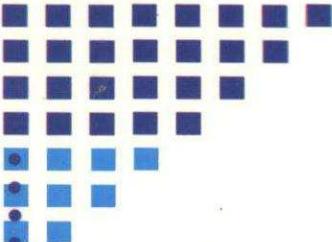




MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA - MAARA
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA
Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental - CPATU



JAPAN INTERNATIONAL COOPERATION AGENCY



GERAÇÃO DE TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL PARA O DESENVOLVIMENTO DO TRÓPICO ÚMIDO

Convênio EMBRAPA-CPATU/JICA
1990 - 1995



00326

Geração de tecnologia

1996

LV-2005.00326

Belém, PA

1996



30936-1

ISSN 0101-2835



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA - MAARA
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA
Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental - CPATU



JAPAN INTERNATIONAL COOPERATION AGENCY

GERAÇÃO DE TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL PARA O DESENVOLVIMENTO DO TRÓPICO ÚMIDO

Convênio EMBRAPA-CPATU/JICA
1990-1995

Belém, PA
1996

EMBRAPA - CPATU. Documentos, 85

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à:

EMBRAPA - CPATU

Trav. Dr. Enéas Pinheiro, s/n

Telefones: (091) 226 - 6612, 226 - 6622

Telex: (91) 1210

Fax: (091) 226 - 9845

Caixa Postal, 48

66095 - 100 - Belém, PA

Tiragem: 200 exemplares

Unidade: <u>AI - Sede</u>
Valor aquisição: _____
Data aquisição: _____
N.º N. Fiscal/Fatura: _____
Fornecedor: _____
N.º OCS: _____
Origem: <u>Doce</u>
N.º Registro: <u>326/05</u>

Comissão Editorial

Coordenação: Célio Francisco Marques de Melo

Dilson Augusto Capucho Frazão

Francisco José Câmara Figueirêdo

Revisão Gramatical: Maria de Nazaré Magalhães dos Santos

Composição: Ana Mirtes Maciel Fouró

Paulo Sérgio Oliveira

Silvia Helena Carneiro Matos

Vitor Guilherme de Sousa

Capa: Euclides Pereira dos Santos Filho

EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental (Belém, PA). **Geração de tecnologia agroindustrial para o desenvolvimento do trópico úmido.** Belém: EMBRAPA - CPATU / JICA, 1996. p. 305 (EMBRAPA - CPATU. Documentos, 85).

Convênio EMBRAPA - CPATU / JICA

1. Agroindústria - Tecnologia - Brasil - Amazônia.

I. Título. II. Série

CDD: 630.720811

© EMBRAPA - 1996

BIOLOGIA E FISILOGIA DE *Crinipellis perniciosa* DO CUPUAÇUZEIRO, EM RELAÇÃO À FISIOPATOLOGIA

Ruth Linda Benchimol Stein¹
Fernando Carneiro de Albuquerque¹
Olinto Gomes da Rocha Neto²
Heráclito Eugênio O. da Conceição¹
Nina Maradei Müller³
Ângela Maria Leite Nunes¹
Cleber Novaes Bastos⁴
Tadamitsu Endo⁵
Stutae Ito⁵

Resumo: Foram obtidas culturas monospóricas de isolados em Abaetetuba, Belém, Castanhal, Capitão Poço, Colares, Santo Antonio do Tauá e Tomé-Açu para estudos "in vitro". Não houve diferenças nos tamanhos de basidiocarpo e basidiospоро entre os isolados de *Theobroma grandiflorum*, *T. cacao* e *T. subincanum*. A espécie *T. obovatum* apresentou menor basidiocarpo e maior basidiospоро. Em 1992, houve produção de basidiocarpos em vassouras destacadas em todos os meses do ano, com aumento significativo a partir de maio e pico em julho. O maior número de vassouras emitidas por plantas no campo foi nos meses de julho e agosto e o menor em outubro de 1991. O comprimento médio da vassoura verde variou de 15,5cm a 50,5cm. As vassouras permaneceram verdes a partir da emissão por 5,9 a 10,4 semanas. O secamento ocorreu entre 0,9 e 1,1 semanas. A produção artificial de basidiosporos de *Crinipellis perniciosa* foi obtida no meio de farelo-vermiculita com produção média de 87 basidiocarpos infectivos. Devido às dificuldades encontradas no processo de inoculação do fungo ainda não foram iniciados os estudos fisiológicos sobre plantas infectadas com *C. perniciosa*.

¹ Eng. Agr. M.Sc. EMBRAPA - CPATU. Caixa Postal 48, CEP 66.017-970. Belém, PA.

² Eng. Agr. Ph.D. EMBRAPA - CPATU.

³ Eng. Agr. EMBRAPA - CPATU.

⁴ Pesquisador da CEPLAC - Rod. Augusto Montenegro, Km 7, Cx. Postal 1801, CEP 66.635-110. Belém, PA.

⁵ Consultor da Japan International Cooperation Agency - JICA. Av. Nazaré 272, Sala 105. Ed. Clube de Engenharia, CEP 66.035-170. Belém, PA.

BIOLOGY AND PHYSIOLOGY OF *Crinipelis pernicios* ON CUPUAÇU PLANTS, IN TERMS OF ITS PHYSIOPATHOLOGY

Abstract: The objective of the study developed with *C. pernicios* on cupuaçu plants is to study the biology of this pathogen, as well as the alterations it induces in the plants with symptoms of witches' broom compared with healthy plants. Isolated monosporic cultures were obtained in Abaetetuba, Belém, Castanhal, Capitão Poço, Colares, Santo Antonio do Tauá and Tomé-Açu for "in vitro" studies. There was no difference in size of the basidiocarp and basidiospores among those isolated of *T. grandiflorum*, *T. cacao*, *T. subincanum*. The specie *T. obovatum* presented the smallest basidiocarp and largest basidiospore. In 1992, there was basidiocarp production in attacked throughout the year, rising sharply in March and peaking in June. The highest number of brooms emitted by plants in the field was in the months of July and August, and the lowest in October (1991). The average length of the green brooms varied from 15.5 to 50.5 cm. The brooms remained green for 5.9 to 10.4 weeks after sprouting. Drying occurred from 0.9 to 1.1 weeks. Artificial production of *C. pernicios* was obtained in a medium of bran-verniculite with an average production of 87 basidiocarps, all of which were infective. Due to difficulties encountered in the inoculation process of the fungus, to present we have not been able to begin the physiological studies on plants infected with *C. pernicios*.

Objetivo

Os trabalhos desenvolvidos com *C. pernicios* do cupuaçuzeiro têm como objetivo estudar a biologia desse patógeno e as alterações por ele provocadas nas plantas com sintomas de vassoura-de-bruxa, em relação a plantas sadias.

Justificativa

O cupuaçuzeiro (*T. grandiflorum* Schum.) é uma planta nativa da região amazônica que produz frutos com aroma e sabor muito apreciados para o consumo "in natura" e fins industriais. A crescente utilização do cupuaçu pela indústria tem despertado o interesse pelo plantio racional desta cultura.

O cupuaçuzeiro, tanto na fase jovem como na adulta, sofre o ataque de fitopatógenos que prejudicam o desenvolvimento e a produção da cultura, sendo a vassoura-de-bruxa (*C. pernicioso*) uma das mais prejudiciais, visto que ataca os tecidos meristemáticos em desenvolvimento, afetando o vigor, a floração e a frutificação da planta. Apesar de bem estudado na cultura de cacaueteiro, onde causa a mesma doença, pouco se sabe sobre a biologia e fisiologia desse patógeno no cupuaçuzeiro, bem como os impactos por ele causados na fisiologia do hospedeiro durante as diferentes fases de crescimento.

Estudos com a cultura de cacaueteiro indicam que existe grande variabilidade na espécie *C. pernicioso* e que, em condições normais, os isolados do cacaueteiro não atacam o cupuaçuzeiro, e vice-versa. Portanto, é necessário um estudo detalhado sobre a biologia e fisiologia do isolado que ataca o cupuaçuzeiro, bem como as alterações sofridas pela planta hospedeira mediante o ataque do patógeno, visando o embasamento para futuros estudos sobre as medidas de controle a serem adotadas contra a doença.

Resultados parciais

Vassouras coletadas em plantios de cupuaçuzeiro localizados em diferentes municípios do Pará, como Abaetetuba (Ab), Belém (Tg; H2), Castanhal (C), Capitão Poço (CP), Colares (Col), Santo Antônio do Tauá (SAT) e Tomé-Açu (TA), foram mantidas em condições de telado semi-sombreado, para induzir à produção de basidiocarpos e basidiosporos, para o estudo da biologia e fisiologia de *C. pernicioso*, bem como das alterações por ele provocadas ao atacar o cupuaçuzeiro. Vassouras de *T. cacao* (Tca), *T. subincanum* (Tsb) e *T. obovatum* (Tob) também foram coletadas em Belém, para comparações.

