**INFLUÊNCIA DA NUTRIÇÃO MINERAL NA MANIFESTAÇÃO DOS
SINTOMAS DA VASSOURA-DE-BRUXA (*Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer)
EM CACAUEIRO**

LUIZA HITOMI IGARASHI NAKAYAMA
Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. Antonio Enedi Boaretto

**Tese apresentada à Escola Superior de
Agricultura “Luiz de Queiroz”, da
Universidade de São Paulo, para
obtenção do Título de Doutor em
Agrônômia, Área de concentração:
Solos e Nutrição de Plantas**

**Piracicaba
Estado de São Paulo - Brasil
Novembro - 1995**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP

Nakayama, Luiza Hitomi Igarashi

Influência da nutrição mineral na manifestação dos sintomas da vassoura-de-bruxa (Crinipellis perniciosa (Stahel) Singer) em cacaueiro.
Piracicaba, 1995

76p. ilus.

Tese - ESALQ

Bibliografia.

1. Cacao - Doença - Nutrição 3. Nutriente para controle de doença
4. Vassoura-de-bruxa em cacao I. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP

CDD 633.74

**INFLUÊNCIA DA NUTRIÇÃO MINERAL NA MANIFESTAÇÃO DOS
SINTOMAS DA VASSOURA-DE-BRUXA (*Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer)
EM CACAUEIRO**

LUIZA HITOMI IGARASHI NAKAYAMA

Aprovada em 16.01.1996.

Comissão Julgadora:

**Prof. Dr. Antonio Enedi Boaretto
Prof. Dr. Hiroshi Kimati
Prof. Dr. Godofredo Cesar Vitti
Prof. Dr. Hélio Grassi Filho
Dra. Edna Dora Newman Luz**

**CENA/USP
ESALQ/USP
ESALQ/USP
FCA/UNESP
CEPEC/CEPLAC**

Prof. Dr. Antonio Enedi Boaretto

Orientador

**Aos meus filhos Luana, Marcel e Linus
que vivenciaram em harmonia mais
uma etapa da vida**

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Antonio Enedi Boaretto do CENA/USP, exemplo de dedicação e serenidade, pela valiosa orientação e amizade.

Aos Drs. Ricardo Bohrer Sgrillo do CEPEC/CEPLAC e Roberto Setubal do DEPEX/CEPLAC, pelo apoio e empenho na liberação do treinamento.

Aos Prof. Drs. Godofredo Cesar Vitti e Gerd Sporovec da ESALQ/USP, pela valiosa amizade, apoio e contribuições a este trabalho.

Aos Drs. Paulo Sergio Bevilaqua de Albuquerque da COPES/CEPLAC, Erna Elisabeth Bach do IB-SP e Neusa de Lima Nogueira do CENA/USP, pela valiosa amizade, apoio e auxílio nas realizações de alguns segmentos deste trabalho.

À Bióloga Monica Lanzoni do CENA/USP e aos estagiários Gilberto Chaves Grosso e Liza Paula Segolin do IB-SP, pelo auxílio nos cortes e análises de compostos.

Aos Técnicos Agrícolas José Rezende Mendonça e Ana Dalva Assis DORTAS do CEPEC/CEPLAC, pela amizade, apoio e empenho constante.

Aos Drs. Uilson Vanderlei Lopes; Edna Dora Newman Luz e Wilson Reis Monteiro do CEPEC/CEPLAC, pela amizade e fornecimento de materiais.

Ao Centro de Pesquisa do Cacau da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira, CEPEC/CEPLAC, pela possibilidade de realização do curso de pós-graduação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq, pela concessão da bolsa de estudos

Ao Departamento de Ciência do Solo da ESALQ/USP, pelas facilidades concedidas na utilização do laboratório, equipamentos e dependências.

Ao Prof. Dr. Arary Marconi da ESALQ/USP, pelo apoio administrativo e técnico para continuidade deste trabalho.

