piridina anidra. Após sedimentação, transferiu-se 1 ml do sobrenadante para um frasco de 5 ml de capacidade, eliminando-se, assim, as substâncias insolúveis em piridina. Fizeram-se então rea-

gir os açúcares contidos na solução com 0,5 ml de hexametildisilazana e 0,3 ml de trimetilelorosilana.

Os derivados formados, ésteres de trimetilsilila, foram então cromatografados. Utilizou-se um cromatógrafo de gás da Hewlett Packard, modelo 7620 A, equipado com detector de ionização de chama, utilizando-se uma coluna cromatográfica de 2 m de comprimento e 0,2 mm de diâmetro interno, compactada com 6% de SE-30 em Chromosorb G 80/100 malhas.

As condições de análise foram: temperatura do detector 280°C; ponto de injeção 280°C; estufa programada para 150°C por 6 minutos, com aumentos de 2°C/minuto até alcançar 180°C e, a partir daí, aumentos de 4°C/minuto até alcançar 200°C, permanecendo nesta temperatura por 6 minutos. Como gás de arraste foi utilizado hélio, na vazão de 60 ml/minuto. A identi-

cação dos açúcares foi feita através da adição de açúcares padrões e observação do aumento das áreas dos picos. A ramnose foi usada como padrão interno na quantificação dos açúcares e as áreas dos picos foram dimensionadas por integrador digital.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O mel de frutos colhidos e quebrados no mesmo dia apresentou 14,25% de açúcares totais, sendo deste total 59,6% constituídos de sacarose, 39,4% glicose e frutose e 1% de uma mistura de pentitol, sorbose, inositol e traços de substâncias não identificadas (Quadro 1). Como as análises foram realizadas em amostras coletadas em um bimestre (setembro e outubro), esses valores não representam variações nos teores de açúcares ao longo do ano.

Quadro 1 - Valores médios (% em relação à matéria úmida) dos açúcares do mel de cacau de frutos colhidos em setembro de 1974, no CEPEC, Bahia, Brasil, e quebrados 0 e 6 dias após a colheita

	Intervalo entre a colheita e a quebra	
	0	6
Pentitol	0,01	traços
Frutose	2,94	3,62
Sorbose	0,08	0,10
Glicose α	1,16	2,07
Glicose β	1,51	2,43
Inositol	0,05	traços
Sacarose	8,50	6,56
Total	14,25	14,78

Os resultados das análises do mel de frutos com 6 dias de intervalo entre a colheita e a quebra mostraram um aumento em glicose e frutose em relação ao mel de frutos colhidos e quebrados no mesmo dia. Estes aumentos foram de 68,5 e 23,1%, respectivamente. Em consequência dos aumentos dos teores de glicose e frutose, houve uma diminuição de 22,8% no teor de sacarose. Notou-se também, no caso de frutos com 6 dias de intervalo entre a colheita e a quebra, um pequeno aumento aparente no teor total de açúcares, de 14,25% para 14,78%. Este aumento deveu-se, provavelmente, à desidratação do fruto e consequente concentração do mel durante o período pós-colheita. Isto explica, em parte, os aumentos nos teores de frutose e glicose. Entretanto, esses aumentos foram devidos, principalmente, às transformações bioquímicas da sacarose.

Parece ser realmente válida, portanto, a recomendação de se aguardar alguns dias (de 3 a 6) entre a colheita e a quebra dos frutos. A desidratação do mel, com consequente aumento da concentração dos açúcares e diminuição da quantidade de líquido em torno das amêndoas, juntamente com as transformações detectadas na composição dos açúcares, irão certamente facilitar a posterior fermentação. A diminuição do excesso de líquido facilita o início da fase aeróbica, acelerando o processo fermentativo. Efeito semelhante é conseguido por meio de pren-

sagem das amêndoas e consequente retirada do excesso do mel (3, 7).

O Quadro 2 mostra que as amêndoas não fermentadas de cacau Comum possuíam, em média, 2,7% de açúcares totais, sendo que a sacarose representou 91% desse total. Em amêndoas fermentadas, o teor de sacarose diminuiu, passando a existir apenas traços após o quarto dia. No mesmo período, a frutose aumentou de seis vezes a sua concentração, em relação às amêndoas não fermentadas. O teor total de açúcares caiu, ao final da fermentação, para cerca de 1/4 da concentração inicial. As alterações que ocorreram nos demais açúcares, quando as amêndoas foram submetidas ao processo de fermentação, não foram marcantes.

O principal açúcar presente na casca de amêndoas de cacau fermentado é o manitol (Quadro 3). Este representa 67,8% do total dos açúcares; em seguida vem a frutose, com 14,7%. Os demais açúcares, inicialmente presentes na polpa fresca que envolve a amêndoa (ver composição do mel no Quadro 1), foram rápida e parcialmente destruídos durante os primeiros dias de fermentação.

CONCLUSÕES

1. Os lotes de mel analisados tiveram em média 14,25% de açúcares, dos quais a sacarose representou cerca de 60% e glicose mais frutose, 39%;

Quadro 2 - Valores médios (% em relação à matéria seca), de açúcares componentes de amêndoas de cacau, não incluindo a casca (testa), com 0, 2, 4 e 6 dias de fermentação de frutos colhidos no CEPEC, Bahia, Brasil, 1974.

	Período de fermentação			
	0	2	4	6
Pentitol	0,00	traços	traços	traços
Frutose	0,09	0,16	0,54	0,54
Sorbose	0,01	traços	0,04	0,01
Glicose α	0,03	0,02	0,21	0,06
Glicose β	0,04	0,02	0,28	0,06
Manitol	0,00	0,01	0,01	0,01
Inositol	0,03	0,04	0,04	0,05
Sacarose	2,48	1,22	0,07	0,01
Não identificados	0,03	0,02	0,01	0,06
Total	2,71	1,49	1,20	0,80

Quadro 3 - Valores (% em relação à matéria seca) de açúcares componentes da casca de amêndoa (testa), com 2, 4 e 6 dias de fermentação.

	Período de fermentação		
	2	4	6
Frutose	3,23	0,71	0,48
Sorbose	0,05	0,13	0,09
Glicose α	0,54	0,05	0,13
Glicose β	0,82	0,22	0,24
Manitol	1,68	2,05	2,22
Inositol	0,36	0,14	0,06
Sacarose	0,18	traços	traços
Não identificados	0,29	0,10	0,04
Total	7,17	3,42	3,27

2. Um intervalo de 6 dias entre a colheita e a quebra dos frutos provocou um aumento nos teores de glicose e frutose, e uma consequente diminuição no teor de sacarose;

3. O teor de açúcar encontrado na amêndoa de cacau não fermentado foi de 2,7%, sendo 91% desse total constituídos de sacarose. Na amêndoa fermentada, o total de açúcares caiu para aproximadamente 1/4 do seu teor inicial. A frutose, isoladamente, entretanto, apresentou um teor seis vezes maior em relação às amêndoas não fermentadas, tornando-se assim, o principal açúcar;

4. O manitol representou 68% do total de açúcares determinados na casca (testa) da amêndoa fermentada; observou-se um aumento progressivo desse açúcar em relação ao desenvolvimento da fermentação; e

5. As transformações que ocorreram nos açúcares (aumento nos teores de frutose e glicose, juntamente com o aumento da concentração do mel e consequente diminuição do seu volume no interior do fruto, por desidratação do mesmo) são, provavelmente, responsáveis pelo fato de o cacau fermentar mais rapidamente quando existe um intervalo de alguns dias entre a colheita e a quebra dos frutos.

