

DOENÇAS EM CACAUEIRO E CUPUAÇUZEIRO NO ACRE

Amauri Siviero¹, Paulo Eduardo Franca de Macedo¹, Giovanna Teixeira Sandoval Moreira²

¹Embrapa Acre, Rodovia BR-364 km 14, Caixa Postal 321, 69900-970, Rio Branco, AC. amauri.siviero@embrapa.br; paulo.macedo@embrapa.br. ²Kansas State University, Department of Plant Pathology, 4024 Throckmorton Center, 1712 Claflin Road, Manhattan, EUA. giomor.gt@gmail.com

Objetivou-se neste trabalho relatar a ocorrência de doenças do cacau e cupuaçuzeiro no Acre. Foram realizadas 36 expedições de campo em 20 municípios entre 2018 e 2021. Amostras de ramos e frutos suspeitos foram analisadas no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Acre. Foram identificados os fungos: *Moniliophthora perniciosa* (vassoura-de-bruxa), *Phytophthora* spp. (podridão-parda), *Botryodiplodia theobromae* (morte descendente), *Colletotrichum* spp. (antracnose), *Acremonium* spp., *Fusarium* spp., *Monalonium annulipes* e *Phomopsis* spp. A vassoura de bruxa, podridão parda e a morte descendente estão amplamente difundidas no Acre. A monilíase causada por *Moniliophthora roreri* foi relatada pela primeira vez no Brasil, no Acre no município de Cruzeiro do Sul.

Palavras-chave: *Theobromae cacao*, *Theobroma grandiflorum*, Amazônia, patógenos, *Moniliophthora* spp.

Cocoa and Cupuassu diseases in State of Acre, Brazil. The objective of this work was to report the occurrence of cocoa tree and cupuaçu tree diseases in Acre. 36 field expeditions were carried out in 20 municipalities between 2018 and 2021. Samples of suspected branches and fruits were analyzed at the Phytopathology Laboratory of Embrapa Acre. The following fungi were identified: *Moniliophthora perniciosa* (witches' broom), *Phytophthora* spp. (black pod), *Botryodiplodia theobromae* (die back), *Colletotrichum* spp. (anthracnose), *Acremonium* spp., *Fusarium* spp., *Monalonium annulipes*, and *Phomopsis* spp. Witches' broom, black pod and die back are widespread in Acre. Moniliasis caused by *Moniliophthora roreri* was reported for the first time in Brazil, in Acre and in the municipality of Cruzeiro do Sul.

Key words: *Theobromae cacao*, *Theobroma grandiflorum*, Amazon, phytopathogens, *Moniliophthora* spp.

O cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.) nativo da Amazônia tem diversos usos econômicos, sendo o mais atrativo deles a produção de chocolate com alto reconhecimento no mercado mundial. O chocolate obtido a partir de amêndoas produzidas de cacauzeiro nativo da Amazônia pode atingir as melhores classificações de qualidade, devido às características do ambiente que o tornam especial no sabor e no aroma sendo um produto com potencial de geração de renda para comunidades tradicionais da Amazônia.

O chocolate obtido a partir do cacauzeiro nativo da Amazônia é um dos produtos florestais não madeireiros mais promissor, pois, existe um mercado em expansão desse produto mundialmente, que aprecia o sabor e aroma do fruto nativo. É cada vez mais crescente a demanda do mercado pela amêndoa de cacau de qualidade e com características diferenciadas de sabor e aroma, que surgem de acordo com as especificidades do local de ocorrência e da forma de beneficiamento. No Acre, observa-se uma maior densidade de cacauzeiros nativos próximos aos cursos d'água, algo que é característico da espécie (Rodrigues et al., 2011).

Além do cacauzeiro, o cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*) aparece como a segunda mais importante espécie econômica do gênero *Theobroma*. O cupuaçuzeiro também é uma fruteira nativa da Amazônia e a espécie está em processo de domesticação. Atualmente ainda pode ser encontrada em áreas de vegetação primária.