À Bibliotecária Eliana Maria Garcia Sabino da ESALQ/USP, pelo apoio nas correções bibliográfica.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABELAS	ix
RESUMO	xii
SUMMARY	xv
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Etiologia da vassoura-de-bruxa	4
2.2. Sintomatologia da doença	6
2.3. Histopatologia da parte aérea	7
2.4. Funções dos Nutrientes na Planta	7
2.5. Relação entre Nutrientes e Doenças de Plantas	12
2.6. Compostos Orgânicos em Plantas	14
3. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1. Local	15
3.2. Planta	15
3.2.1. Casa-de-vegetação	15
3.2.2. Campo	15
3.3. Tratamentos	16
3.4. Delineamento Experimental	17
3.5. Obtenção e Desenvolvimento de Plantas	17
3.5.1. Germinação de Sementes	17
3.5.2. Sistema e Recipiente Utilizados	17
3.5.3. Aclimação e Soluções	18
3.6. Técnica de Inoculação	19
3.6.1. Obtenção do Inóculo	19
3.6.2. Inoculação	19

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Sintomas de deficiência de N em folhas de cacaueteiro	28
Figura 2. Sintoma de vassoura-de-bruxa em plantas submetidas	
ao tratamento com omissão de N	28
Figura 3. Sintoma de deficiência de P em folhas em cacaueteiro	30
Figura 4. Sintoma de vassoura-de-bruxa em plantas submetidas	
ao tratamento com omissão de P	30
Figura 5. Sintoma de deficiência de K em folhas de cacaueteiro	31
Figura 6. Sintoma de vassoura-de-bruxa em plantas submetidas	
ao tratamento com omissão de K	31
Figura 7. Sintoma de deficiência de Ca em folhas de cacaueteiro	33
Figura 8. Sintoma de vassoura-de-bruxa em plantas submetidas	
ao tratamento com omissão de Ca	33
Figura 9. Sintoma de deficiência de Mg em folhas de cacaueteiro	34
Figura 10. Sintoma de vassoura-de-bruxa em plantas submetidas	
ao tratamento com omissão de Mg	34
Figura 11. Sintoma de deficiência de S em folhas de cacaueteiro	36
Figura 12. Sintoma de vassoura-de-bruxa em folhas submetidas	
ao tratamento com omissão de S	36
Figura 13. Fotomicrografia de caule submetida ao tratamento com	
omissão de N	41
Figura 14. Fotomicrografia de caule submetida ao tratamento com	
omissão de P	41
Figura 15. Fotomicrografia de caule submetida ao tratamento com	
omissão de K	42
Figura 16. Fotomicrografia de caule submetida ao tratamento com	
omissão de Ca	42
Figura 17. Fotomicrografia de caule submetida ao tratamento com	

omissão de Mg	43
Figura 18. Fotomicrografia de caule submetida ao tratamento com	
omissão de S	43
Figura 19. Teores de clorofila total, clorofila a e b encontrados nos	
extratos de folhas do Catongo	45
Figura 20. Teores de clorofila total, clorofila a e b encontrados nos	
extratos de folhas da progênie de ICS6 x SCA6	46
Figura 21. Teores totais de açúcares redutores, glicose e sacarose	
encontrados nos extratos de caule do Catongo	48
Figura 22. Teores totais de açúcares redutores, glicose e sacarose	
encontrados nos extratos de caule da progênie de ICS6 x SCA6...	49
Figura 23. Teor de proteína total encontrado no extrato de folha da	
progênie de ISC6 x SCA6	52
Figura 24. Teor de fenóis encontrado no extrato de folhas do Catongo	52
Figura 25. Teor de fenóis encontrado no extrato de caule da progênie	
de ICS6 x SCA6	52
Figura 26. Acúmulo de N,P,K,Ca,Mg e S na parte aérea do Catongo	56
Figura 27. Acúmulo de B,Fe,Mn e Zn na parte aérea do Catongo	56
Figura 28. Acúmulo de N,P,K,Ca,Mg e S na parte aérea da progênie	
de ICS6 x SCA6	56
Figura 29. Acúmulo de B,Fe,Mn e Zn na parte aérea da progênie	
de ICS6 x SCA6	56
Figura 30. Acúmulo de N,P,K,Ca,Mg e S na parte aérea da progênie	
de PA150 x MA15	61
Figura 31. Acúmulo de B,Fe,Mn e Zn na parte aérea da progênie	
de PA150 x MA15	62
Figura 32. Teor de proteína total encontrado nos extratos de folhas dos	
genótipos de cacaueiro	64
Figura 33. Teor de fenóis encontrado nos extratos de folhas dos	
genótipos de cacaueiro.....	64