LITERATURA CITADA

1. DITTMAR, H.F.K. The composition of the pulp of various varieties of Bahia cocoas. *Gordian* 56 (1334) : 18 - 19. 1956.
2. FORSYTH, G.C. e QUESNEL, V.C. The mechanism of cacao curing. *Advances in Enzymology* 25 : 457 - 492. 1963.
3. LOPEZ, A.S. Organoleptic quality of cacao as affected by partial removal of pulp juices from the beans before curing. *Revista Theobroma (Brasil)* 9 : 27 - 36. 1979.
4. REINECCIUS, G.A. et al. Identification and quantification of the free sugars in cocoa beans. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 20 (2) : 199 - 203. 1972.
5. ROHAN, T. H. Raw cocoa for the market. Rome, FAO, 1964. pp. 13 - 17.
6. SEIKE, K. Some aspects of cocoa beans roasting in relation to products of several countries, degree of fermentation and acid beans. In *Conferencia Internacional de Investigación en Cacao*, 6^a, Caracas, 1977. s.e., 1977. v. 3, pp. 1 - 20.

7. SERRA, W.S. Influência da prensagem das amêndoas de cacau na qualidade do produto final. Tese Mag. Sc. Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, 1977. 96 p.

RESUMO

Foram identificados e quantificados, por cromatografia em fase gasosa, os açúcares componentes do mel de cacau de frutos com diferentes intervalos entre a colheita e a quebra, bem como da amêndoa e da casca da amêndoa com diferentes graus de fermentação.

O teor médio de açúcares totais encontrado em amostras de mel foi de 14,25%, sendo a sacarose o principal açúcar detectado. O intervalo de 6 dias entre a colheita e a quebra do fruto proporcionou um aumento significativo nos teores de glicose e frutose e um decréscimo no teor de sacarose.

Os teores de açúcares totais em amêndoas sem fermentar foi de 2,7%; em amêndoas fermentadas, este teor foi de 0,79%. No primeiro caso, a sacarose representou 91,0% do total e, no segundo, a frutose foi o principal açúcar, com 68,3%. Por outro lado, na casca de amêndoas fermentadas, o principal açúcar detectado foi o manitol, representando 68,0% do total de açúcares.



COMPOSIÇÃO QUÍMICA DAS FOLHAS DO CACAUEIRO EM FUNÇÃO DA IDADE E DA ÉPOCA DO ANO

*Maria Bernadeth Machado Santana **

*Kozen Igue ***

ABSTRACT

The Mineral Composition of Cacao Leaves as a Variation of Season and Leaf Age

This study was conducted in order to determine the variations in mineral composition (N, P, K, Ca and Mg) of cacao leaves. The first part consisted in the determination of the most suitable leaf sample for chemical analysis as related to age, selfshading among leaves within the same tree and leaf flushings. The samples for this preliminary study were obtained from 4-year old Catongo cacao trees in an experimental field where fertilization timing was being studied. Subsequently another work was conducted to study the monthly variation of the major nutrients on leaves of cacao trees in shade by fertilizer.

The results showed a trend of N and K to increase with fertilization and to decrease with leaf age; P showed little variation: a slight decrease in older leaves and a inverse response to fertilization. Calcium appeared at higher concentrations in the older leaves due to its low mobility and remained high in spite of leaf flushings. Magnesium was the least influenced by the factors under study.

Little seasonal variation was observed for all the macro nutrients except potassium which decreased at the flushing period. Calcium showed an opposite pattern as compared to potassium. Shading and fertilization increased the levels of N and K while those of P and Mg decreased.

The average values of N and K content of the leaves are, in general, lower than those obtained for other cocoa regions of the world.

Recebido para publicação em 17 de outubro de 1978.

* Divisão de Geociências (DIGEO); Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC); Caixa Postal 7; 45.600 - Itabuna, Bahia, Brasil.

** DIGEO, CEPEC. Atualmente Diretor do Instituto Agrônomo do Paraná; Rodovia Celso Garcia Cid - km 375; Caixa Postal 1331; 86100 - Londrina, Paraná, Brasil.

INTRODUÇÃO

A análise foliar é uma técnica tradicionalmente empregada para indicar a necessidade de fertilizantes de diversas culturas, tais como: cana, citrus, dendê, borracha etc. No caso particular do cacaueiro, esta técnica tem sido usada em alguns estudos relacionados com nutrição mineral da planta, mas não como prática para recomendação de fertilizantes (1, 10, 11). Isto se deve, aparentemente, à dificuldade até então encontrada por diversos pesquisadores (1, 5, 10, 14) em estabelecer boas correlações entre composição mineral das folhas e grau de fertilidade do solo.

Além dos fatores normais que podem comprometer a técnica de amostragem, tais como idade da folha e da árvore, posição da folha, variação sazonal etc, há de se considerar no cacaueiro possíveis variações resultantes de diferença em grau de sombreamento ou relacionadas aos fluxos de crescimento da própria planta (**lançamento**).

O presente trabalho objetivou um estudo da técnica de amostragem das folhas do cacaueiro, procurando-se separar a influência de algumas possíveis fontes de variação de resultados, tais como posição da folha em relação à luminosidade ambiental, período do ano, idade da folha, presença e ausência de lançamentos, presença e ausência de árvores de sombra, em área adubada e não adubada.

MATERIAL E MÉTODO

Foram conduzidos dois experimentos no Centro de Pesquisas do Cacau, Ilhéus, Bahia.

Estudo I. Numa área de cacau Catongo, com 4 anos de idade, em que se conduzia pesquisa sobre a época mais indicada para adubação, foram selecionados dois tratamentos; adubado no mês de abril (30-90-90 kg/ha de N, P_2O_5 e K_2O , respectivamente) e testemunha (sem adubo), com o objetivo de se determinar a idade da folha a ser amostrada e sua posição na planta. Com relação à idade, foram consideradas quatro folhas a partir da gema apical ou do lançamento (Figura 1). Essas quatro folhas eram tomadas em ramos expostos ao sol ou sombreados pela própria planta, o que definia a posição da folha na planta. De cada tratamento (com e sem adubo), foram tomadas 40 folhas na época do lançamento e 40 folhas na época em que não ocorreu lançamento.

Estudo II. Numa quadra do CEPEC, em que se conduzia experimento sobre o efeito da sombra e adubação em plantações de cacau, foi efetuada amostragem mensal de folhas para estudo da variação estacional de nutrientes no cacaueiro. De cada tratamento, isto é, plantas ao sol, com adubo* e sem adubo, e plantas à sombra, com adubo* e

* 30-45-90 kg/ha de N, P_2O_5 e K_2O , respectivamente, e uma complementar de N e K_2O à razão de 30 e 45 kg/ha, respectivamente.



Figura 1 – Folhas consideradas para amostragem de acordo com a idade. A. Ramo com gema apical; e B. Ramo com lançamento.

sem adubo, foram selecionadas seis árvores, coletando-se, em cada uma delas, a 2ª folha madura (a partir do ápice) localizada na parte baixa da planta, ou seja, no ramo auto-sombreado. De cada planta, coletaram-se quatro folhas, perfazendo, por tratamento, um total de 24 folhas que constituíram a amostra.

Preparo e análise química do material. Depois de colhidas, as amostras foram lavadas com água destilada e submergidas por aproximadamente 30 segundos em solução 0,01 N de HCL, seguindo-se lavagens com água destilada de acordo com o procedimento de Arkley et al (3). As folhas lavadas foram colocadas em sacos de papel, secadas em estufa ventilada a 65–70°C e moídas em moinho Wiley Mill. O material moído foi homogeneizado e mantido em frasco para

evitar absorção de umidade. As amostras foram digeridas em misturas nítroperclóricas (5:1), para determinação das quantidades de P, K, Ca e Mg no extrato.

O fósforo foi determinado por colorimetria com reagente cloromolibdico em presença de cloreto estanhoso. O potássio foi determinado por fotometria de chama e o cálcio e magnésio por titulação com EDTA – 2Na. O nitrogênio foi determinado pelo método semimicro Kjeldahl e posterior destilação por via úmida com fluxo de vapor (4).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes ao Estudo I são apresentados nos Quadros 1 e 2.

De acordo com esses dados, o teor de N tende a diminuir à medida que

Quadro 1 - Variação no teor de N, P, K, Mg e Ca (% na matéria seca) em folhas de cacaueteiro por efeito da posição dos ramos na copa (grau de exposição à luz), em plantas adubadas e não adubadas, com e sem lançamentos.

