

Anais da II Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental





*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Ocidental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

*ISSN 1517-3135
Dezembro, 2006*

Documentos 50

Anais da II Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

Eduardo Lleras Pérez
Luadir Gasparotto
Lucinda Carneiro Garcia
Marcos Vinícius Bastos Garcia
Marinice Oliveira Cardoso
Nelcimar Reis Sousa

Manaus, AM
2006

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM-010, Km 29, Estrada Manaus/Itacoatiara
Caixa Postal 319, CEP 69010-970 - Manaus-AM
Fone: (92) 3621-0300
Fax: (92) 3621-0320
www.cpa.embrapa.br/sac/

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*
Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*
Membros: *Cintia Rodrigues de Souza*
João Ferdinando Barreto
Luadir Gasparotto
Marcos Vinícius Bastos Garcia
Maria Augusta Abtibol Brito
Maria Perpétua Beleza Pereira
Nelcimar Reis Sousa
Paula Cristina da Silva Ângelo
Roger Crescêncio
Rogério Perin

Revisores de texto: *Carlos Eduardo Mesquita Magalhães/Maria Augusta Abtibol Brito*

Normalização bibliográfica: *Maria Augusta Abtibol Brito*

Diagramação e arte: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Foto da Capa: *Deise Maria Pessoa de Souza*

1ª edição

1ª gravação em CD-Room (2006): 50

Todos os direitos reservados.

**A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).**

**Cip-Brasil. Catalogação-na-publicação.
Embrapa Amazônia Ocidental.**

Pérez, Eduardo Lleras et al.

Anais da II Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental / (editado por) Eduardo Lleras Pérez et al.
- Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2006.
59 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Documentos; 50).

ISSN 1517-3135

1. Pesquisa. 2. Ciência. I. Título. II. Série.

CDD 501

Produção de Basidiocarpos de *Crinipellis perniciosa* e Avaliação de Clones de Cupuaçuzeiro quanto à Resistência à Vassoura-de-Bruxa

Wenceslau Nascimento de Melo¹; Maria Geralda de Souza ²

¹Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Departamento de Ciências Florestais, Manaus, AM. wenceslaumelo@ufam.edu.br ;
²Eng. Florestal, D.Sc. em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental, geralda@cpaa.embrapa.br

Resumo - A cultura do cupuaçu vem se destacando dentre as fruteiras nativas da Amazônia, por apresentar opções de caráter rentável significativas. Além do consumo da polpa e suas diferentes utilizações, as amêndoas são utilizadas na fabricação do cupulate. Entretanto, a vassoura-de-bruxa, uma doença causada pelo fungo *Crinipellis perniciosa*, vem acarretando os maiores prejuízos aos ciclos vegetativos e produtivos do cupuaçuzeiros. O uso de cultivares resistentes ao patógeno é a forma mais eficaz e econômica de controle dessa enfermidade. Os basidiosporos, liberados pelos basidiocarpos, são a única forma infectiva deste patógeno. Objetivando-se a obtenção desses esporos, para a inoculação e avaliação da resistência de clones de cupuaçuzeiro, estudou-se o aperfeiçoamento e adaptação para as nossas condições da metodologia para a produção de basidiocarpos, em condições de temperatura e umidade controladas. Para tanto, instalou-se vassoureiro no campo e procedeu o cultivo do fungo. Os resultados mostraram que o pico de produção de basidiocarpos no vassoureiro e no campo ocorreu nos meses de maio a julho. Embora tenha obtido a produção de basidiocarpos em condições controlada de temperatura e umidade (vassoureiros), novos métodos deverão ser desenvolvidos para a obtenção de esporos do fungo, durante todas as épocas do ano, visando ao armazenamento desses, para a utilização em trabalhos de seleção de clones de cupuaçuzeiros resistentes à vassoura de bruxa.

Termos para indexação: *Crinipellis perniciosa*, vassoura de bruxa, cupuaçu, fitopatologia.