O cupuaçuzeiro predomina nos cultivos de fundo de quintal na Amazônia e em experiências como componente de sistemas agroflorestais emergentes e se expande de acordo com a demanda de mercado. A gordura das sementes do cupuaçu tem recebido atenção por apresentar propriedades comestíveis análogas ao chocolate, além das características hidratantes e emolientes utilizadas na indústria cosmética, farmacêutica e alimentar. Da polpa do fruto são produzidas geleias, licores, compotas, doces, biscoitos e sorvetes.

As áreas de cultivo de cacauzeiro e cupuaçuzeiro no Acre são compostas por pequenos plantios com baixos índices de adoção de tecnologias. A maioria das plantas é encontrada em quintais agroflorestais sendo manejadas por agricultores familiares. Os pomares comerciais apresentam reduzido número de plantas e não recebem as práticas culturais como podas,

adubação, controle fitossanitário e práticas de conservação pós-colheita. Todos estes fatores são pontos que comprometem a produtividade destes dois cultivos no Acre.

Dentre os fatores que podem comprometer o estabelecimento e produtividade dos sistemas de produção de cacau e cupuaçu na Amazônia destaca-se a ocorrência de doenças. A principal doença na Amazônia é a vassoura de bruxa causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*. Além da vassoura de bruxa, outras doenças podem afetar estas culturas no Acre.

Uma ameaça ao sucesso dos cultivos do cacauzeiro e cupuaçuzeiro no Acre é o risco da entrada e dispersão da monilíase causada pelo fungo *Moniliophthora roreri* que infecta os frutos. Diante da falta de estudos que relatem as principais doenças desses cultivos, bem como da necessidade de levantamentos da praga quarentenária *Moniliophthora roreri*, este trabalho teve como objetivo reportar a ocorrência das principais doenças nas plantas destes dois cultivos no Acre.

No ano de 2018 foi celebrado um Termo de Execução Descentralizado (TED monilíase) entre a Divisão de Sanidade Vegetal do Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento (MAPA) e a Embrapa Acre. Dentre as ações do TED monilíase constava a realização de expedições em municípios do Acre para levantamento das doenças do gênero *Theobroma*.

A partir de maio de 2018 até meados de 2020, no estado do Acre, foram realizadas 36 expedições científicas de campo, através de visitas técnicas em propriedades de agricultores familiares, onde ocorriam o cultivo de plantas de cacauzeiro (*T. cacao*), cupuaçuzeiro (*T. grandiflorum*), cacauí (*Theobroma speciosum*), cupuí (*Theobroma subincanum*) e mocambo (*Theobroma bicolor*).

As coordenadas geográficas das áreas visitadas foram obtidas com auxílio de GPS e os pontos processados e transformados em um mapa utilizando o software QGIS 3.10.0. As visitas nos municípios tiveram apoio das Secretarias Municipais de Agricultura e de técnicos do Instituto de Defesa Agroflorestal do Acre. Foram visitadas áreas em 20 dos 22 municípios do Acre em plantações comerciais, quintais urbanos, quintais agroflorestais e plantas nativas de cacauzeiro, cupuaçuzeiro e espécies silvestres.

Em meados de 2018 foi estabelecida a primeira Unidade de Referência Tecnológica de Monitoramento de Cacau e Cupuaçu (URTMCC) no Acre em uma propriedade situada em Assis Brasil. Esta localidade situa-se a dez quilômetros da divisa do Peru, por isso serviu como unidade sentinela para averiguação da possível entrada da monilíase no Acre, haja vista que no país vizinho esta doença quarentenária foi relatada em 1988 (Hernandes et al., 1990).