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1 - Composição e quantidade das soluções nutritivas	
(ml/l de solução de estoque de trabalho)	16
Tabela 2 - Composição das soluções nutritivas de micronutrientes	17
Tabela 3 - Sequência de Aclimação das plantas de cacauero	18
Tabela 4 - Altura de planta de três híbrido de cacauero obtidos no	
período que antecede à inoculação e colheita das plantas	
(médias de 4 repetições)	25
Tabela 5 - Peso da matéria seca da parte aérea de três progênies de	
cacauero obtidas dos tratamentos de macronutrientes, com	
e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições)	26
Tabela 6 - Tipos de sintomas observados nos três progênies de cacauero	
inoculadas com <i>Crinipellis pernicioso</i>	37
Tabela 7 - Número de plantas com sintomas de vassoura-de-bruxa	
encontradas no três híbridos de cacauero	38
Tabela 8 - Teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e	
enxofre, da parte aérea médio-apical do híbrido Catongo,	
submetida a omissão de macronutrientes, com e sem	
inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições)	54
Tabela 9 - Teores de boro, cobre, ferro, manganês e zinco, da parte aérea	
. médio-apical da progênie de Catongo submetida e omissão	
.....de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos	
.....(média de 4 repetições)	54
Tabela 10 - Teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e	
enxofre, da parte aérea médio-basal da progênie de Catongo,	
submetida a omissão de macronutrientes, com e sem inoculação	
de basidiosporos (média de 4 repetições).....	55

Tabela 11 - Teores de boro, cobre, ferro, manganês e zinco, da parte aérea médio-basal da progênie de Catongo submetida a omissão de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições)	55
Tabela 12 - Teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, da parte aérea médio-apical da progênie de ICS6 x SCA6, submetida a omissão de macronutrientes com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições).....	57
Tabela 13 - Teores de boro, cobre, ferro, manganês e zinco, da parte aérea médio-apical da progênie de ICS6 x SCA6 submetida e omissão de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições)	58
Tabela 14 - Teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, da parte aérea médio-basal da progênie de ICS6 x SCA6, submetida a omissão de macronutrientes sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições)	58
Tabela 15 - Teores de boro, cobre, ferro, manganês e zinco, da parte aérea médio-basal da progênie de ICS6 x SCA6 submetida a omissão de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições)	59
Tabela 16 - Teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, da parte aérea médio-apical do híbrido PA150 x MA15, submetida a omissão de macronutrientes com e sem inoculação de basidiosporos (médias de 4 repetições).....	60
Tabela 17 - Teores de boro, cobre, ferro, manganês e zinco, da parte aérea médio-apical da progênie de PA150 xMA15 submetida e omissão de macronutriente, com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições).....	60

Tabela 18 - Teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, da parte aérea médio-basal da progênie de PA150 x MA15 submetida a omissão de macronutrientes com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições).....	60
Tabela 19 - Teores de boro, ferro, manganês e zinco da parte aérea médio-basal da progênie de PA150 x MA15 submetida a omissão de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições)	61
Tabela 20 - Níveis de nutrientes encontrados nas três progênies de cacaueiro.	62
Tabela 21 - Teores de macro e micronutrientes contidos nas folhas sadias e infectadas do híbrido SCA6 x ICS1	65

**INFLUÊNCIA DA NUTRIÇÃO MINERAL NA MANIFESTAÇÃO DOS
SINTOMAS DA VASSOURA-DE-BRUXA (*Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer)
EM CACAUEIRO**

Autor: Luiza Hitomi Igarashi Nakayama

Orientador: Prof. Dr. Antonio Enedi Boaretto

RESUMO

A vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Crinipellis perniciosa*, é atualmente um grande problema na região cacaueira do sul da Bahia. Embora a resistência do cacaueiro à enfermidade seja controlada geneticamente, o estado nutricional das plantas pode interferir diretamente aumentando ou atenuando os sintomas da doença. Como o estado nutricional pode ser controlado com relativa facilidade, a nutrição mineral apresenta-se como um fator auxiliar promissor no controle da vassoura-de-bruxa. Sendo, no entanto, necessário saber quais os nutrientes mais relacionados com o processo da patogênese. Assim, objetivou-se em relacionar o estado nutricional de três progênies de cacaueiro com os sintomas de vassoura-de-bruxa e identificar os nutrientes que mais se relacionam com os danos causados pelo patógeno; avaliar os fatores bioquímicos de proteção e a localização do patógeno nos tecidos. O experimento foi desenvolvido em casa-de-vegetação. As progênies ICS6 X SCA6; PA150 X MA15 e Catongo considerados, respectivamente, tolerante, medianamente tolerante e susceptível foram cultivados em vasos contendo sílica e submetidos à técnica de diagnose por subtração. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 7 tratamentos principais (completo, com macro e micronutrientes e diagnose por subtração dos macronutrientes: -N; -P; -K; -Ca, -Mg e -S) e tratamentos secundários nas parcelas,