Experimento 1 - Caracterização morfológica de *Crinipellis perniciosa* de *Theobroma* spp.

O tamanho dos basidiocarpos e basidiosporos de *C. perniciosa* foi medido, com o objetivo de detectar diferenças entre os isolados de *Theobroma* spp. Em relação ao tamanho do basidiocarpo, observou-se que o diâmetro do píleo variou entre 4,81mm e 11,60mm e o comprimento do estipe, entre 2,20mm e 4,80mm (Tabela 11). Os basidiosporos de *C. perniciosa* são elipsóides (Fig. 19), com comprimento variando entre 5,40 μ e 7,97 μ e largura variando entre 10,11 μ e 10,96 μ (Tabela 12).

TABELA 11 - Variabilidade de isolados de *Crinipellis perniciosa* de *Theobroma* spp., em relação ao tamanho de basidiocarpos.

Isolado	Ø do Píleo	Comprimento do Estipe (mm)
C 990	9,20	4,30
C 392	8,10	3,83
CP 191	9,30	4,10
CP 491	8,90	3,80
CP 292	8,22	3,90
H2 1090	11,60	4,60
H2 491	10,00	4,70
H2 1091	8,56	4,31
H2 292	9,06	3,85
SAT 191	8,80	4,40
SAT 292	8,43	3,87
TA 491	7,71	3,62
TA 292	8,26	3,61
Tca 591	6,30	3,50
Tca 292	7,90	4,80
Tca 492	9,00	4,33
Tob 292	4,81	2,20
Tsb 191	8,30	3,60
Tsb 491	7,60	2,50
Tsb 1191	8,46	3,79
Tsb 292	8,30	3,16

Média de 50 observações/isolado.

C = Castanhal; CP = Capitão Poço; H2 = Belém; SAT = Santo Antônio do Tauá; TA = Tomé-Açú; Tca = *T. cacao*; Tob = *T. obovatum*; Tsb = *T. subincanum*.

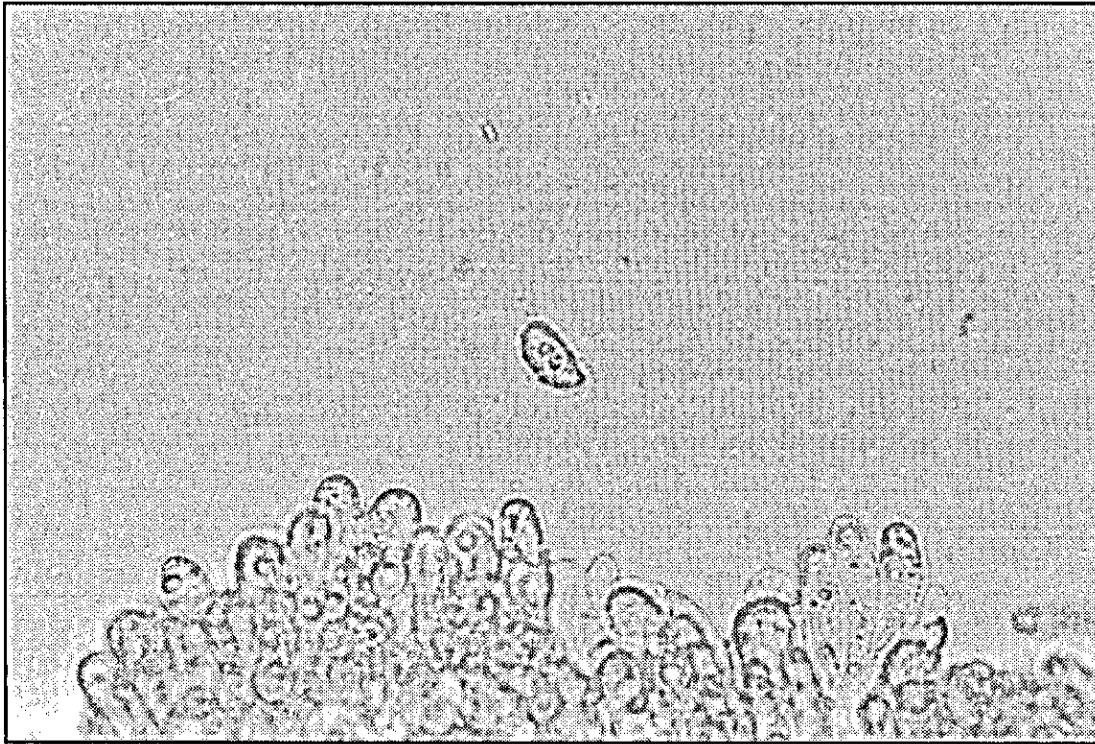


FIG. 19 - Basídias e basídiosporo de *Crinipellis pernicioso* do cupuaçuzeiro, vistos através de microscopia ótica.

TABELA 12 - Tamanho de basídiosporos de *Crinipellis pernicioso* de *Theobroma* spp.

Isolado	Largura (μ)	Comprimento (μ)
C 392	5,66	10,40
CP 292	5,54	10,53
SAT 292	5,46	10,40
TA 292	5,78	10,80
TA 491	5,58	10,35
Tob 292	7,97	10,96
Tsb 1191	5,59	10,11
Tsb 292	5,91	10,33

Média de 50 observações/isolado (Objetiva 40x; Fator = 4,8).

C = Castanhal; CP = Capitão Poço; SAT = Santo Antônio do Tauá; TA = Tomé-Açú; Tob = *T. obovatum*; Tsb = *T. subincanum*.

Experimento 2 - Comparação morfológica entre isolados de *Crinipellis perniciosa* de *Theobroma* spp.

Colônias de isolados de *C. perniciosa* de *Theobroma* spp. foram caracterizadas em meio de batata-dextrose-ágar (BDA) quanto ao aspecto morfológico. O crescimento em diâmetro também foi observado, em regime de escuro contínuo a $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$, durante 21 dias (Tabela 13).

TABELA 13 - Comparação morfológica entre isolados de *Crinipellis perniciosa* de *Theobroma* spp.

Parâmetro	Tg ₁	Tca	Tsb	Tob	Tg ₂
	491	1090	191	491	191
1	7,95	9,00	6,90	9,00	4,60
2	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
3	Hialina	Hialina	Hialina	Hialina	Branca
4	Circular	Circular	Circular	Circular	Circular
5	Esparsa	Esparsa	Esparsa	Encrespada	Densa aérea
6	Regular	Regular	Irregular	Regular	Irregular
7	+	+	+	++	+++

1 - Diâmetro médio da colônia (cm); 2 - Pigmento carmin: presente ou ausente; 3 - Cor da colônia: opaca; hialina; sinais vermelhos; 4 - Feitio da colônia: circular; concêntrica; estrelada; 5 - Aspecto da colônia: regular; densa; encrespada aérea; molhada submersa; esparsa; irregular submersa; 6 - Borda da colônia: regular; irregular; 7 - Textura do micélio: muito escasso(+); abundante e frouxo(++); abundante e compacto(+++).

Tg₁ = *T. grandiflorum*, isolado de Tomé-Açu; Tca = *T. cacao*; Tsb = *T. subincanum*; Tob = *T. obovatum*; Tg₂ = *T. grandiflorum*, isolado de Santo Antônio do Tauá

Experimento 3 - Compatibilidade somática entre isolados de *Crinipellis perniciosa* de *Theobroma* spp.

Isolados de *C. perniciosa* de *Theobroma* spp. foram pareados em meio de cultura V-8, com o objetivo de observar a compatibilidade entre os micélios. As culturas pareadas foram incubadas por 21 dias em escuro contínuo, a 27°C (Tabela 14). Os micélios de *C. perniciosa* de cupuaçuzeiro e de cacauzeiro mostraram-se incompatíveis (Fig. 20).

TABELA 14 - Compatibilidade somática entre isolados de *Crinipellis pernicioso* de cacaueteiro (Tca 292) e cupuaçuzeiro, oriundos de diferentes municípios, do Estado do Pará.

Isolados	Tca 292	TA 692	Ab 490	C 990	CP 292	H2 292	SAT 292
Tca 292	+	-	-	+	-	-	-
TA 692	-	+	+	-	+	+	+
Ab 490	-	+	+	-	X	X	X
C 990	+	-	-	+	-	-	-
CP 292	-	+	X	-	+	X	X
H2 292	-	+	X	-	X	X	X
SAT 292	-	+	X	-	X	+	+

-Incompatível, colônias se tocando com formação de pigmentos; --: incompatível, colônias se tocando sem formação de pigmentos; ---: incompatível, colônias não se tocando; +: compatível; x: contaminação.