Production of Basidiocarps of *Crinipellis perniciosa* and Valuation of Clones of Cupuaçu about its Resistance to Witches' Broom

Abstract - Culture of cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) detaches among native fructiferous trees from Amazonia, by presenting significant profitable options. Besides the use of pulp and its different utilizations, almonds are used in the cupulate's manufacture. Nevertheless, whitches' broom, a disease caused by the fungus *Crinipellis perniciosa*, have been causing the greatest damages to vegetative and productive cycles of cupuaçu. The use of resistant cultivars to the patogen is the most efficient and economic way to control this disease. Basidiospores, released by basidiocarps, are the single infective structure of this pathogen. Aiming to obtain these spores, for inoculation of the disease and evaluation of resistance of the clones of cupuaçu, were studied the improvement and the adaptation to our conditions of the methodology of production of basidiocarps in temperature and moisture controled conditions. For all of these, a support to witches's broom was placed in field and tillage of fungus. The result showed that highest production of basidiocarps from may to july in field and tillage. The news methods will be development for producion basidiospores during all years.

Indexterms: *Crinipellis perniciosa*, witches' broom, cupuaçu, phytopathology.

Introdução

A cultura do cupuaçu vem se destacando dentre as fruteiras nativas da Amazônia por apresentar opções de caráter rentável significativas. Além do consumo da polpa e suas

diferentes utilizações, as amêndoas são utilizadas na fabricação do cupulate. Um dos principais fatores limitantes para o aumento da produtividade da cultura é a vassoura-de-bruxa. Trata-se de uma doença causada pelo fungo *Crinipellis perniciosa*, e é considerada

como a principal enfermidade do cupuaçuzeiro. O fungo *Crinipellis pernicioso* Stahel (Singer) pertence à divisão Eumycota, subdivisão Basidiomycotina, ordem agaricales e família Tricholomataceae. A família Tricholomataceae é constituída de espécies com basidiomas pilados, estipitados, lignícolas e capazes de reativação após a secagem quando são umedecidos (LUZ et al., 1997). *C. pernicioso* é um fungo hemibiotrófico com dois tipos de micélio: em tecidos ainda verdes, o micélio é espesso com 5-8 μm , biotrófico ou parasítico e sem a formação de grampo de conexão, crescendo intercelularmente. Quando as vassouras secam, o micélio torna-se saprofito ou necrotrófico, cresce inter e intracelularmente, sendo menos espesso (1,5 - 5 μm) e apresentando grampo de conexão (EVANS, 1980). A formação do grampo de conexão em hifas de cultura monospórica, a dicarionização de hifas monocarióticas derivadas de um único basídio uninucleado e a produção de basidiocarpos a partir de culturas monospóricas indicam que *C. pernicioso* é um fungo primariamente homotático (PURDY et al, 1983); (GRIFFITH e HEDGER, 1994).

A temperatura ótima para a germinação e desenvolvimento de *C. pernicioso* varia em torno de 25°C, com os limite mínimo e máximo entre 15 e 30°C (BAKER e HOLLIDAY, 1957). A germinação dos esporos é uma das fases mais delicadas para a sobrevivência do patógeno e, portanto, para a continuidade do ciclo de vida. É controlado por uma série de fatores, tanto genéticos quanto ambientais (BASTOS, 1989). Como regra geral, após a germinação dos basidiosporos formam-se apressórios, hifas infectivas que penetram no hospedeiro via abertura estomacal ou através de penetração direta (BAKER e HOLLIDAY, 1957). Após a penetração dos basidiosporos nos tecidos meristemáticos, ocorre a formação dos sintomas característicos da doença, como hiperplasia e hipertrofia, que resultam do desequilíbrio hormonal durante a interação patógeno-hospedeiro, com formação anormal de frutos, flores e brotos vegetativos (EVANS, 1978). Com a morte destes tecidos, o fungo persiste como saprófita, muitas vezes por vários anos, produzindo periodicamente os corpos de frutificação, os basidiocarpos (BASTOS, 1989). A produção de basidiocarpos é fornecida pela ocorrência de dias chuvosos,

seguidos por dias secos ou vice-versa, e o período de produção é dependente das condições climáticas de cada região (DALLA PRIA & CAMARGO, 1997).

O ciclo de vida do fungo compreende uma fase parasítica alternada com uma fase saprofitica. Pegus (1972) citado por Bastos (1980), postulou a teoria dual e micelial para explicar como o fungo existe em diferentes estados miceliais, e que o micélio primário, monocariótico (ou homocário), representa a fase biotrófica, enquanto a fase necrotrófica é induzida pelo micélio secundário, dicariótico (ou heterocário). O monocário é o micélio primário que se desenvolve da germinação de um esporo sexual simples. O dicário é o micélio secundário que predomina na natureza e é o micélio, a partir do qual se desenvolvem os corpos de frutificação.