Elemento	Posição do ramo ¹	Com Adubação		Sem Adubação	
		Sem Lançam.	Com Lançam.	Sem Lançam.	Com Lançam.
Nitrogênio	1	2,14	1,82	2,25	1,74
	2	2,15	1,73	2,16	1,63
		DMS 5%	0,14		
Fósforo	1	0,18	0,14	0,19	0,20
	2	0,18	0,14	0,20	0,19
		DMS 5%	0,03		
Potássio	1	1,43	1,01	1,11	0,87
	2	1,42	1,03	1,27	0,88
		DMS 5%	0,14		
Magnésio	1	0,84	0,89	1,01	0,86
	2	0,86	0,88	1,04	0,85
		DMS 5%	0,12		
Cálcio	1	1,79	2,52	1,86	2,50
	2	1,88	2,68	2,00	2,82
		DMS 5%	0,24		

¹A posição 1 ocupa a parte alta da planta, exposta ao sol, e a posição 2, a parte baixa (auto-sombreada).

Quadro 2 - Variação no teor de N, P, K, Ca e Mg (% na matéria seca) em folhas de cacaueiro, em função da idade relativa das folhas, presença e ausência de lançamentos, em plantas adubadas e não adubadas.

Elemento	Nº da folha ¹ no ramo	Com Adubação ²		Sem Adubação	
		Sem Lançam.	Com Lançam. ³	Sem Lançam.	Com Lançam.
Nitrogênio	1	2,17	1,85	2,31	1,78
	2	2,18	1,84	2,36	1,72
	3	2,14	1,71	2,26	1,66
	4	2,01	1,70	1,89	1,58
DMS 5% 0,19					
Fósforo	1	0,18	0,15	0,19	0,20
	2	0,19	0,15	0,20	0,19
	3	0,18	0,14	0,19	0,18
	4	0,17	0,12	1,19	0,19
DMS 5% 0,04					
Potássio	1	1,45	1,06	1,26	0,91
	2	1,49	1,14	1,28	0,98
	3	1,41	0,97	1,12	0,82
	4	1,36	0,89	1,11	0,77
DMS 5% 0,19					
Cálcio	1	1,66	2,42	1,78	2,55
	2	1,75	2,47	1,76	2,66
	3	1,89	2,77	2,05	2,86
	4	2,00	2,75	2,11	2,59
DMS 5% 0,33					
Magnésio	1	0,88	0,92	1,00	0,76
	2	0,91	0,84	1,04	0,80
	3	0,77	0,88	1,04	0,87
	4	0,85	0,90	1,02	1,02
DMS 5% 0,16					

¹ Representa folhas fisiologicamente maduras, a partir do ápice;

² Adubação efetuada anualmente em abril;

³ Lançamento de mais de dois pares de folhas novas.

aumenta a idade da folha. As folhas dos ramos com lançamento apresentam teores mais baixos do que as folhas dos ramos sem lançamento ($P \leq 0,05$). Essa diminuição do N nas folhas, em função da idade e do lançamento, é provavelmente devida à grande mobilidade desse elemento, principalmente nos ramos com lançamento, para o qual o fluxo deve ser mais intenso pela força que representa esse dreno na planta. A adubação aumenta o teor de N nas folhas. Não houve diferença quanto à posição do ramo em relação à luminosidade.

O fósforo parece não variar muito com a idade da folha. Nos tratamentos com adubação, nota-se diminuição nos níveis de fósforo das folhas com lançamento. É possível que tenha havido maior translocação do elemento na planta em decorrência do aumento de lançamentos causado pela adubação. Wessel (16) e Malipant (12) são unânimes ao mencionarem que adubações nitrogenadas e potássicas exercem efeito depressivo sobre o nível de P na folha. Também Hardy e colaboradores, citados por Murray (14), encontraram baixo conteúdo de P em relação a N e K nas folhas. Em contraposição, Burridge e colaboradores (5) apresentam dados de correlações positivas e altamente significativas entre teores de N x P e P x K nas folhas. Não existe diferença devido à posição da folha.

Os teores de K apresentam tendência a diminuir com a idade a partir da segunda folha, sendo geralmente mais

elevados nos lotes adubados. Há um gradiente de concentração desse elemento entre folhas de diferentes idades, isto é, vai diminuindo nas folhas mais velhas. Mais notável, porém, é a diferença das folhas dos ramos com lançamento para as folhas dos ramos sem lançamento ($P \leq 0,05$). Isso, sem dúvida, é consequência da grande mobilidade desse elemento na planta. Humphries (8) verificou, em folhas marcadas logo após a expansão, uma diminuição progressiva de N, P e K a partir da oitava e nona semanas e sugeriu como causa principal o transporte de elementos para as folhas de novos fluxos que começaram a se desenvolver a partir da nona semana. As folhas coletadas na parte autosombreada da planta apresentam níveis ligeiramente superiores desse elemento, o que concorda com as afirmativas de Acquaye (1) e de Burridge e colaboradores (5).

Ao contrário do que ocorre com N, P e K, que, sendo bastante móveis, se deslocam facilmente para as folhas mais novas, o Ca aumenta com a idade e com o lançamento. Nas folhas colhidas na área adubada, o Ca se apresenta em nível mais baixo do que na área não adubada. A posição da folha na árvore parece não exercer grande influência sobre o teor deste elemento. O Mg é o menos influenciado pelos fatores estudados, embora apresente tendência a elevar-se ligeiramente nas folhas da área não adubada.

Os resultados do estudo sobre variação mensal de N, P e K, são apresentados na Figura 2 e os de Ca e Mg na Figura 3. Os teores médios de cada elemento, com relação aos diferentes tratamentos, encontram-se no Quadro 3.

As variações mensais de N foram bastante pequenas no decorrer do período considerado e os maiores teores desse elemento ocorreram nas áreas adubadas. A sombra exerceu influência positiva sobre os níveis de N na folha, mesmo na área sem adubo, tendo sido também pequena a variação mensal aí ocorrida. Essa influência da sombra é talvez uma influência indireta e possivelmente está relacionada com o conteúdo de matéria seca, que é afetado pela intensidade de luz. A porcentagem de matéria seca diminui com a diminuição da intensidade luminosa (7) e, nessas condições, expresso em porcentagem na matéria seca, o teor de N parece muito mais elevado nas folhas à sombra.

Outro fator em favor do maior teor de nitrogênio em cacaueros sombreados é o possível enriquecimento do solo nesse elemento como consequência da associação simbiótica entre bactérias fixadoras de N atmosférico e as árvores de sombra que, via de regra, são leguminosas (*Erythrina glauca*). O sombreamento de cacauais com eritrina, em solos Cepec e Colônia, acarretou um incremento de 240 a 250 ppm de N total em relação aos mesmos solos quando com cacauais sombreados com bananeira e cujos teo-

res foram 1170 e 1340 ppm, respectivamente (15). Outra suposição para explicar o fato seria admitir que há maior depleção do N nas folhas de cacaueros ao sol devido a uma demanda maior pela produção de frutos e maior produção de carboidratos em geral. BurrIDGE e colaboradores (5) obtiveram resultados semelhantes em Gana, não só com relação ao fator sombra como também com relação à irrigação e postularam que, com exceção dos tratamentos fertilizantes, qualquer fator que contribua para aumentar a produção é responsável pela diminuição de determinados nutrientes na folha.

O P só apresentou pequena variação mensal e seus níveis na folha foram superiores nos tratamentos sem adubo, principalmente no tratamento ao sol. Isso pode ser em parte explicado como efeito indireto, pois, com o aumento de lançamentos, decorrente principalmente de adubações nitrogenadas, deve haver maior deslocamento do P para as folhas recém-brotadas.