TA = Tomé-Açu; Ab = Abaetetuba; C = Castanhal; CP = Capitão Poço; H2 = Belém; SAT = Santo Antônio do Tauá.



FIG. 20 - Incompatibilidade somática entre micélios de *Crinipellis pernicioso* de cupuaçuzeiro e de cacaueteiro em meio de cultura V-8.

Experimento 4 - Teste de patogenicidade de isolados de *Crinipellis perniciosa* em *Theobroma* spp.

"Seedlings" de cupuaçuzeiro e cacauzeiro foram inoculados com isolados de *C. perniciosa* de cacauzeiro e cupuaçuzeiro, com o objetivo de testar a patogenicidade nos hospedeiros anteriormente citados. Foi utilizada a técnica de inoculação com disco de agar + basidiosporos, na gema apical ou no hipocótilo. Os resultados encontram-se nas Tabelas 15 e 16 e na Fig. 21.

TABELA 15 - Patogenicidade de isolados de *Crinipellis perniciosa* do *T. grandiflorum* em "seedlings" de cupuaçuzeiro e cacauzeiro, através de inoculação na gema apical.

Hospedeiro	Isolados de cupuaçu		
	TA 1192	Col 193	TA 992
Cupuaçuzeiro	+	+	+
Cacauzeiro	-	-	-

TA = Tomé-Açu; Col = Colares

TABELA 16 - Patogenicidade de isolados de *Crinipellis perniciosa* de *T. grandiflorum* e *T. cacao* em "seedlings" de cupuaçuzeiro, através de inoculação no hipocótilo.

Hospedeiro	Nº de planta	Isolado	
		Cupuaçu (TA 1192)	Cacau (Tca 992)
Cupuaçuzeiro	1	+	+
	2	+	+
	3	+	+
	4	+	+
	5	+	+



FIG. 21 - Mudanças de cupuaçuzeiro sadia (esquerda) e com sintomas de vassouras-de-bruxa (direita), após inoculação artificial com bloco de agar.

Experimento 5 - Caracterização bioquímica de isolados de *Crinipellis pernicioso* de *Theobroma* spp.

Testes bioquímicos foram realizados *in vitro*, com o objetivo de caracterizar bioquimicamente isolados de *C. pernicioso* do cupuaçuzeiro e identificar semelhanças entre os mesmos. Os resultados encontram-se discriminados na Tabela 17 e demonstrados na Fig. 22.

TABELA 17 - Caracterização bioquímica de isolados de *Crinipellis pernicioso* do cupuaçuzeiro.

Isolado	Teste bioquímico					
	PO	AF	VAN	VAN	PE	PE
C 990	-	-	-	-	+	+
CP 292	-	-	-	-	+	+
TA 1192	-	-	-	-	+	+
Col 193	-	-	-	-	+	+
IGA 992	+-	-	-	+-	+	+
SAT 292	+	-	-	+	+	+
BEL 191	++	-	-	+	+	+

PO: Polifenol oxidase; AF: Ácido ferrúlico; VAN: Vanilina; PE: Peroxidase; -: sem reação; +: reação positiva fraca; ++ reação positiva média; +- reação positiva forte.

C = Castanha; CP = Capitão Poço; TA = Tomé-Açu; Col = Colares; IGA = Igarapé-Açu; SAT = Santo Antônio do Tauá; BEL = Belém

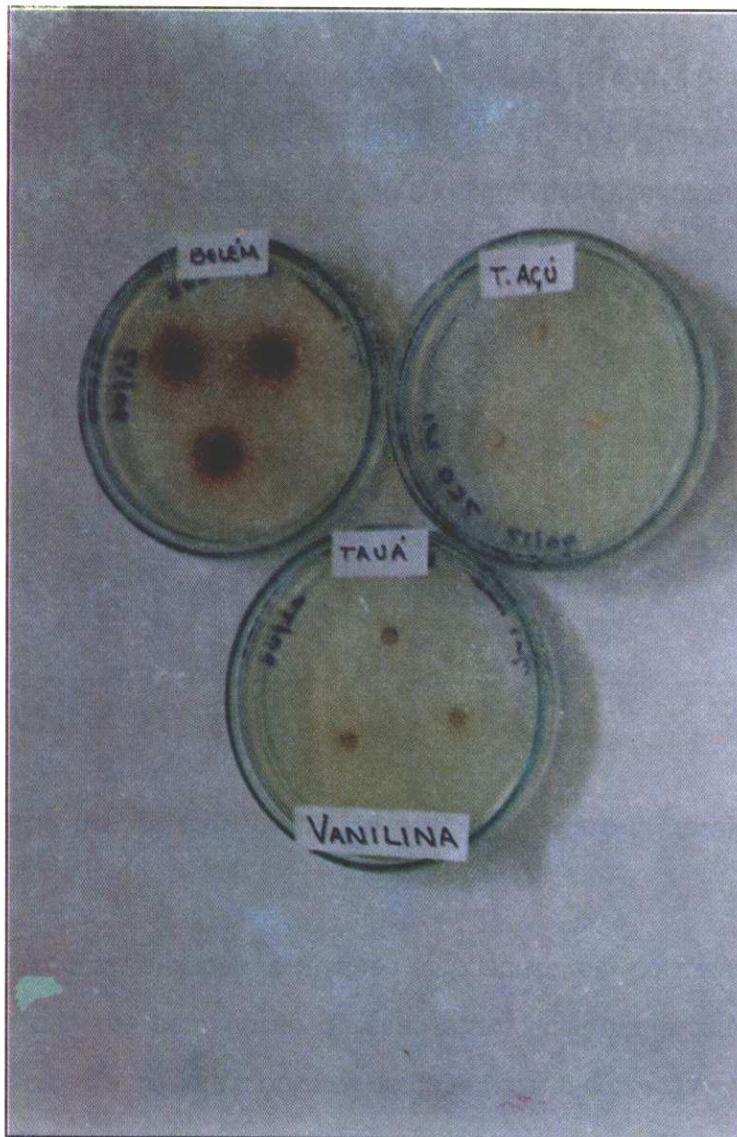


FIG. 22 - Diferentes reações de isolados de *Crinipellis perniciosia* ao teste bioquímico da vanilina.

Experimento 6 - Produção de basidiocarpos de *Crinipellis perniciosia* de *Theobroma* spp. em vassouras destacadas, sob telado

Em 1992 a produção de basidiocarpos foi registrada em vassouras destacadas, sob condições de telado, com o objetivo de definir a época de pico, para embasar estudos de controle da vassoura-de-bruxa do cupuaçuzeiro.

Observou-se que a produção de basidiocarpos foi muito baixa nos períodos de janeiro-abril e agosto-dezembro de 1992. A produção aumentou em maio, alcançando seu pico em julho (Fig. 23). A precipitação pluviométrica do período encontra-se na Tabela 18.