Esta região de fronteira internacional é uma divisa onde há trânsito intenso de pessoas entre Brasil e o Peru. A unidade de referência abriga um plantio abandonado com aproximadamente 2500 cacauzeiros instalados em 1982 com clones fornecidos pela unidade de Rondônia da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira – Na divisa entre os estados do Acre e Rondônia foi instalada a segunda URTMCC situada em Acrelândia. Esta unidade localizada numa propriedade rural com três hectares de cacauzeiro em produção com oito anos de idade, constitui mais um ponto de monitoramento das doenças. Em Xapuri, em meados de 2018 foi instalada a terceira URTMCC reforçando o monitoramento na divisa do Acre com a Bolívia. Nesta área ocorre um plantio de 800 plantas de cacauzeiro e cupuaçuzeiro estabelecidas em 1996 em regime de consórcio agroflorestal com seringueira e outras espécies frutíferas.

As inspeções fitossanitárias nas URTMCC ocorreram de três em três meses e durante as expedições de campo e inspeções fitossanitárias foram coletadas folhas, ramos e frutos com sintomas de doenças. O material botânico foi levado para diagnóstico no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Acre. Amostras de ramos e frutos foram acondicionadas em câmara úmida em temperatura ambiente por até 07 dias para detecção de fungos fitopatogênicos.

Isolamentos indiretos também foram realizados através de cortes de fragmentos de 0,5 cm x 0,5 cm da interface entre tecido sadio e tecido doente. Posteriormente os fragmentos foram imersos em álcool 70% por um minuto e embebidos em solução de hidróxido de sódio a 2% por três minutos e passados em 01 lavagem em água destilada estéril. Em seguida os fragmentos foram secos em papel estéril e colocados em placas de Petri contendo meio BDA com 50 ppm de cloranfenicol.

As placas foram mantidas em BOD a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Diariamente observou-se o crescimento de colônias fúngicas. Das estruturas reprodutivas, entre 07 e 14 dias de incubação, foi realizada a montagem de lâminas. Estas foram observadas em microscópio e através da observação das estruturas reprodutivas e com o auxílio de chaves taxonômicas procedeu-se a identificação dos gêneros e/ou espécies fitopatogênicas presentes.

Foram coletadas amostras nos municípios de Acrelândia, Assis Brasil, Brasiléia, Bujari, Capixaba, Cruzeiro do Sul, Epitaciolândia, Feijó, Mâncio Lima, Manoel Urbano, Marechal Thaumaturgo, Plácido de Castro, Porto Acre, Rio Branco, Rodrigues Alves, Santa Rosa do Purus, Sena Madureira, Senador Guiomard, Tarauacá e Xapuri. Os principais pontos de coleta de frutos com doenças fúngicas foram plotados em mapa conforme demonstrado na Figura 1.

Em campo a principal doença observada em *Theobroma* spp. foi a vassoura da bruxa causada pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*. A doença acomete principalmente flores, frutos e os meristemas de ramos. Ao afetar pontos de crescimento provoca o superbrotamento de lançamentos foliares, com aumento de gemas laterais e engrossamento dos tecidos em crescimento, essas alterações originam o sintoma, que dá o nome a doença de vassoura de bruxa. Foi constatado em campo que a poda fitossanitária, principal medida de manejo para convivência com essa doença, é pouco ou mesmo não adotada pelos produtores, fato que aumenta a proliferação do fungo e perdas de produção.

O principal sintoma em frutos observado em campo foi a podridão seca. A esse sintoma de podridão seca, após realização de câmara úmida e isolamentos indiretos em laboratório, foram constatados predominantemente os fungos fitopatogênicos *Lasiodiplodia* spp. e *Colletotrichum* spp. O fungo *Lasiodiplodia* sp. está associado à morte descendente o cancro do caule em plantas de cacauzeiro no Brasil (Bonfim et al., 2019), e, neste levantamento foi encontrado associado ao sintoma de podridão seca nos frutos.