O K foi o elemento que mais respondeu aos fatores em estudo, tendo apresentado certa variação sazonal em seus teores, com decréscimo nos meses de setembro a dezembro. Setembro a dezembro e fevereiro a abril constituem geralmente os períodos em que ocorre a maior queda de folhas e, concomitantemente, ocorrem os maiores fluxos foliares (2). Os decréscimos em potássio na folha parecem, portanto, associados às épocas de brotação das gemas e expansão foliar. Martins (13)

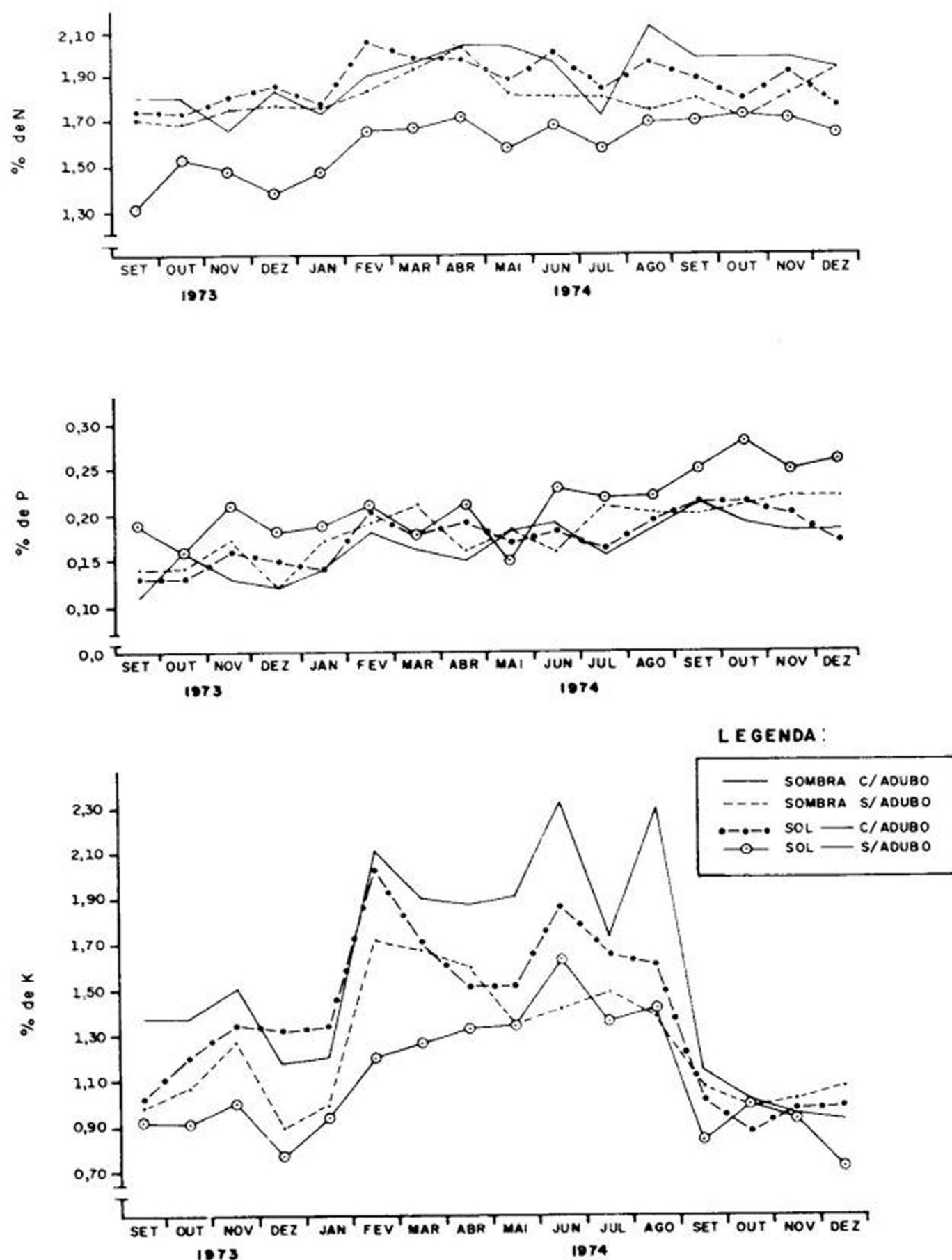


Figura 2 - Variação mensal de N, P e K (% na matéria seca) em folhas de cacauero coletadas ao sol e sombra em áreas adubadas e não adubadas.

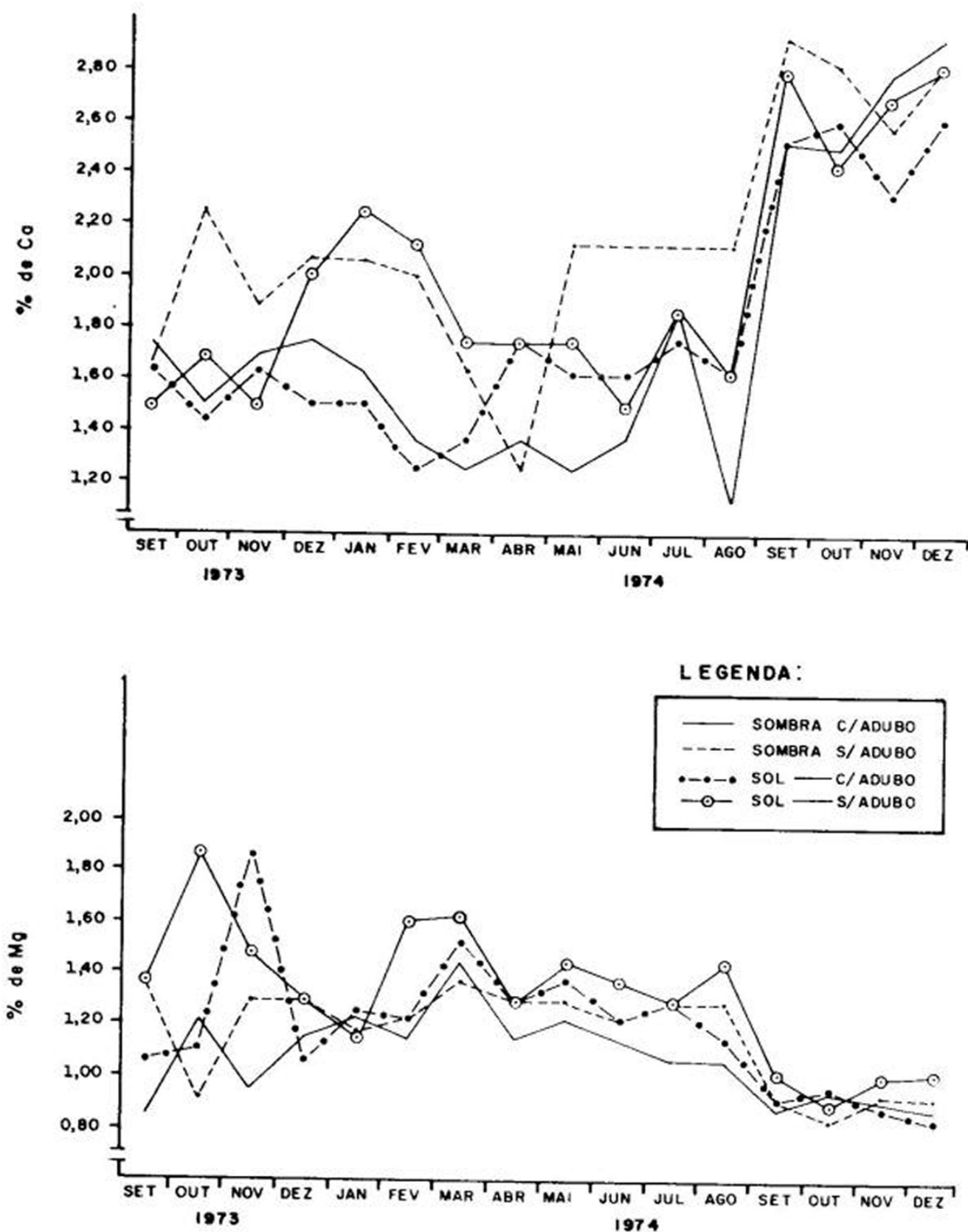


Figura 3 - Variação mensal de Ca e Mg (% na matéria seca) em folhas de cacauero coletadas ao sol e à sombra em áreas adubadas e não adubadas.