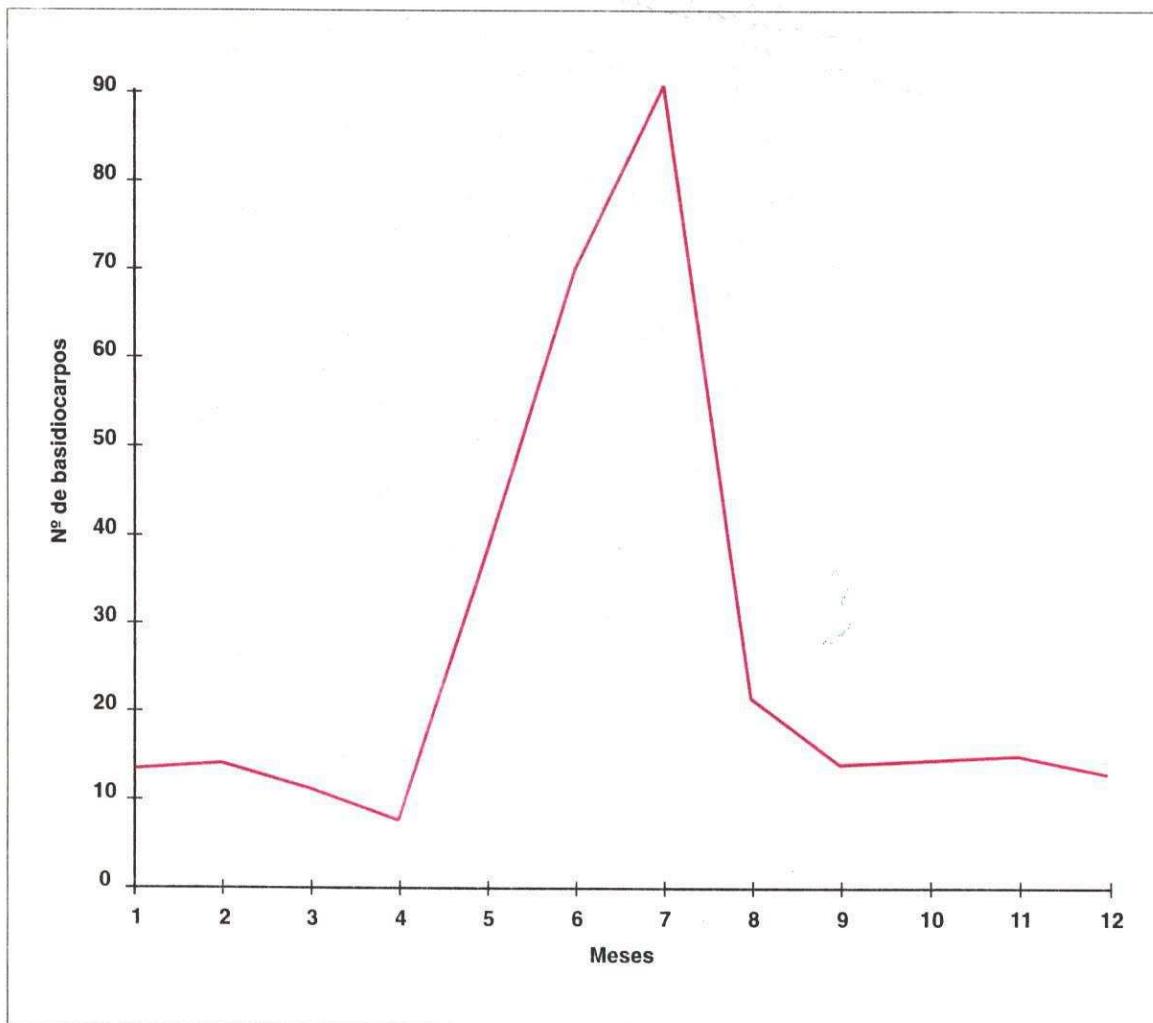


FIG. 23 - Produção de basidiocarpos de *Crinipellis perniciosus* de *Theobroma spp.*, em vassouras destacadas, sob telado.

TABELA 18 - Precipitação pluviométrica no CPATU, em 1992.

Mês	Precipitação (mm)
Janeiro	425,7
Fevereiro	710,8
Março	429,5
Abril	404,7
Mai	183,5
Junho	118,7
Julho	170,4
Agosto	84,7
Setembro	121,2
Outubro	44,2
Novembro	68,5
Dezembro	111,9

Fonte: Laboratório de Climatologia do CPATU.

Experimento 7 - Biologia de *Crinipellis pernicioso* do cupuaçuzeiro: observações de campo

As vassouras emitidas em cinco cupuaçuzeiros por mês foram marcadas e observadas desde a primeira semana de emissão até o início da produção de basidiocarpos, durante todos os meses do ano, com o objetivo de determinar o número de vassouras emitidas e o comportamento da doença no campo.

Observou-se que no período de junho de 1991 a maio de 1994 houve emissão de vassouras durante todos os meses do ano, com exceção de janeiro, novembro e dezembro de 1992 (Fig. 24) e janeiro e fevereiro de 1994 (Fig. 25). Nesses períodos, a precipitação pluviométrica costuma ser muito alta ou muito baixa, respectivamente (Figs. 25 e 26).

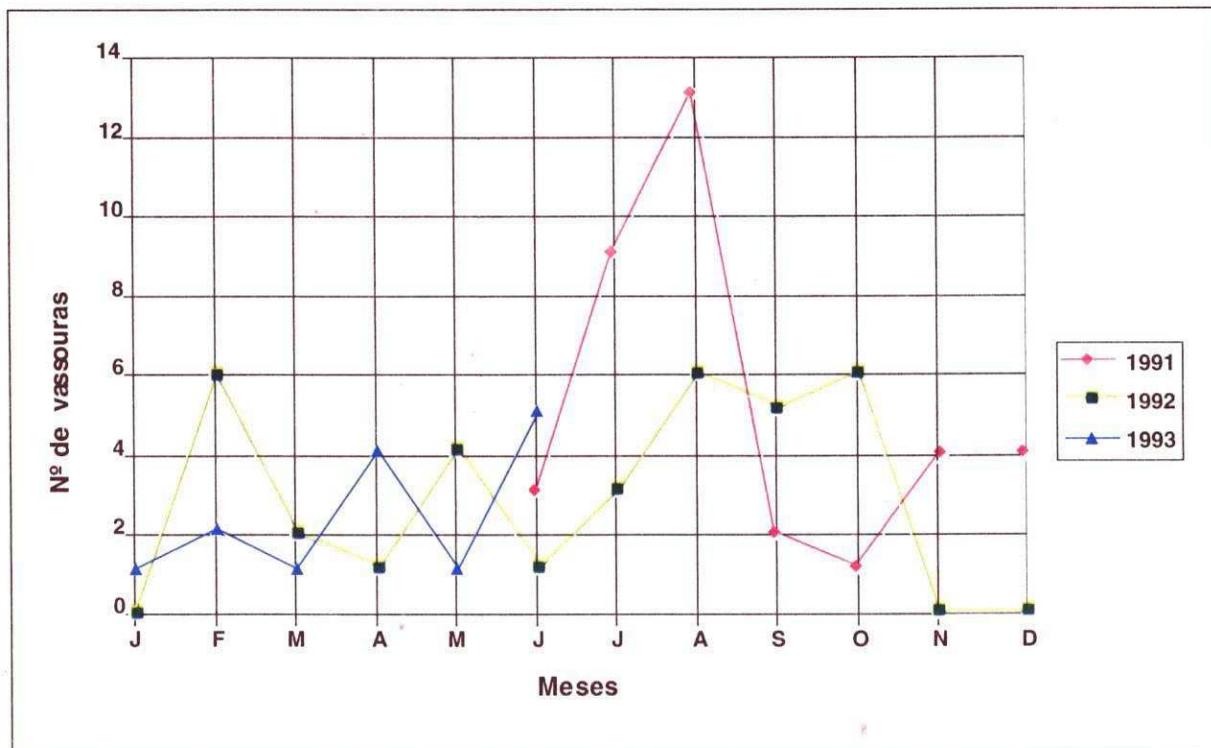


FIG. 24 - Emissão de vassouras vegetativas em cupuaçuzeiros adultos não-enxertados, em plantio sombreado no período de junho de 1991 a junho de 1993.

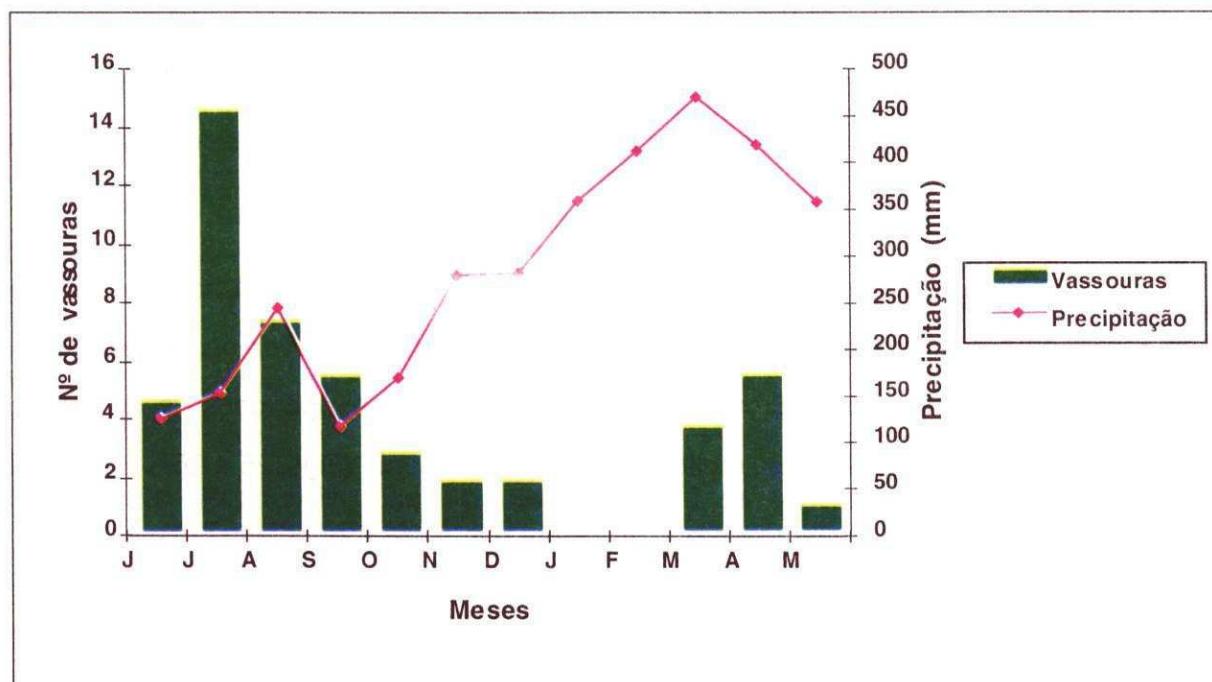


FIG. 25 - Emissão de vassouras vegetativas em cupuaçuzeiros não-enxertados, em plantio sombreado, em relação à precipitação pluviométrica, no período de junho de 1993 a maio de 1994.