O micélio monocariótico da fase parasítica depende do tecido vivo do hospedeiro, onde o fungo cresce com a planta e obtém nutrientes das células vivas para sustentar seu crescimento e desenvolvimento (BASTOS, 1990). Entretanto, quando tal crescimento torna-se inibido, os nutrientes solúveis tendem a tornar-se limitantes, o que leva o fungo a invadir, colonizar e matar os tecidos, obtendo seus nutrientes necrotroficamente, usando seu arsenal enzimático, através de enzimas degradativas típicas de um parasita facultativo (EVANS, 1981); (NAKAYAMA, 1995). O micélio do fungo não é infectivo, somente os esporos são aptos a induzir doenças.

Este trabalho teve como objetivo a adaptação e aperfeiçoamento, para as condições da Região Amazônica, da metodologia já conhecida para a produção de basidiocarpos de isolados de *C. pernicioso*, no campo e sob condições de temperatura e umidade controladas, bem como a avaliação de clones de cupuaçuzeiros quanto à resistência ao *C. pernicioso*.

Materiais e Métodos

O experimento foi realizado na Embrapa Amazônia Ocidental em campo e em laboratório nos anos de 2003 e primeiro semestre de 2004.

Deu-se continuidade a produção de basidiocarpos em vassoureiro implantado no

campo. As vassouras de bruxa depositadas no mesmo foram obtidas em coletas em datas aleatórias com a utilização de tesouras de poda, ou aproveitando o material extraído em grande quantidade de podas periódicas realizadas na área de plantio de cupuaçu sem caroço. Para o transporte das vassouras de bruxa para o vassoureiro, utilizou-se sacos plásticos de 20 litros. As outras áreas de plantio onde foram coletadas vassouras de bruxa foram: área do triângulo, PTU, peladão, e área da usina. Todas localizadas no campo experimental da Embrapa Amazônia Ocidental. Posteriormente, as vassouras foram dependuradas no vassoureiro de campo, composto de nove arames galvanizados amarrados a seis postes de madeira. A cada dois postes havendo uma distância de 5 metros, foram esticados três arames com 30 cm de espaçamento entre eles e o primeiro, a 50 cm do solo. Foram confeccionados ganchos a partir de arames de cobre revestidos por plástico, para serem presos às vassouras e estas, presas aos arames galvanizados.

Foi instalado um mecanismo de aspersão automatizado constituído de seis bicos aspersores divididos em dois canos de PVC de ½ polegada posicionados a 3,5 m acima do solo e com espaçamento de 1 m entre eles. A aspersão foi abastecida por uma tubulação proveniente de uma caixa d'água de 500 L dotada de um sistema com bóia para provê-la de um enchimento automatizado. Os bicos aspersores eram acionados por meio de uma balança de mercúrio ligada à rede elétrica; o processo se dá aproximadamente a cada hora e tem uma duração de 3 minutos. O vassoureiro foi montado em uma área de capoeira com bom sombreamento natural e, com a adição da névoa formada pela aspersão, obteve-se um microclima com níveis de luminosidade e umidade propícios para a produção de basidiocarpos.

Novas vassouras-de-bruxa foram regularmente adicionadas à quantidade já existente no vassoureiro.

Foi utilizada a produção em meio artificial (bolachas) para a produção de basidiocarpos em condições controladas (Adaptado de Niella *et al.* 1999). As mesmas foram compostas de uma mistura de farelo de trigo, vermiculita, gesso, calcário, turfa e água destilada esterilizada em quantidades pré-estabelecidas.

O umidecimento automatizado das bolachas foi realizado por meio da instalação de umidificadores elétricos ligados a temporizadores programados para o acionamento dos umidificadores a cada hora por um período de 15 minutos. O fornecimento de água para as bolachas mantinha-se constantemente uniforme até que o micélio mudasse de coloração, passando a ter aparência amarelada e, por fim, cor de rosa (carmim) quando o fornecimento de água foi interrompido e as bolachas foram submetidas a um estresse hídrico por um período de 5 dias, ao fim do qual o umidecimento voltou a ser aplicado na mesma proporção anterior.