Quadro 3 - Teores médios de N, P, K, Ca e Mg (% na matéria seca) em folhas de cacauzeiro coletadas mensalmente, de setembro de 1973 a dezembro de 1974, em plantas ao sol e à sombra, adubadas e não adubadas.

	N	P	K	Ca	Mg
	%				
Sombra c/ adubação	1,89	0,16	1,54	1,79	1,07
Sombra s/ adubação	1,82	0,18	1,24	2,15	1,16
Sol c/ adubação	1,86	0,17	1,37	1,97	1,18
Sol s/ adubação	1,59	0,21	1,09	2,00	1,32
DMS ($P \leq 0,05$)	0,06	0,013	0,12	0,16	0,11

obteve resultados semelhantes ao analisar a seiva xilemática do cacauzeiro. Sendo bastante móvel na planta, o K se desloca facilmente para os drenos metabólicos, representados, neste caso, pelas folhas recém-brotadas. As folhas dos cacauzeiros sombreados apresentam maior teor desse elemento. Como a produção de matéria seca é comprovadamente maior em plantas ao sol (7), a diluição do elemento pode ser apontada como uma das causas para a sua menor concentração em plantas de áreas não sombreadas.

O Ca comportou-se de maneira totalmente oposta ao K. Esse aparente antagonismo entre esses dois elementos ocorreu também na fase de estudo relacionado com idade da folha e tem sido um fenômeno mencionado em vários trabalhos referentes a diagnose foliar do cacauzeiro por métodos químicos (5, 14, 16). Uma hipótese é a de que K e Ca se comportam como íons complementares para manter aproximadamente estável a soma de cátions

na folha. Assim, ao ser transportado para as folhas jovens, o K é substituído pelo Ca, que passa a compensar as cargas negativas. Expressando-se a soma de $Ca^{++} + Mg^{++} + K^{+}$ em mEq/100g de matéria seca, observa-se uma tendência para valores aproximadamente constantes nos diferentes períodos (Quadro 4). Essa explicação foi também apresentada por BurrIDGE e colaboradores (5) para resultados semelhantes obtidos em Gana.

O Mg foi, em média, ligeiramente superior na área sem adubo e mais ainda na área ao sol. É possível que o maior crescimento vegetativo das árvores nas áreas adubadas tenha contribuído para efeito de diluição do elemento. É possível também que, sendo um elemento componente da molécula de clorofila, sua absorção seja mais intensa quando a planta está sob mais alta atividade fotossintética, o que explica a presença de maiores teores nas áreas ao sol.

Quadro 4 - Soma de bases (K+Ca+Mg em mEq/100g de matéria seca) em folhas de cacaueteiro ao sol e à sombra, em áreas adubadas e não adubadas (setembro de 1973 e dezembro de 1974).

1973		set. out. nov. dez.			
Somb. c/ ad.		193	212	202	213
Somb. s/ ad.		221	216	234	233
Sol s/ ad.		196	194	271	197
Sol c/ ad.		213	263	224	227
1974	jan. fev. mar. abr. mai. jun. jul. ago. set. out. nov. dez.				
Somb. c/ ad.	214 217 231 211 213 223 228 203 228 228 239 243				
Somb. s/ ad.	226 251 238 211 248 244 252 249 250 236 232 244				
Sol s/ ad.	211 216 239 234 233 230 237 217 228 231 214 224				
Sol c/ ad.	232 233 256 229 242 231 236 237 245 221 241 244				

De um modo geral, os níveis médios para N, P e K em folhas de cacaueteiro da área estudada estão, com exceção do P, abaixo dos níveis apresentados por alguns autores para outros países (5, 9, 11, 14). Isso não indica, entretanto, carência do elemento na área em apreço, desde que as produções aí obtidas tem sido relativamente eleva-

das, conforme dados apresentados por Cabala et al (6).

O fato de o cacaueteiro desenvolver-se em condições bastante especiais, onde ocorrem interações de fatores múltiplos, tem dificultado o emprego da técnica da análise foliar como guia para recomendação de fertilizantes.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Dr. Paulo de Tarso Alvim e Dr. Fernando N. Ezeta, pelas críticas e sugestões apresentadas na redação do trabalho; aos Drs. F. Percy Cabala e Francisco Ilton Moraes, ao Técnico Gilberto C. Pereira e ao Técnico de laboratório José Nelson Machado, pela colaboração prestada na elaboração deste trabalho; e ao Dr. Júlio Roger Arroyo, pelas análises estatísticas.

LITERATURA CITADA

1. ACQUAYE, D.K. Foliar diagnose as a diagnostic technique in cacao nutrition. I. Sampling procedure and analytical methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 12 : 855 - 863. 1964.

2. ALVIM, P. de T. Cacao. In ——— e Kozlowsky, T.T., eds. *Ecophysiology of tropical crops*. New York, Academic Press, 1977. pp. 279 - 313.
3. ARKLEY, T.H., MUNNS, D.N. e JOHNSON, C.M. Preparation of plant tissue for micronutrient analysis; removal of dust and spray contaminants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 8 (4) : 318 - 321. 1960.
4. BREMNER, J.M. Total nitrogen. In Black, C.A. et al, eds. *Methods of soil analysis. Part. 2. Chemical and microbiological properties*. Madison, Wisconsin, American Society of Agronomy, 1965. pp. 1149 - 1118 (Agronomy no. 9).
5. BURRIDGE, J.C., LOCKARD, R.G. e ACQUAYE, D.K. The levels of nitrogen, phosphorus, potassium, calcium and magnesium in the leaves of cacao (*Theobroma cacao* L.) as affected by shade fertilizer, irrigation and season. *Annals of Botany* 28(111) : 401 - 417. 1964.
6. CABALA ROSAND, F.P. et al. Exigências nutricionais e fertilização do cacaueiro. Itabuna, Bahia, Brasil. CEPEC. Boletim Técnico nº 30. 1975. 59 p.
7. FENNAH, R.G. Nitrogen partition in the normal cacao leaf. In St. Augustine, Trinidad, ICTA. Report on cacao research 1953. St. Augustine, Trinidad, 1954. pp. 45 - 52.
8. HUMPHRIES, E.C. Leaf flux and mineral intake by the shoot. In Port-of-Spain, Trinidad, ICTA. Report on cacao Research 1939. St. Augustine, Trinidad, 1940. pp. 47 - 51.
9. LOUË, A. Étude des carences e des déficiences minerales sur le cacaoyer. Paris. IFCC. Bulletin no. 1. 52 p. 1961.
10. KEE, S.N. A review of factors influencing the fertilizer requirement of cocoa plantings in Malasya. *Planter* 47 (549) : 514 - 533. 1971.
11. MACHICADO, M. e HAVORD, G. La nutrición mineral del cacao; algunos resultados preliminares del analisis quimico de hojas de cacao. In Conferencia Interamericana del Cacao, 7a, Palmira, Colombia, 1958. Palmira, Colombia, Ministério de Agricultura, 1958. pp. 455 - 474.
12. MALIPHANT, G.K. The nutrition of cacao. Part II. Leaf nitrogen and phosphorus contents. In St. Augustine, Trinidad, ICTA. Report on cacao research 1957/58. St. Augustine, Trinidad, 1959. pp. 76 - 79.

13. MARTINS, V.D. Variação sazonal de alguns elementos minerais na seiva xilemática do cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.). Tese Mag. Sc. Salvador, Bahia, UFBA, 1976. 40 p.
14. MURRAY, D.B. Leaf analysis applied to cocoa. Cocoa Growers' Bulletin No. 9 : 25 - 31. 1967.
15. SANTANA, M.B.M. e MORAIS, F.L. The effect of shading with "Eritrina" (*Erythrina fusca*) on the nitrogen levels of soils planted with cocoa. In Conference on Limitations and Potentials for Biological Nitrogen Fixation in the Tropics, Brasília, Brazil, 1977. Proceedings. New York, Plenum Press, 1978. p. 345.
16. WESSEL, M. Effects of fertilizer spacing, and yield on mineral composition of cocoa leaves. In Conference Internationale sur les Recherches Agronomiques Cacaoyeres, Abidjan, 1965. Paris, IFCC, 1967. pp. 64 - 66.