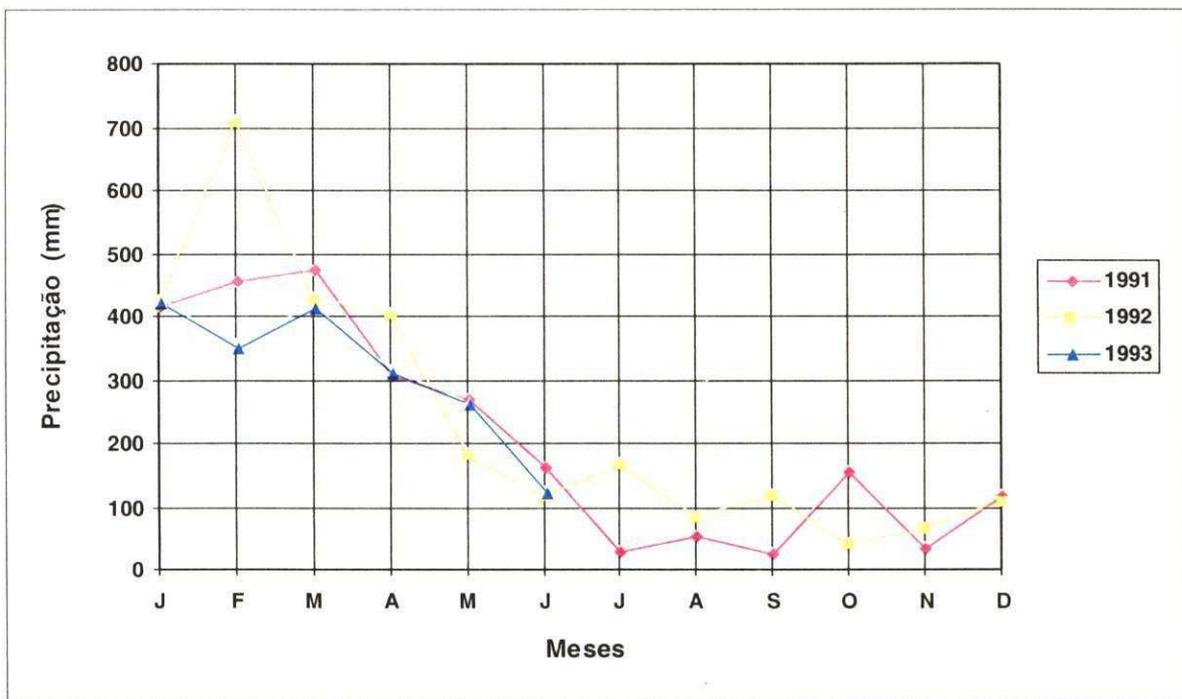


FIG. 26 - Precipitação pluviométrica média em Belém, nos anos de 1991 a 1993.

No período de junho de 1991 a abril de 1994, o comprimento das vassouras variou entre 61cm e 10cm, médias obtidas nos meses de abril de 1992 e março de 1993, respectivamente (Figs. 27 e 28).



FIG. 26 - Comprimento médio de vassouras vegetativas em cupuaçuzeiro não-enxertado, em plantio sombreado, no período de junho de 1991 a junho de 1993.

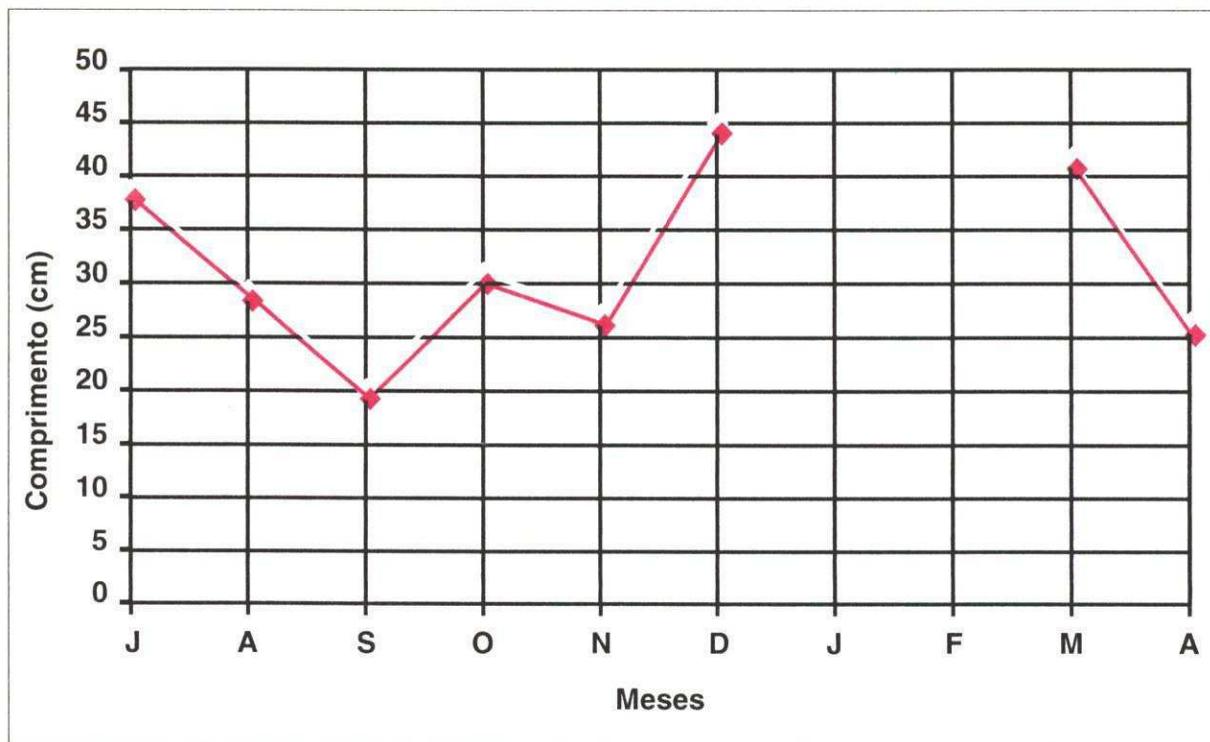


FIG. 28 - Comprimento médio de vassouras vegetativas em cupuaçuzeiros adultos não-enxertados, em plantio sombreado, no período de julho de 1993 a abril de 1994.

Entre junho de 1991 e abril de 1994, os períodos máximo e mínimo em que as vassouras permaneceram verdes foram de 67,5 e 27,8 dias, nos meses de março de 1991 e setembro de 1992, respectivamente, e de três a treze dias (Figs. 29 e 30), foi verificado o rápido secamento da base da vassoura para o ápice.

O período pré-frutificativo das vassouras vegetativas foi de até 350 dias (Fig. 31).