As principais características que permitiram a identificação desse patógeno em laboratório foram a presença de picnídios escuros, com conídios que quando imaturos são unicelulares, próximo de hialinos, com

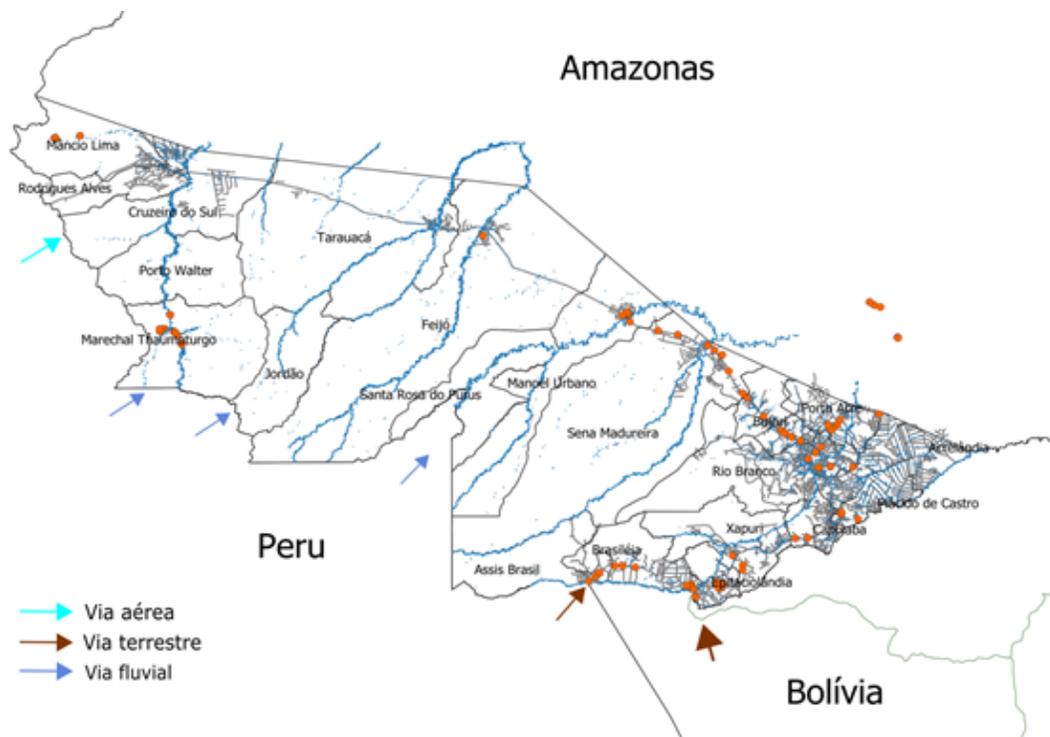


Figura 1. Mapa das áreas visitadas e as vias de risco da entrada de *Moniliophthora roreri* no Brasil através do Acre.

citoplasma granuloso, quando maduros esses conídios se tornam escuros, bicelular, ovalados e com estrias longitudinais.

Nos frutos com sintomas de podridão seca mantidos em câmara úmida, a detecção de *Colletotrichum* spp. foi possível com auxílio de lupa e observação de massa mucilaginosa alaranjada. Após confecção de lâminas e observação ao microscópio verificou-se a presença de acérvulos com setas escuras, com produção de conídios hialinos, não septados e cilíndricos. O mesmo padrão foi observado do material submetido a isolamento indireto. É possível que exista mais de uma espécie associada ao sintoma.

Também foram identificados nos isolamentos de frutos com podridão seca os fungos: *Acremonium* spp., *Fusarium* spp., *Gliocladium* spp., *Phomopsis* spp., (Tabela 1). Sabe-se que esses gêneros encontrados associados ao sintoma de podridão seca possuem potencial fitopatogênico, entretanto não foram realizados testes de patogenicidades para os mesmos. O sintoma de podridão seca predominou em frutos velhos não colhidos.