Resultados e Discussão

Os resultados mostraram que o pico de produção de basidiocarpos no vassoureiro e no campo ocorreu nos meses de maio a julho (Tabela 1). Esses resultados estão de acordo com aqueles citados por Stein *et al.* (1996). Não houve produção de basidiocarpos em meio artificial (bolachas), em função da alta contaminação das bolachas. Embora tenha obtido a produção de basidiocarpos em condições controladas de temperatura e umidade (nos vassoureiros), novos métodos deverão ser desenvolvidos para a obtenção de esporos do fungo, durante todas as épocas do ano, visando ao armazenamento desses para a utilização em trabalhos de seleção de clones de cupuaçuzeiros resistentes à vassoura-de-bruxa.

Tabela 1. Quantidade e procedência de basidiocarpos coletados.

Procedencia dos basidiocarpos	Quantidade de basidiocarpos
Campo Experimental	576
Vassoureiro (Vassouras do Amazonas)	323
Vassoureiro (Vassouras de Roraima)	732

Conclusão

Embora tenha obtido a produção de basidiocarpos em condições controladas de temperatura e umidade (vassoureiros), novos métodos deverão ser desenvolvidos para a obtenção de esporos do fungo, durante todas

as épocas do ano, visando ao armazenamento desses para a utilização em trabalhos de seleção de clones de cupuaçuzeiros resistentes à vassoura-de-bruxa.

Referências Bibliográficas

- BAKER, R. E. D.; HOLLIDAY, P. Witches' broom disease of cacao. **Phytopathology**. St. Paul, n.2, 42 p., 1957.
- BASTOS, C. N. Efeito da radiação solar e do período pós-germinativo sobre a viabilidade de basidósporo de *Crinipellis pernicioso*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 14, n. 2, p. 261-263, 1989.
- BASTOS, C. N. Patogenicidade e características do isolado de *Crinipellis pernicioso* procedente de Uruçuca, Bahia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 15, n.3, p. 344-346, set. 1990.
- DALLA PRIA, M. D.; CAMARGO, L. E. A. Doenças do cacauzeiro. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 3ª ed., São Paulo, Agronômica Ceres, v. 2, p. 176-183. 1997.
- EVANS, H. C. Pleomorphism in *Crinipellis pernicioso*, causal agent of witches' broom disease of cocoa. **Transactions of the British Mycological Society**, Cambridge, n.3, 74, 515-523. June, 1980.
- GRIFFITH, G. W. & HEDGER, J.N. A novel method for producing basidiocarps of the cocoa pathogen *Crinipellis pernicioso* using a bran-vermiculite médium. Netherland **Journal of Plant Pathology**;v. 99, 227-230, 1993.
- LIMA, M.I.P.M., SOUZA, A.G.C. **Diagnose das principais doenças do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*)** (Willd. Ex Spreng.) Shum.) e seu controle. Manaus, EMBRAPA/CPAA, 1998. 18 p (EMBRAPA/CPAA. Documentos, 9).
- LUZ. E.D.M.N., BEZERRA, J.L, RESENDE, M.L.V. & OLIVEIRA, M.L. Cacau (*Theobroma caçã*). In: Vale, F.X.R. & Zambolim, L. (eds) **Controle de Doenças de plantas**. Vol. II Viçosa. UFV. 1997. Pp. 611-615.
- NIELLA, G.R.; M.L.V.; CASTRO, H.A.; SILVA, L.H.C.P.; CARVALHO, J.A. Aperfeiçoamento da metodologia de produção artificial de basidiocarpos de *Crinipellis pernicioso*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 4, p. 523-527, Dez., 1999.
- NAKAYAMA, L. H. I. **Influência da nutrição mineral na manifestação dos sintomas da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer) em cacauzeiro**. Piracicaba: ESALQ, 1995. 76 p. (Tese Doutorado em Agronomia).
- PURDY, L. H.; A. T.; ARAGUNDI, J. A. Proof of pathogenicity of *Crinipellis pernicioso* to *Theobroma cacao* by using basidiospores produced in vitro cultures. **Theobroma**, Ilhéus, n.3, v. 13, p. 157-163, Jul/set., 1983.
- STEIN, R.L.B.; ITO, T., ALBUQUERQUE, F.C. & NASCIMENTO, R.M. **Produção artificial de basidiocarpos de *Crinipellis pernicioso* do cupuaçuzeiro em meio de farelo de vermiculita**. Belém, EMBRAPA/CPATU. 1996. 15 p. (Boletim de Pesquisa 167).