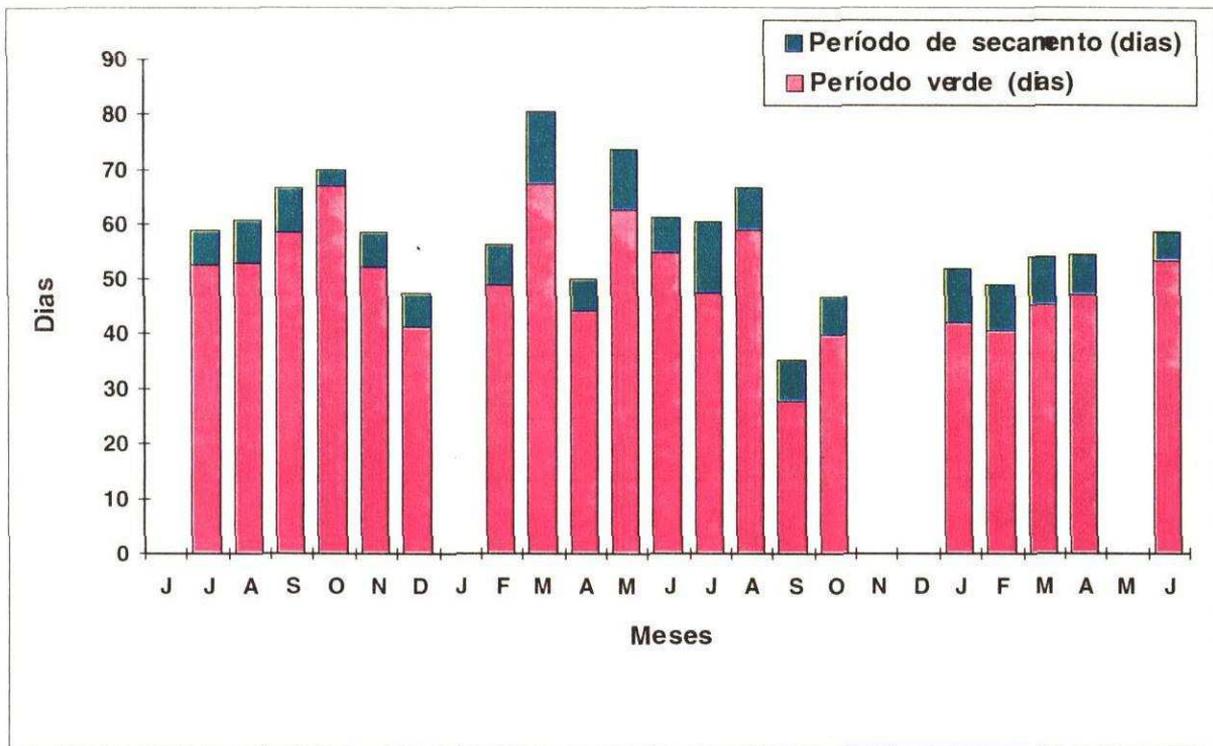


FIG. 29 - Períodos verde e de secamento de vassouras vegetativas em cupuaçuzeiros adultos não-enxertados, em plantio sombreado, no período de junho de 1991 a junho de 1993.

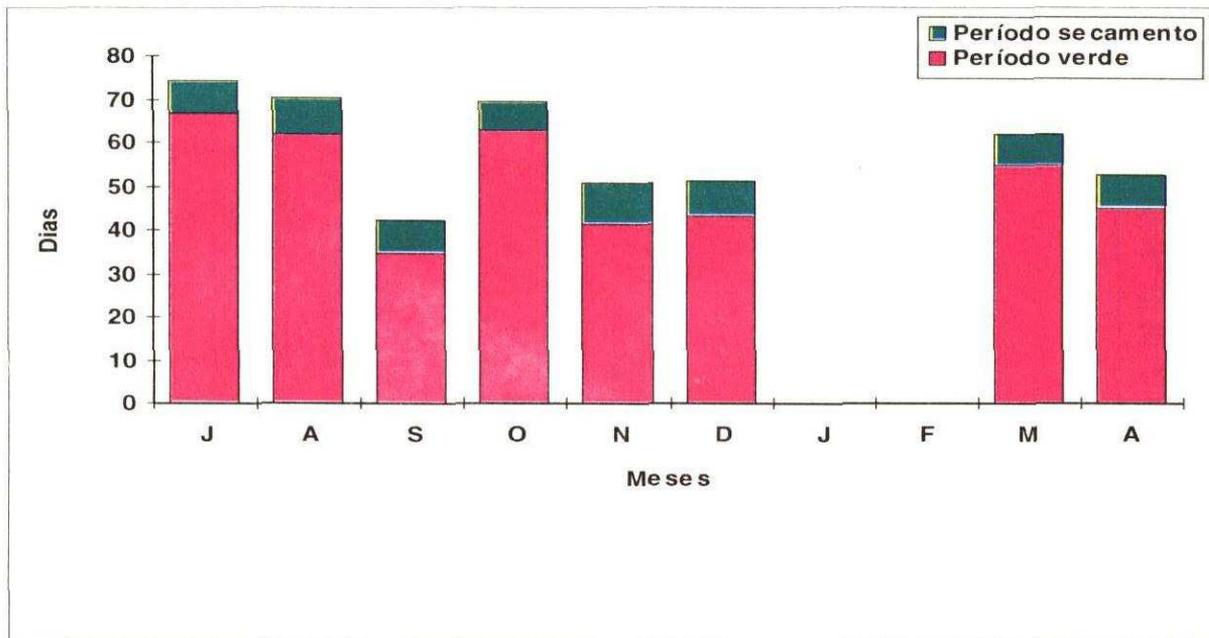


FIG. 30 - Períodos verde e de secamento de vassouras vegetativas em cupuaçuzeiros adultos não-enxertados, em plantio sombreado, no período de julho de 1993 a abril de 1994.

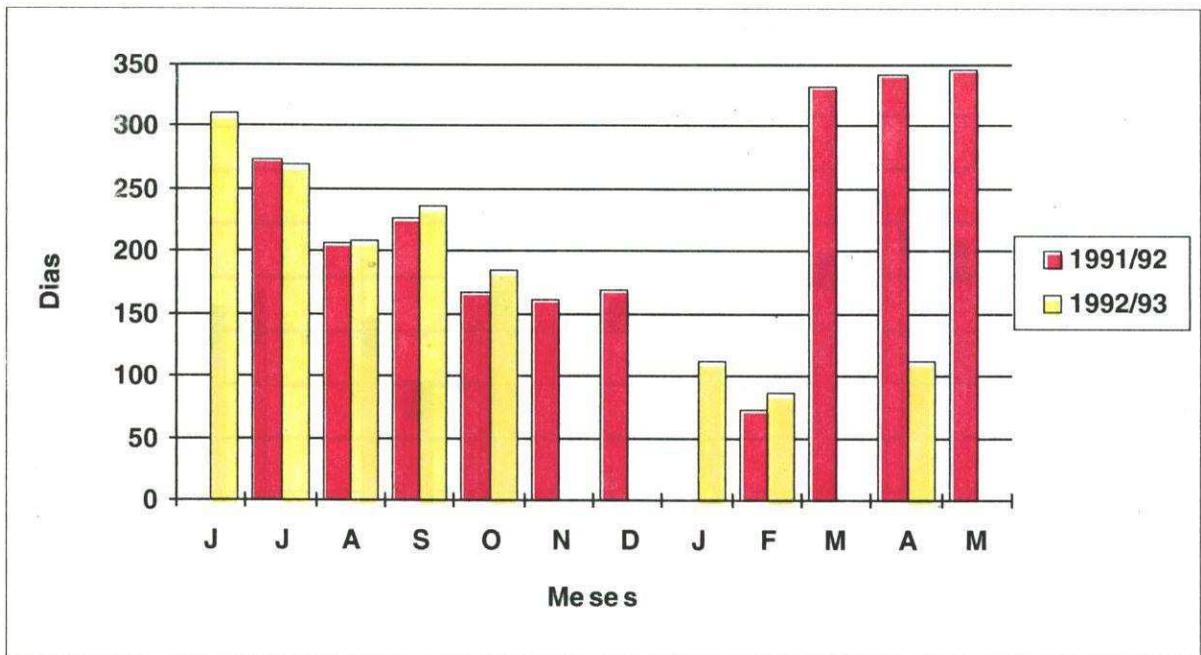


FIG. 31 - Período pré-frutificativo de vassouras vegetativas emitidas no período de junho de 1991 a maio de 1993.

A produção de basidiocarpos foi computada a partir de maio de 1992. O número de basidiocarpos foi maior nos meses de junho-julho de 1992 e julho-agosto de 1993, épocas de precipitação pluviométrica não muito elevada (Figs. 32 e 33).