constituídos de plantas inoculadas ou não com basidiosporos de *C. pernicioso* e com cinco repetições. Cada vaso continha duas plantas de cacau e somente uma foi inoculada no ápice com suspensão, contendo aproximadamente 330 basidiosporos. No campo, foram coletados ramos vegetativos com e sem vassouras de quatro genótipos e os estratos foliares submetidos à análises química e de compostos. As análises dos resultados permitiram as seguintes conclusões:

- A falta de nitrogênio afetou a altura de plantas das três progênes e a produção de matéria seca da parte aérea das progênes ICS6 x SCA6 e PA150 x MA15. Diferenças na expressão de sintomas da doença aparecem em função da falta de nutrientes e do material genético, tendo predominado os sintomas de vassouras terminais na progênie de Catongo e inchaço localizado nas progênes de ICS 6 x SCA6 e PA150 x MA15;

- A falta de nutrientes pode ter provocado uma variação na extensão da hiperplasia nos parênquimas cortical e medular e sistema vascular visualizando-se a presença generalizada de micélio intercelular. O micélio intracelular foi observado somente nos tratamentos sem N, Mg e S;

- A patogênese também pode ter sido alterada pela falta de nutrientes e além de ter sido pela natureza do material genético, sendo o período de incubação de aproximadamente 21 dias para o Catongo, 60 dias para o ICS6 x SCA6 e 30 dias para o PA150 x MA15. Plantas com nutrição equilibrada com macro e micronutrientes apresentaram menos sintomas (Catongo) ou não foram infectadas (ICS6 x SCA6 e PA150 x MA15);

- A infecção reduziu os teores de clorofila da folha, modificou o metabolismo de carboidratos através do aumento no teor da frutose e na progênie tolerante ICS x SCA6 aumentou também o metabolismo de proteína e fenóis. A progênie susceptível, mesmo com nutrição equilibrada, não evidenciou mecanismo para aumentar os teores de proteínas e fenóis totais;

- A extração de nutrientes, variou em função do material genético sendo: $K > N > Ca > Mg > S \geq P$ para Catongo e PA150 x MA15 e $N > K > Ca > Mg > S \geq P$ para ICS6 x SCA6;

- A progênie ICS6 x SCA6 diferenciou-se dos demais por apresentar alto conteúdo de Mn, N, Ca, Fe e B, acredita-se que dentre esses nutrientes o Mn é aquele que mais interfere na tolerância à vassoura-de-bruxa.

**INFLUENCE OF CACAO PLANT MINERAL NUTRITION ON THE
WITCHES' BROOM (*Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer) DISEASE
SYMPTOM MANIFESTATION.**

Author: Luiza Hitomi Igarashi Nakayama

Adviser: Prof. Dr. Antonio Enedi Boaretto

SUMMARY

The witches' broom disease caused by the fungus *Crinipellis perniciosa* is by now a serious problem in the cacao growing region from South Bahia (Brazil). Although the plant resistance to the disease is controlled by genetics plant nutritional conditions may magnify or diminish its symptom presentation. Since nutritional status of a plant may be controlled easily it can be considered a hopeful factor to achieve this disease control. Therefore it is necessary to know which nutrients are related with the pathogenesis process. The objective of this study was to relate the nutritional status of three progenies of cacao plants with the symptoms of witches' broom and identify which nutrients were more related to its damage as well as identify the biochemical protection factors and the pathogens location in the plant tissues. The experiment was conducted in a greenhouse and the considered progenies were: ICS6 x SCA6; PA150 x MA15 and Catongo respectively tolerant, relatively tolerant and susceptible. The plants were cultivated in vases with silica and the method utilized was the diagnosis due to lacking. The experimental design was completely random with 7 main treatments (complete with macro and micro nutrients and diagnosis by lacking from the following nutrients: -N; -P; -K; -Ca; -Mg and -S). Secondary treatments with inoculated and non inoculated with *Crinipellis perniciosa* plants were adopted and 5 replication. Each vase had tree cacao

plants and only one was inoculated at the canopy with a suspension with approximately 330 basidiospore. Branches with and without witches' broom were collected in the field and submitted to chemical analysis. The analysis of the results allowed the following conclusions:

The deficiency of nitrogen affected the high of the plants of the three progenies and the dry matter production from the ICS6 x SCA6 and PA150 x MA15 progenies. Differences in the expression of the symptoms of the disease were related to the deficiency of nutrients and genetic material. The terminal witches' broom symptoms predominated in the Catongo progenies and the localized swelling in the ICS6 x SCA6 and PA150 x MA15.

The deficiency of nutrients may have built a variation in the extension from hyperplasia of the cortical and medular parenchimas and vascular system. The presence of intercellular micelle was generalized. The intracellular micelle was observed only in the N, Mg and S deficiency treatments.

The pathogenesis was affected by the omission of nutrients as well as by the genetic material. The incubation period for the Catongo was of approximately 21 days and 30 days for the ICS6 x SCA6 and PA150 x MA15. Plants with a balanced nutrition of macro and micronutrients showed less symptoms (Catongo) or were not affected (ICS6 x SCA6).

The infection reduced the rate of chlorophyll in the leaves, modified the carbohydrate metabolism due to the increase in the rate of fructose and in the tolerant ICSxSCA6 progeny the metabolism of proteins and total phenols was increased.

The extraction of nutrients varied in relation to the genetic material in the following sequence: $K > N > Ca > Mg > S \geq P$ for Catongo and PA150 x MA15 and $N > K > Ca > Mg > S \geq P$ for ICS6 x SCA6.

The progeny ICS6 x SCA6 discerned from the others due to its high rate of Mn, N, Ca, Fe and B. From these nutrients the Mn is probably the most related to the witches' broom tolerance.

1 - INTRODUÇÃO

O cacaueiro, *Theobroma cacao* L., é uma planta da família das esterculiáceas, nativas das florestas quentes e úmidas das terras baixas do México e da América Central, e das bacias dos rios Amazonas e Orenoco. Essa cultura constituía-se em atividade extrativa nas capitanias do Norte, quando foi introduzido no Sul da Bahia, em 1746, na Fazenda Cubículo, localizada às margens do Rio Pardo, no atual município de Canavieiras, expandindo-se em 1752 para Ilhéus e daí para o Espírito Santo.

Atualmente, a lavoura cacaueira ocupa no Brasil uma área de aproximadamente 830 mil hectares, distribuídos em oito Estados: Acre, Amazonas, Bahia, Espírito Santo, Maranhão, Mato Grosso, Pará e Rondônia. Juntos, apesar das adversidades, produziram 308 mil toneladas na safra 1991/1992, conferindo ao País a condição de segundo produtor Mundial. Na Bahia o cacau é explorado em municípios, onde vivem cerca de três milhões de habitantes, numa área superior a 90 mil km², cabendo-lhe, a posição de maior produtor com cerca de 81,7% da produção nacional, seguido dos Estados de Rondônia, com 7,9%, do Pará com 7,3%, do Espírito Santo, com 2,2% e dos demais, Acre, Amazonas, Maranhão e Mato Grosso, com 0,9%.

Um das doenças que mais afetam a cultura do cacaueiro é a vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer. Sua constatação na região cacaueira do sul da Bahia significa uma ameaça para o futuro desta região, considerando-se que a cacauicultura representa a sua principal atividade econômica.

A vassoura-de-bruxa do cacaueiro é originária e de ocorrência generalizada na Amazônia. Essa enfermidade tem ampla distribuição geográfica, estando presente em quase todos os países produtores de cacau das Américas do Sul e Central, como Bolívia, Equador, Colômbia, Guiana, México, Panamá, Peru, Suriname e Venezuela e nas Ilhas do Caribe (Trinidad Tobago e Grenada). A vassoura-de-bruxa constitui num dos principais fatores limitantes da produção de cacau, pois, além de

provocar grandes perdas pelo ataque direto aos frutos e almofadas florais, produz severos danos à copa da planta, comprometendo dessa forma seu potencial produtivo. Na Amazônia brasileira, essa enfermidade chega a causar perdas estimadas em até 70% na produção de frutos em plantios comerciais.