RESUMO

O presente estudo foi conduzido na região cacaueira da Bahia com o objetivo de se conhecerem as variações dos teores de N, P, K, Ca e Mg em folhas de cacau. Numa primeira fase, utilizando-se amostras oriundas de área correspondente a um experimento sobre época de adubação, em cacau Catongo com 4 anos de idade, procurou-se, especificamente, determinar a idade em que a folha é mais adequada para análise, sua posição na planta com relação a autosombreamento e efeito dos lançamentos novos.

Subseqüentemente, numa área experimental sobre interação sombra x fertilizante, em cacauais da mesma região, conduziu-se um estudo da variação mensal dos macronutrientes e suas flutuações em função desses fatores.

Os resultados obtidos na primeira fase indicam que os teores de N e de K tendem a aumentar com a adubação e diminuir com a idade da folha. O P não variou muito, embora tenha diminuído ligeiramente nas folhas mais velhas e a adubação exerceu efeito inverso sobre o teor de P nas folhas. O Ca, sendo pouco móvel na planta, apresentou-se em maior quantidade nas folhas mais velhas e não diminuiu com o lançamento. O Mg foi o menos influenciado pelos fatores estudados.

A variação sazonal de macronutrientes foi praticamente inexistente a não ser um decréscimo dos teores de K nos períodos de lançamento. O Ca comportou-se

de maneira totalmente oposta ao K. A sombra e a adubação influenciaram positivamente os teores de N e K e concorreram para diminuir os teores de P e Mg. Os níveis médios para N e K estão, em geral, abaixo dos níveis apresentados para outras regiões produtoras de cacau.



**CERATOPOGONID MIDGES (Diptera: Nematocera)
COLLECTED FROM CACAO FLOWERS
IN PALMIRA, COLOMBIA:
AN ACCOUNT OF THEIR POLLINATING ABILITIES**

*Saulo de J. Soria**

*Willis W. Wirth***

ABSTRACT

This paper reports a list of midges (Diptera: Ceratopogonidae) collected from cacao flowers in Palmira, Colombia. *Forcipomyia (Euprojoannisia) blantoni* Soria and Bystrak was considered the most important species to pollinate cacao flowers in the area. This conclusion was based on the determination of the flower visiting habits of this insect that fit the flower biology of *Theobroma cacao* L. Other species identified were *F. (Forcipomyia) genualis* (Loew), *F. (F.) argenteola* Macfie, *F. (F.) cinctipes* Macfie, *F. (Microhelea) fuliginosa* (Meigen), *F. (Lasiohelea) styliifera* Lutz, *Dasyhelea* near *grisea*, *Culicoides insignis* (Lutz), *C. pusillus* (Lutz), *Stylobezia* near *pruinosa* Wirth and a few other species not identified yet.

INTRODUCTION

The purpose of the present work is to offer a taxonomic diagnosis for 143 midges collected from cacao flowers by Agr. Eng. Mr. Jaime de la Cruz in cacao gardens of the Research Center of the Instituto

Colombiano Agropecuario (ICA), Palmira, Valle, Colombia. Midges were collected manually during the course of natural pollination studies carried out during 1971-1972 (2, 7), but collecting continued until 1976. Mr. de la Cruz then offered the midges to us for identification.

Received for publication March 23, 1979.

* Divisão de Zoologia Agrícola, Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC), Caixa Postal 7, 45600, Itabuna, Bahia, Brazil.

** Systematic Entomology Laboratory, IBIII, Agr. Res., Sci. & Educ. Admin., USDA, c/o U. S. National Museum, Washington, D. C. 20560, U.S.A.

In earlier attempts to identify these midges (2, 7) the following genera and subgenera were reported: *Forcipomyia* (*Euforcipomyia*), *Forcipomyia* (*Forcipomyia*), *Atrichopogon*, *Dasyhelea* and *Stilobezia*.

MATERIAL AND METHODS

According to the method of Saunders (6) the head, a wing and the abdomen of every female midge were split off from the body and oriented under a dissecting microscope for measurement and identification. Male genitalia were isolated within the last three abdominal segments to allow observation of the internal and external structures under higher magnification. All structures were mounted in Canada balsam softened by the addition of pure phenol in a 0.50/0.50 volumetric equivalence, according to the method described by Wirth (10). The structures were covered by coverslips for observation under a compound microscope. Measurement of wings was made under 20x magnification. Antennae, tarsi, maxillary palpi and other structures were measured under 80x magnification using a standard micrometric scale.

In the text of this description, Tarsal Ratio (TR) is the result of dividing the length of the first tarsomere by the length of the second. Antennal Ratio (AR) is the result of dividing the combined lengths of the five distal

flagellomeres by the combined lengths of the eight proximal flagellomeres (3). The length of the wing, according to the terminology adopted by Wirth (10) is measured from the basal arculus to the wing tip; the Costal Ratio (CR) is the result of dividing the distance from the basal arculus to the end of the second radial cell by the wing length (10). The Palpal Ratio (PR) of the female is the result of dividing the length of the third palpal segment by its maximum width (11). Taxonomic ratios mentioned above are the same as those used by Chan and Le Roux (1). Wirth and Messersmith (14) and other ceratopogonid taxonomists.

RESULTS AND DISCUSSION

The following genera and subgenera (Table 1) were found: *Forcipomyia* (*Euprojoannisia*), *F.* (*Forcipomyia*), *F.* (*Microhelea*), *F.* (*Lasiohelea*), *F.* (*Trichohelea*), *Dasyhelea*, *Atrichopogon*, *Stilobezia* and *Culicoides*. The bulk of the material, however, belonged to a limited number of species.

Forcipomyia (*Euprojoannisia*) *blantoni* Soria and Bystrak, 3 males, 2 females, with taxonomic characters as described in the original paper (8). Two additional specimens of the subgenus *F.* (*Euprojoannisia*) Brethes were arbitrarily designated as sp. 1 and sp. 2, respectively, which differ from *blantoni* in some of the values listed in Table 1. The name *Euprojoannisia* Brethes 1914 in the report

Table 1 - Mean taxonomic measurements of ceratopogid midges (Diptera, Nematocera) collected in Palmira, Valle, Colombia, 1971-1976.