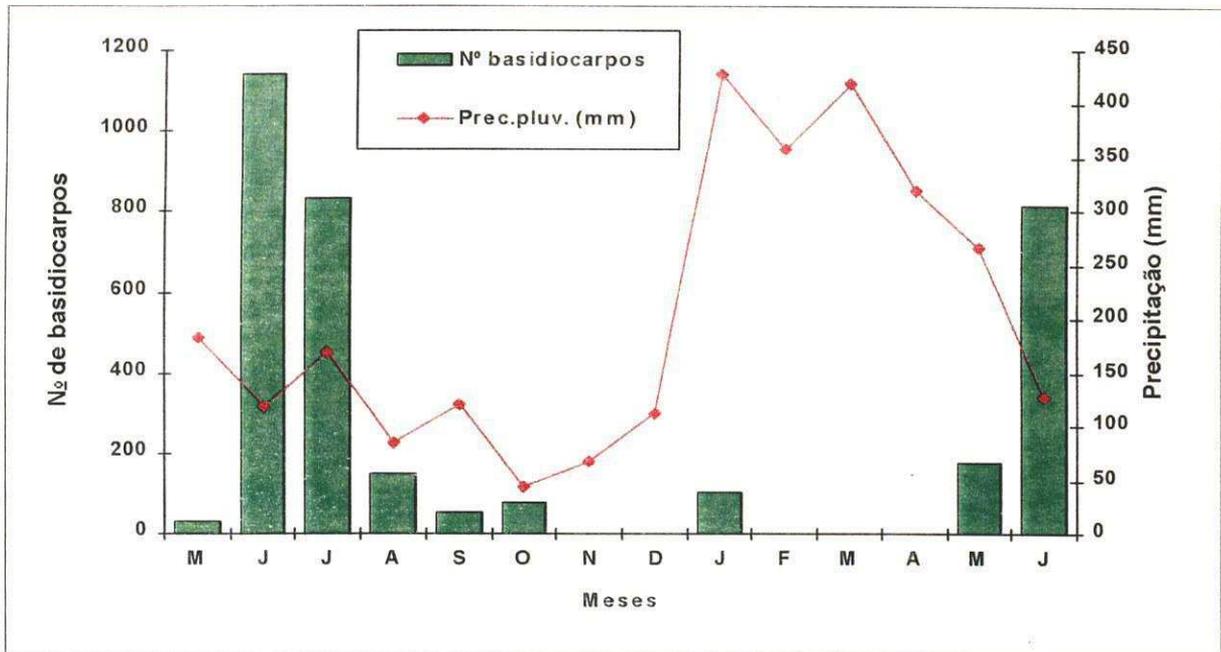


FIG. 32 - Produção de basidiocarpos de *Crinipellis pernicioso* em vassouras vegetativas de cupuaçuzeiro, no período de maio de 1992 a junho de 1993.

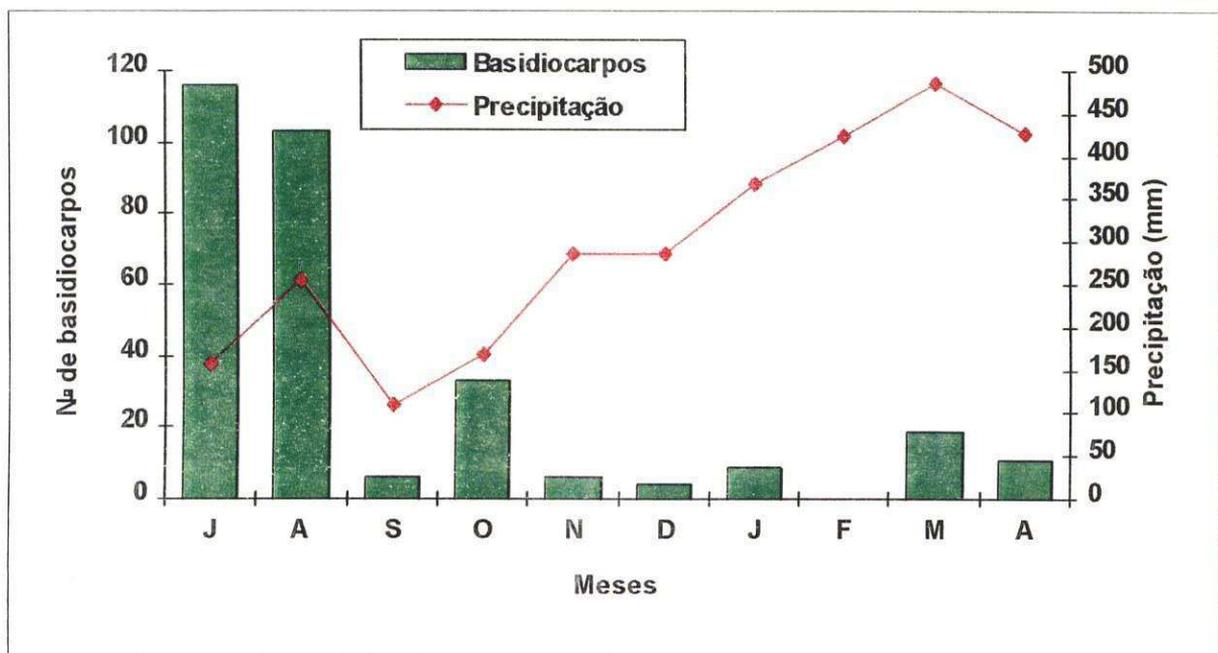


FIG. 33 - Produção de basidiocarpos de *Crinipellis pernicioso* em vassouras vegetativas de cupuaçuzeiro, em relação à precipitação pluviométrica no período de julho de 1993 a abril de 1994.

Experimento 8 - Produção artificial de basidiocarpos de *Crinipellis perniciosa* do cupuaçuzeiro

A produção de basidiocarpos de *C.perniciosa* é um fator limitante para os estudos da biologia e controle da vassoura-de-bruxa do cupuaçuzeiro, uma vez que ocorre em grandes quantidades apenas em determinadas épocas do ano.

Meios artificiais e materiais alternativos estão sendo testados em laboratório e em casa-de-vegetação, com o objetivo de suprir as necessidades de inóculo dessa doença em qualquer época do ano.

A produção de 50 basidiocarpos infectivos foi observada em culturas do patógeno em meio específico, mantidas assepticamente por dois meses em laboratório e então transferidas para telado com 50% de sombra e irrigação por seis horas diárias (Figs. 34 e 35).



FIG. 34 - Basidiocarpos de *Crinipellis perniciosa* do cupuaçuzeiro produzidos em meio de cultura artificial, sob condições de telado com 50% de sombreamento e irrigação controlada.

Alguns materiais como algodão, pedra-pomes, esponja, tecido de cupuaçuzeiro e *Mauritia setigera* (miriti) estão sendo testados. Este último foi o que mais promoveu o crescimento micelial do patógeno.

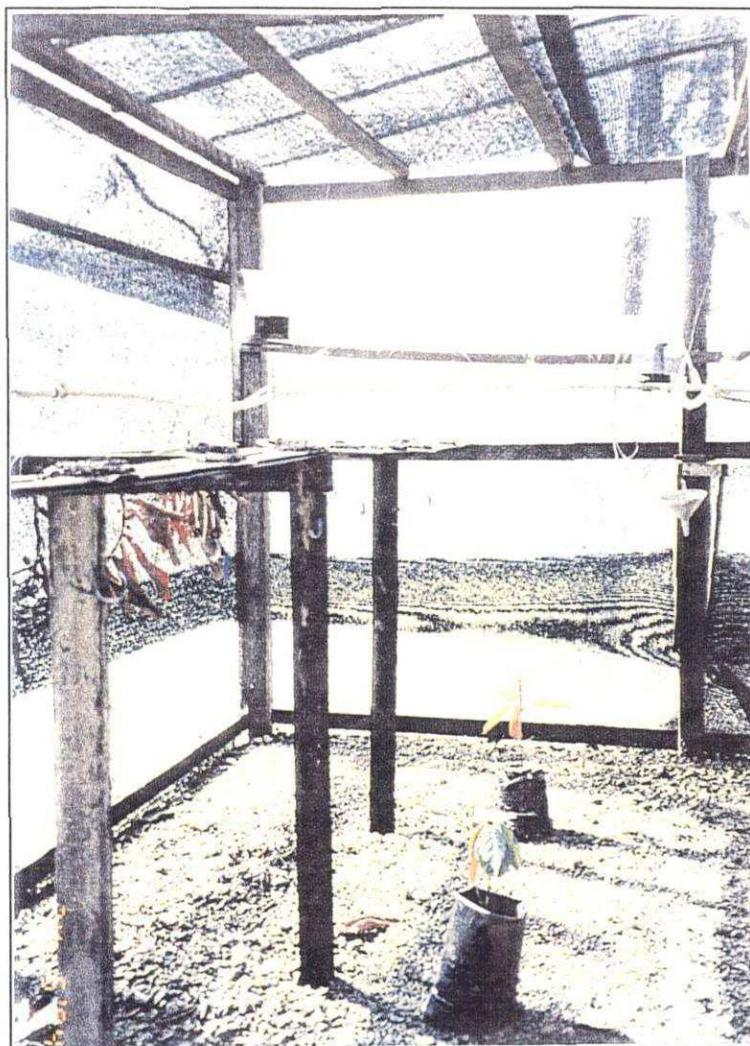


FIG. 35 - Telado sombreado com sistema de irrigação controlada, usado para experimento de produção artificial de basidiocarpos.