Tanto em frutos de *T. grandiflorum* como também de *T. cacao* foi observado a ocorrência de podridão

parda causada por *Phytophthora* spp. Em frutos no campo os sintomas iniciam com lesões pequenas de 1 a 2 mm de diâmetro de cor castanha, posteriormente essas lesões crescem tornando-se elípticas. Em condições de alta umidade é possível encontrar sobre as lesões uma camada esbranquiçada constituída de sinais do patógeno.

Tabela 1. Fungos isolados de frutos de *Theobroma* spp. no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Acre, coletados em campo de 2018 a 2021

Hospedeiro	Fungos
Cacaueiro - <i>Theobroma cacao</i>	<i>Colletotrichum</i> spp., <i>Fusarium solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Lasiodiplodia</i> spp., <i>Monalonium annulipes</i> , <i>Phomopsis</i> spp., <i>Phytophthora</i> spp.
Cupuaçuzeiro - <i>Theobroma grandiflorum</i>	<i>Acremonium</i> spp., <i>Colletotrichum</i> spp., <i>Fusarium</i> spp., <i>Lasiodiplodia</i> spp., <i>Moniliophthora perniciosa</i> , <i>Phytophthora</i> spp.
Cupuí - <i>Theobroma subincanum</i>	<i>Colletotrichum</i> spp. e <i>Fusarium</i> spp.
Cacaui - <i>Theobroma speciosum</i>	<i>Colletotrichum</i> spp.

Em laboratório, após câmara úmida, foi possível a observação das estruturas reprodutiva e vegetativas. A principal característica vegetativa observada foi a presença de micélio cenocítico. Como estruturas reprodutivas foram observados esporângios contendo esporangiósporos.

A vassoura de bruxa, podridão parda e a podridão seca dos frutos estão amplamente difundidas no Acre. Estes são os primeiros relatos das doenças em levantamentos fitopatológicos em plantas do gênero *Theobroma* realizados em todas as regiões do Acre.

Ocorrência de *Moniliophthora roreri*, causador da monilíase do cacauzeiro no Acre.

Em junho de 2021, em área urbana do município de Cruzeiro do Sul, AC, um morador local informou ao Instituto de Defesa Agropecuária e Florestal do Acre - IDAF que por sua vez comunicou o fato à Superintendência Federal da Agricultura do Acre - SFA vinculada ao Ministério de Agricultura e Pecuária - MAPA a ocorrência de plantas de cacauzeiro e cupuaçuzeiro com frutos apresentando sinais e sintomas típicos da monilíase do cacauzeiro. Após inspeção de campo realizou-se a coleta de amostras e remessa de material visando à identificação do fungo. As análises micromorfológicas e moleculares foram realizadas no Laboratório Federal de Defesa Agropecuária de Goiânia (LFDA/GO) conforme Instrução Normativa e Plano de Contingência específica vigente para a monilíase do cacauzeiro (Brasil, 2021a).

As análises moleculares foram realizadas pela técnica de amplificação da sequência do gene ITS do patógeno. A extração do DNA foi realizada com o DNeasy® mericon Food Kit (Qiagen) e as amplificações foram realizadas com os pares de iniciadores:

ITS4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3') /

ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG 3') a 0,2µM (<http://www.q-bank.eu/Fungi/LocalFiles/Latest/DNA%20Barcoding%20Fungi%20ITS.pdf>).

A reação de PCR para os pares de iniciadores foi realizada no termociclador Veriti 96 well (Life Technologies do Brasil), programado para um ciclo de 95°C por 15 minutos, 40 ciclos de: 94°C por 45 segundos; 52°C, por 30 segundos; e 72°C por 90 segundos, com extensão final de 72°C por 6 min.