Species	Size of sample and sex.	Tarsal Ratio (T.R.)	Costal Ratio (C.R.)	Antenal Ratio (A. R.)	Palpal Ratio (P.R.)	Wing Length (mm)	Wing Width (mm)
<i>Forcipomyia</i> (E.) <i>blantoni</i> Soria & Bystrak	3 male	1.64	0.47	1.08	-	1.00	0.29
<i>Forcipomyia</i> (E.) <i>blantoni</i> Soria & Bystrak	2 fem.	1.59	0.45	0.88	3.25	0.96	0.37
<i>Forcipomyia</i> [<i>Euprojoannisia</i>] sp. 1	1 fem.	1.90	0.53	0.61	3.0	0.70	0.33
<i>Forcipomyia</i> [<i>Euprojoannisia</i>] sp. 2	1 fem.	1.67	0.55	0.94	2.5	0.77	0.37
<i>Forcipomyia</i> (F.) <i>genualis</i> (Loew)	12 male	0.55	0.53	1.16	-	1.14	0.37
<i>Forcipomyia</i> (F.) <i>genualis</i> (Loew)	12 fem.	0.52	0.49	1.11	2.56	1.03	0.40
<i>Forcipomyia</i> (F.) <i>harpegonata</i> Wirth & Soria	1 fem.	0.71	0.45	1.24	2.0	1.03	0.42
<i>Forcipomyia</i> (F.) sp. 2	4 fem.	0.93	0.61	1.10	2.08	0.86	0.39
<i>Forcipomyia</i> (M.) <i>fuliginosa</i> (Meigen)	7 male	0.46	0.61	1.04	-	1.59	0.45
<i>Forcipomyia</i> (M.) <i>fuliginosa</i> (Meigen)	8 fem.	0.70	0.51	1.18	2.44	1.37	0.57
<i>Dasyhelea</i> sp. 1 near <i>grisea</i> (Coq.)	2 male	2.63	0.50	1.02	-	1.03	0.34
<i>Dasyhelea</i> sp. 1 near <i>grisea</i> (Coq.)	24 fem.	2.58	0.55	0.90	2.18	0.94	0.42
<i>Atrichopogon</i> sp. 1	5 male	2.26	0.64	1.35	-	1.13	0.37
<i>Atrichopogon</i> sp. 1	32 fem.	2.16	0.69	1.57	2.15	1.03	0.46
<i>Culicoides insignis</i> Lutz	1 male	2.06	-	-	-	-	-
<i>Culicoides insignis</i> Lutz	4 fem.	2.49	0.64	1.06	2.83	-	-
<i>Dasyhelea</i> sp. 2	5 fem.	2.49	0.50	0.76	2.33	0.70	0.33
<i>Dasyhelea</i> sp. 3 (<i>cincta</i> group)	1 male	1.62	0.52	1.05	-	1.13	0.35
<i>Dasyhelea</i> sp. 4 (<i>grisea</i> group)	1 fem.	2.67	0.53	0.84	3.0	1.06	0.47
<i>Dasyhelea</i> sp. 5 (small black)	1 fem.	2.36	0.45	0.84	4.0	0.68	0.28
<i>Atrichopogon</i> sp. 2 (bare wing)	1 fem.	3.11	0.71	1.68	1.67	0.82	0.35
<i>Atrichopogon</i> sp. 3 (abdominal spines)	2 fem.	2.82	0.70	1.66	2.33	1.02	0.47
<i>Forcipomyia argenteola</i> Macfie	2 male	0.51	0.46	1.06	-	1.53	0.33
<i>Forcipomyia argenteola</i> Macfie	3 fem.	0.48	0.46	1.22	2.14	1.05	0.46
<i>Forcipomyia cinctipes</i> group	2 fem.	1.23	0.41	0.83	2.11	0.80	0.28
<i>Forcipomyia</i> [<i>Lasiohelea</i>] <i>styliifera</i> (Lutz)	1 fem.	2.33	1.50	2.20	-	-	-
<i>Forcipomyia</i> [<i>Trichohelea</i>] sp. 1	1 male	2.33	0.50	1.20	-	1.03	-
<i>Culicoides pusillus</i> Lutz	1 fem.	2.67	0.52	1.12	3.0	0.88	0.33
<i>Stilobezia pruinosa</i> Wirth	1 fem.	2.85	-	0.79	-	-	-
<i>Cecidomyiidae</i>	2 fem.	-	-	-	-	1.06	0.43

replaces *Proforcipomyia* Saunders 1956 and *Euforcipomyia* Malloch 1915 (5) used earlier in the literature, for the reasons cited in Wirth and Cavaliere (13). These midges performed the same pattern of pollinating behavior as described by Hernandez (4) for Costa Rican midges. Midges were actually observed to deposit pollen on the flower stigma. This took place while the midge was walking and probing downward on the inner surface of a staminode. Most of the midges entered the petal pouches where pollen collected on their thorax. The space between the stigma and the staminodes appears to be exactly right to allow the passage of the insect but not their load of pollen grains which is deposited on the stigma as they pass. These insects were, therefore, considered the most efficient natural cacao pollinators. In Bahia, Brazil, *F. blantoni* was also considered the most important cacao pollinator (9). It must be explained, however, that any hairy midge of approximately the same size as *F. blantoni* is likewise a potential cacao pollinator.

Forcipomyia (Forcipomyia) genualis (Loew), 12 males and 12 females. The taxonomic characters of this species have been redescribed by Wirth and Soria (15). An additional specimen of the closely related *F. (F.) harpegonata* Wirth and Soria was measured (Table 1). Four additional specimens of *Forcipomyia (Forcipomyia)* were identified as species no. 2. Numerical

values of measurements can be observed in Table 1. These insects were never observed to pollinate cacao flowers.

Forcipomyia (Microhelea) fuliginosa (Meigen), 7 males, 8 females. The taxonomic characters of this species have been redescribed by Wirth (12). *F. fuliginosa* and several related species are well known in the literature as caterpillar parasites, sucking haemolymph through the cuticle of the host caterpillar (12).

Dasyhelea sp. 1 near *grisea* (Coquillett), 2 males, 24 females. Measurement of male structures gave the following averages: TR 2.63, CR 0.50, and AR 1.02. The average length of the wing was 1.03 mm and the average width was 0.34 mm. Measurement of female *Dasyhelea* sp. 1 gave the following averages: TR 2.58, CR 0.55, AR 0.90, and PR 2.18. The average length of the wing was 0.94 mm and the average width of the wing was 0.42 mm. Males and females of *Dasyhelea* are frequently found visiting cacao flowers in the cacao areas of tropical America. A good account of *Dasyhelea* midges that visit cacao flowers can be read in Wirth and Waugh's (16) report, dealing with cacao flower visitors in Bahia, Brazil. The consistent habit of visiting cacao flowers suggests that these midges deserve closer study as potential pollinators.

Atrichopogon sp. 1, 5 males and 32 females. Measurement of the male structures gave the following averages: TR 2.26, CR 0.64, and AR 1.35. The average length of the wing was 1.13 mm and the average width of the wing was 0.37 mm. Measurement of females of *Atrichopogon* sp. 1 gave the following average ratios: TR 2.16, CR 0.69, AR 1.57 and PR 3.0. The average length of the wing was 1.03 mm and the average width of the wing was 0.46 mm. Males and females of *Atrichopogon* are frequently found visiting cacao flowers in the cacao plantations of tropical America. They were never reported, however, as efficient cacao pollinators.

Culicoides insignis (Lutz), 1 male and 4 females, were observed resting on cacao flowers. Due to the fact that *Culicoides* are not frequently found visiting cacao flowers, these findings are considered accidental.

Among the less common cacao flower visitors listed in Table 1. *Dasyhelea* spp. 2, 3, 4, and 5, *Atrichopogon* spp. 2 and 3, deserve some additional observations. *Forcipomyia* (F.) *argenteola* Macfie, F. (F.) sp. *cinctipes* group, F. (*Lasiohelea*) *styli-*

fera (Lutz.), and F. (*Trichohelea*) sp. 1, of which 3, 2, 1, and 1 examples of each species were taken respectively, seem to be casual visitors because of their low frequency. *Culicoides pusillus* Lutz, 1 female, and *Stilobezia pruinosa* Wirth, 1 female, and 2 cecidomyiid midges were also considered accidental visitors of cacao flowers.

On the basis of the present diagnosis it seems advisable to recommend further studies on the *Euprojoannisia* not only from the taxonomic standpoint but also from the biological and behavioral aspect. Species in other genera and subgenera of Ceratopogonidae mentioned herein also deserve additional study, particularly as potential pollinators of *Theobroma cacao* L. Without a complete account of their habits and without a better knowledge of their behavior within the cacao flowers, we cannot reject the hypothesis that they could perform pollination.

Studies on the identity, biology and field behavior of all ceratopogonids which visit cacao flowers are considered, therefore, a necessary complement to a complete understanding of cacao pollination.

ACKNOWLEDGMENT

We are indebted to Mr. J. de J. Garcia (CEPLAC) for help in the measurement of morphological structures of the midges.