Continuando os estudos para a produção artificial de basidiosporos de *C. pernicioso* do cupuaçuzeiro, foi repetido o experimento em meio de farelo-vermiculita, onde se obteve a produção média de 87 basidiocarpos, todos infectivos quando inoculados em mudas de cupuaçuzeiro, sob casa-de-vegetação, em épocas onde praticamente não há produção artificial desses propágulos no campo (Fig. 36). O desenvolvimento de um método que não dependa do hospedeiro para a produção de basidiocarpos de *C. pernicioso* é de grande utilidade para os estudos biológicos, epidemiológicos e fisiológicos desse patógeno e da vassoura-de-bruxa, uma vez que poderá ser desenvolvido independentemente de época ou lugar.

hospedeiro para a produção de basidiocarpos de *C. pernicioso* é de grande utilidade para os estudos biológicos, epidemiológicos e fisiológicos desse patógeno e da vassoura-de-bruxa, uma vez que poderá ser desenvolvido independentemente de época ou lugar.

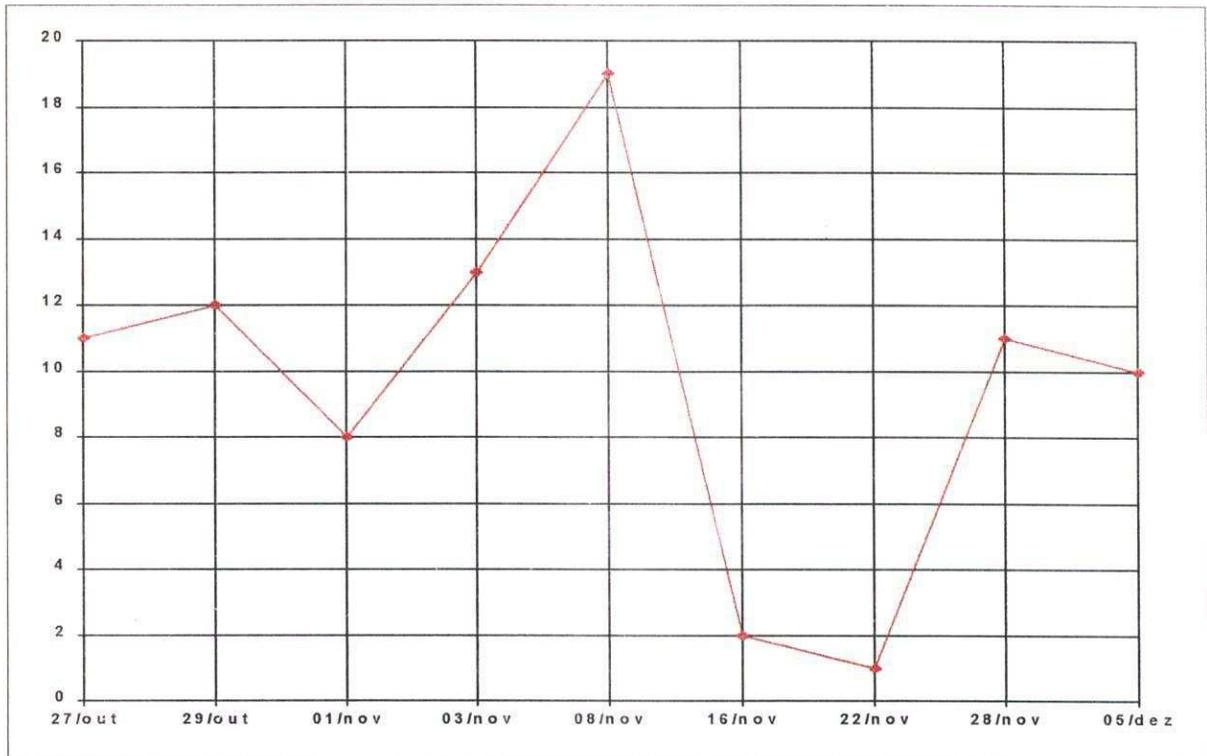


FIG. 36 - Produção artificial de basidiocarpos de *Crinipellis pernicioso* do cupuaçuzeiro em meio de farelo-vermiculita.

Experimento 9 - Avaliação fisiológica, bioquímica e de crescimento de plantas de cupuaçuzeiro sadias e infectadas por *Crinipellis pernicioso*

O cupuaçuzeiro, como outras plantas nativas da Amazônia, ainda não tem as suas exigências hídricas, luminosas e nutricionais perfeitamente identificadas e interrelacionadas. Esse desconhecimento dificulta sobretudo o estabelecimento de um sistema de produção, onde essas variáveis possam ser manejadas, principalmente quando as condições ambientais, em conjunto ou isoladamente, estiverem afetando a predisponibilidade das plantas ao ataque da vassoura-de-bruxa.

Estudos em condições semicontroladas (telado de sombrite, com interceptação de luz de 50%) estão sendo conduzidos, utilizando-se plantas provenientes de sementes de frutos

Após cinco meses de cultivo, as avaliações biométricas da ontogenia foliar das plantas têm mostrado que o crescimento inicial do cupuaçuzeiro, sob essas condições é lento, sendo que a emissão de folíolos é intermitente, passando por cinco fases bem distintas entre o início da emissão e o completo amadurecimento.

As plantas apresentaram crescimento de 17,20cm em altura, exibindo em média quatorze folhas, estando esses valores também condicionados à situação de cultivo a que as mesmas estejam sendo submetidas.

Os estudos de anatomia foliar estão em andamento, bem como os ensaios bioquímicos que avaliam o processo de enverdecimento dos folíolos, através da determinação dos teores de clorofila A, B e relação A/B, como base para os futuros estudos sobre o comportamento estomático e de fotossíntese.

Ainda não foram iniciados os estudos fisiológicos sobre plantas infectadas com *Crinipellis pernicioso*, devido às dificuldades no processo de inoculação do fungo, em função das condições de infra-estrutura desfavoráveis ao desenvolvimento do mesmo, como temperatura muito elevada e ataque de ácaros nas mudas a serem inoculadas.

Os estudos de fisiopatologia deverão ter continuidade através das seguintes ações de pesquisa:

- Avaliação da eficiência no uso de água de cupuaçuzeiros jovens, submetidos a déficits hídricos cíclicos.
- Determinação do ponto de compensação luminoso para o cupuaçuzeiro.
- Caracterização antômica e bioquímica de cupuaçuzeiros sadios e infectados por *Crinipellis pernicioso*.

Conclusões preliminares

Existe variabilidade de isolados de *C. pernicioso* de *Theobroma* spp. em relação à morfologia, compatibilidade somática, patogenicidade, características bioquímicas e ao tamanho de basidiosporos e basidiocarpo.

A produção de basidiocarpos em vassouras destacadas, sob telado, pode ser obtida o ano inteiro, com aumento significativo a partir de maio e pico em julho.

No campo, a precipitação pluviométrica muito alta ou muito baixa inibe a produção de basidiocarpos. O maior número de basidiocarpos pode ser observado nos meses de junho, julho e agosto.

A produção artificial de basidiocarpos de *C. pernicioso* pode ser obtida utilizando-se meio de farelo-vermiculita.

Difusão de tecnologia

- Apresentação de trabalho contendo resultados parciais do projeto, pelo estagiário Risaldo Muniz do Nascimento, bolsista do CNPq, durante o III Seminário de Iniciação-Científica da UFPA, no período de 6 a 10 de abril de 1992.

- Divulgação, no Programa Cultura da Terra, da TV Cultura, em Belém, Estado do Pará, dos objetivos e dos resultados alcançados no projeto.

- Divulgação no Curso de Diversificação Agronômica para extensionistas da CEPLAC, no segmento de doenças do cupuaçuzeiro, em outubro de 1992.

- Palestra sobre a vassoura-de-bruxa do cupuaçuzeiro para professores e alunos de mestrado em fitopatologia da Universidade de Brasília (UNB), em outubro de 1992.

- Apresentação de trabalhos, contendo resultados parciais do projeto, no I Seminário de Iniciação Científica do Museu Emílio Goeldi, em abril de 1993.

- Divulgação de resultados obtidos para técnicos durante a visita de avaliação da missão japonesa da JICA, em 1992.

- Curso sobre vassoura-de-bruxa para técnicos da Vale do rio Doce, em 1991.