O produto de PCR foi purificado por reação enzimática com o kit ExoSAP (USB Corporation). O sequenciamento foi realizado com o analisador de DNA ABI Prism 3500 DNA Analyzer (Life Technologies do Brasil). Cada sequência gerada no arquivo ABI pelo Genetic Analyser 3500 foi salva uma unidade de comparação útil (FASTA) para pesquisa em uma base de dados de padrões autenticados. O critério de aceitação adotado foi à obtenção de uma sequência bi-direcional, com menos de 2% de bases ambíguas no contig, ou uma única leitura com pelo menos 98% de bases de alta qualidade.

As análises de pós-sequenciamento foram realizadas em conformidade com o especificado, utilizando o Sequencing Analysis Software 6 (Applied Biosystems). As sequências tratadas foram comparadas com as sequências validadas depositadas no The National Center for Biotechnology Information (NCBI) e Bold Systems (Ratnasingha; Hebert, 2007) e o índice de similaridade encontrado com a espécie *Moniliophthora roreri* foi 100% em ambas as bases de dados, confirmando a identificação da espécie, e o primeiro foco de *Moniliophthora roreri* no Brasil.

De imediato o MAPA através da portaria 372/2021 de 03 de agosto de 2021 declarou o estado do Acre como área sob quarentena até então ausente de *M. roreri* ficando proibido o trânsito de materiais vegetais das espécies dos gêneros *Theobroma* e *Herrania* e outros hospedeiros de *M. roreri* provenientes do estado do Acre para as demais unidades da federação, até que sejam concluídos os trabalhos de delimitação da área foco de ocorrência (Brasil, 2021b). Posteriormente, em 04 de agosto de 2021 foi publicada a portaria nº 249/2021 que declarou estado de emergência fitossanitária relativo ao risco iminente de introdução da praga quarentenária ausente *M. roreri* nos estados do Acre, Amazonas e Rondônia (Brasil, 2021c).

Em campo iniciou-se então o trabalho de ações de erradicação da monilíase no Acre sob o comando da Coordenação de Proteção de Plantas do Departamento de Sanidade Vegetal do MAPA aplicando as ações previstas na Instrução Normativa nº 112/2020 de 11 de dezembro de 2020, que instituiu o Plano Nacional de Prevenção e Vigilância de *Moniliophthora roreri* - PNPV/Monilíase (Brasil, 2021a). Este foi o primeiro relato da doença monilíase do cacauzeiro no Brasil.

Literatura Citada

- BONFIM, B. S. A.; et al. 2019. Species of *Lasiodiplodia* causing dieback and stem canker on cocoa in Brazil. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 49. Recife, PE. Anais... p234.
- BRASIL. 2021a. Instrução Normativa Nº 112, de 11 de dezembro de 2020. Institui o Plano Nacional de Prevenção e Vigilância de *Moniliophthora roreri* - PNPV/Monilíase. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Seção 1, 04/01/2021, Brasília, DF.
- BRASIL. 2021b. Portaria nº 372, de 3 de agosto de 2021. Declara o estado do Acre como área sob quarentena para a praga quarentenária ausente *Moniliophthora roreri*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Seção 1, 05/08/2021, Brasília, DF.
- BRASIL. 2021c. Portaria nº 249, de 4 de agosto de 2021. Declara estado de emergência fitossanitária relativo ao risco iminente de introdução da praga quarentenária ausente *Moniliophthora roreri* nos estados do Acre, Amazonas e Rondônia. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Seção 1, 06/08/2021, Brasília, DF.
- HERNANDES, T. A.; et al. 1990. La moniliasis del cacao en el Peru. *Agrotrópica* 2(1):56-58.
- RATNASINGHAM, S., HEBERT, P. D. N. 2007. The barcode of life data system (www.barcodinglife.org). *Molecular and Ecology Notes* (7):355-364.
- RODRIGUES, E.; et al. 2011. Manejo Florestal Comunitário: Cacao nativo do Purus. 1. ed. Rio Branco, Acre, Editora Andiroba. 220p.