LITERATURE CITED

1. CHAN, K.L. and Le ROUX, E.J. Description of *Forcipomyia* (*Neoforcipomyia*) sp. n. and redescription of *Forcipomyia* (*Neoforcipomyia*) *eques* (Johannsen) (Diptera, Ceratopogonidae) with an account of the digestive and reproductive systems. *Phytoprotection* 46 : 74 - 104. 1965.
2. CRUZ, J. de la, and SORIA, S. de J. Estudio de las fluctuaciones de polinización del cacao por las mosquitas *Forcipomyia* spp. (Diptera, Ceratopogonidae) en Palmira, Valle, Colombia. *Acta Agronomica* (Colombia) 23 (3 - 4) : 1 - 17. 1973.
3. DESSART, P. Contribution a l'étude des Ceratopogonidae (Diptera) : (VII). Tableaux dichotomiques illustrés pour la détermination des *Forcipomyia* Africains. *Memoires du le Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique* 72 (2) : 1 - 151. 1963.
4. HERNANDEZ, J. Insect pollination of cacao (*Theobroma cacao* L.) in Costa Rica. Ph.D. Thesis. Madison, Wisconsin, University of Wisconsin, 1965. 167 p.
5. MALLOCH, J.R. Some additional records of Chironomidae in Illinois. *Bulletin of the Illinois Laboratory of Natural History* 11 : 305 - 363. 1915.
6. SAUNDERS, L.G. Methods for studying *Forcipomyia* midges with special reference to cacao pollinating species (Diptera, Ceratopogonidae). *Canadian Journal of Zoology* 37 : 33 - 51. 1959.
7. SORIA, S. de J. La polinización del cacao por las mosquitas *Forcipomyia* spp. (Diptera, Ceratopogonidae) en Palmira, Colombia. *Acta Agronomica*, (Colombia) 21 (2) : 77 - 82. 1971.
8. ———— . and BYSTRAK, P. A new species of *Forcipomyia* (Diptera, Ceratopogonidae) described in all stages with an account of its role as a cacao pollinator. *Revista Theobroma* (Brasil) 5 (2) : 3 - 11. 1975.
9. ———— ., WIRTH, W.W. and BESEMER, H. Breeding places and sites of collection of adults of *Forcipomyia* spp. midges (Diptera, Ceratopogonidae) in cacao plantations in Bahia, Brazil. *Revista Theobroma* (Brasil) 8 : 21 - 29. 1978.

10. WIRTH, W.W. The Heleidae of California. University of California Publications in Entomology 9 : 95 - 266. 1952.
11. ————. The Neotropical *Forcipomyia* (*Microhelea*) species related to the caterpillar parasite *F. fuliginosa* (Diptera, Ceratopogonidae). Annals of the Entomological Society of America 65 (3) : 564 - 577. 1972.
12. ————. The Neotropical *Forcipomyia* midges of the subgenus *Thyridomyia* Saunders (Diptera, Ceratopogonidae). Studia Entomologica 13 (1 - 4) : 429 - 440. 1970.
13. ————. and CAVALIERI, F. Sobre la identidad de *Euprojoannisia plantensis* Brèthes, 1914 (Diptera, Ceratopogonidae). Neotropica 21 (66) : 125 - 126. 1975.
14. ————. and MESSERSMITH, D.H. Studies on the genus *Forcipomyia* 1. The North American parasitic midges of the subgenus *Trichohelea* (Diptera, Ceratopogonidae). Annals of the Entomological Society of America 64 : 15 - 26. 1971.
15. ————. and SORIA, S. de J. A new Neotropical *Forcipomyia* midge closely related to *F. (F.) genualis* (Loew) (Diptera, Ceratopogonidae). Revista Theobroma (Brasil) 5 (2) : 19 - 27. 1975.
16. ————. and WAUGH, W.T. Five new Neotropical *Dasyhelea* midges (Diptera, Ceratopogonidae) associated with culture of cacao. Studia Entomologica 19 (1/4) : 223 - 236. 1976.

RESUMO

Mosquinhas Ceratopogonídeas (Diptera, Nematocera) Coletadas de Flores do Cacaueiro em Palmira, Colômbia: Comentários Sobre o seu Papel Como Polinizadoras

Este trabalho descreve uma lista de mosquinhas ceratopogonídeas (Diptera, Nematocera) coletadas em flores do cacaueiro em Palmira, Colômbia. A mosquinha *Forcipomyia* (*Euprojoannisia*) *blantoni* Soria e Bystrak foi considerada a espécie mais importante que poliniza cacau nessa região. Esta conclusão baseou-se na determinação dos hábitos desse inseto que se ajustam com a biologia floral do *Theobroma cacao* L. Outras espécies identificadas foram *F. (Forcipomyia) genualis* (Loew), *F. (F.) argenteola* Macfie, *F. (F.) cinctipes* Macfie, *F.*

INFORMAÇÕES AOS COLABORADORES

Os conceitos e opiniões, emitidos nos artigos, são de 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 não podem ter sido publicados anteriormente nem devem ser simultaneamente publicados em outro periódico sem o consentimento do editor da Revista Theobroma. Sua publicação pode ser mais rápida se forem obedecidas as instruções abaixo na sua preparação.

Os artigos devem ser datilografados em espaço duplo, com o máximo de 7.500 palavras ou 30 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 nanquim e não ultrapassar a medida de 18 x 20 cm; as fotografias devem ter 15 x 23 cm, em papel fotográfico brilhante e com bom contraste. As ilustrações devem ser numeradas e suas legendas datilografadas em papel separado. Recomenda-se não dobrá-las para evitar dificuldades na reprodução.

As referências no texto devem ser feitas pelo nome do autor e/ou número de ordem da citação bibliográfica. A literatura citada deve ser organizada por ordem alfabética dos autores, com número de ordem e constituída apenas das referências citadas no texto. Para sua preparação, consultar um número recente da Revista Theobroma.

O resumo não deve exceder 350 palavras, sendo acompanhado de versão em Inglês. São aceitos artigos em Português, Espanhol, Inglês e Francês.

A fim de avaliar a sua qualidade, os artigos são criticados por especialistas cujas sugestões para melhoramento dos artigos são submetidas aos autores. As provas tipográficas não são enviadas aos autores para revisão. O autor principal recebe 50 separatas de cortesia. Separatas adicionais custam Cr\$ 0,50 por página impressa e devem ser solicitadas quando do envio do artigo em forma revisada.

Os artigos e toda a correspondência relativa à sua publicação devem ser enviados para o seguinte endereço: Revista Theobroma, Divisão de Comunicação (DICOM), CEPLAC, Caixa Postal 7, 45.600 - Itabuna, Bahia, Brasil.

INFORMATION FOR CONTRIBUTORS

Concepts and opinions given in the 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. It is understood that articles submitted for publication have not been previously published and will not be simultaneously published in any other scientific journal without the consent of the Editor of this journal.

Careful observation of the following directions is of the utmost importance for they are designed to facilitate and expedite the handling of the manuscript and its production in the printed form.

Articles should be typed in double spacing with a maximum of 7,500 words or 30 letter sized pages (28.0 x 21.5 cm) with a 3 cm margin on all sides. Two legible copies are required.

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, unblurred, with good contrast. Illustrations must be numbered with typed subtitles on separate paper. To avoid reproduction difficulties it is recommended that enclosures should not be folded.

Text references should appear either with the name of the author and/or the order number of the literature citation. The Literature cited should be numbered in alphabetical order and include only references cited in paper. Consult a current issue of Revista Theobroma for journal style.

Abstracts should have a maximum of 350 words. Articles are accepted in Portuguese, Spanish, English and French. If article is in a language other than English, an English summary should be submitted.

Accepted manuscripts for publication will be reviewed by the editorial staff for suggestions or criticisms to improve the quality of the paper and then returned to the author for revision. Galley proofs are not submitted to the authors for correction. Senior author receives 50 free reprints, additional copies are charged at the rate of Cr\$ 0.50 a printed page, and must be requested when the author returns the article in revised form.

Send manuscripts and direct all editorial correspondence to: Revista Theobroma, Divisão de Comunicação (DICOM), CEPLAC, Caixa Postal 7, 45600 - Itabuna, Bahia, Brazil.

(*Microhelea*) *fuliginosa* (Meigen), *F. (Lasiohelea) stylifera* Lutz, *Dasyhelea* vice *grisea*, *Culicoides insignis* (Lutz), *C. pusillus* (Lutz), *Stylobezia* vice *pruinosa* Wirth e um pequeno número de espécies novas ainda não descritas.