Até hoje, o controle fitossanitário, que consiste na remoção dos tecidos, frutos e almofadas florais infectados da planta, tem sido o método recomendado para o controle da doença, conseguindo-se manter as perdas na produção ao nível de 5 a 10% quando o tratamento é realizado de forma sistemática.

O desconhecimento de certos aspectos importantes da biologia de *C. pernicioso* e da epidemiologia da enfermidade dificultam o desenvolvimento de novas alternativas de controle químico, biológico e principalmente aquelas que se referem à avaliação e seleção de cultivares resistentes ao patógeno.

O papel da nutrição mineral equilibrada na redução do dano às plantas apresenta-se como uma perspectiva promissora no controle integrado da enfermidade. Os nutrientes minerais exercem importantes funções no metabolismo vegetal, influenciando o crescimento e a produção das plantas, além de aumentar ou reduzir a resistência da mesma a determinados patógenos.

Ainda que a resistência seja geneticamente controlada, ela pode ser influenciada por fatores ambientais. Assim, o estado nutricional é um fator que pode ser manipulado com relativa facilidade e utilizado como um complemento no controle de doenças. Porém, há necessidade de se ter conhecimento detalhado de como os nutrientes atuam no aumento ou diminuição da resistência no processo da patogênese.

Este experimento teve como objetivo:

- a) Relacionar o estado nutricional de três progênies de cacaueiro com o sintomas da doença vassoura-de-bruxa e avaliar os fatores bioquímicos de proteção.
- b) Identificar os nutrientes que mais se relacionam com os danos causados pela vassoura-de-bruxa.
- c) Quantificar o nível de carboidratos, proteínas e fenóis presentes durante a fase de crescimento das plantas sadias e inoculadas.

d) Determinar a capacidade fotossintética dos tecidos de plantas sadias e inoculadas, como forma de suportar seu crescimento e o do patógeno.

e) Avaliar a distribuição e localização do patógeno nos tecidos e as alterações que causam nas estruturas internas de plantas.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Etiologia da Vassoura-de-bruxa

A vassoura-de-bruxa do cacaueiro é causada pelo fungo *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer, da classe basidiomycetes, ordem Agaricales e família Agaricaceae. O patógeno foi inicialmente descrito como *Marasmius perniciosus*, por Stahel, em 1915. Em 1942, Singer fez uma revisão do gênero classificando-o como *Crinipellis perniciosa* (BASTOS, 1990).

A germinação dos esporos é uma das fases mais delicadas para a sobrevivência do patógeno e, portanto, para a continuidade do ciclo de vida. Desenvolve-se influenciado por uma série de fatores, tanto genéticos como ambientais, que governam o processo. Como regra geral, os esporos germinam, formam apressórios, hifas infectivas e penetram no hospedeiro via abertura estomatal (CRONSHAW & EVANS, 1978; SCREENIVASAN & DABYDEEN, 1989; FRIAS & PURDY, 1991) ou através de penetração direta (SCREENIVASAN & DABYDEEN, 1989). Basidiosporos de *C. perniciosa* germinam formando longos tubos germinativos que penetram via estômatos (BAKER & HOLLIDAY, 1957). Os basidiósporos de *C. perniciosa* são conhecidos como os únicos propágulos infectivos desses patógenos, capazes de penetrar nos tecidos meristemáticos (CRONSHAW & EVANS, 1978), provocando sintomas característicos de hipertrofia e hiperplasia, resultante do desequilíbrio hormonal da interação patógeno-hospedeiro, com formação anormal dos brotos vegetativos, flores e frutos.

Os sintomas de proliferação de brotos laterais resultam da quebra da dominância apical do ramo da planta. KRUPASAGAR & SEQUEIRA (1969) demonstraram que *C. perniciosa* produz em meio de cultura diferentes oxidases do ácido-indol-acético, sendo uma peroxidase semelhante à oxidase do ácido-indol-acético e uma polifenoloxidase (lacase). Esse fato também já havia sido demonstrado "in vitro" por

LINDEBERG & MOLIN(1948), com a produção de polifenoloxidase por *C. pernicioso* (*Marasmius pernicioso*) e outras espécies de *Marasmius*.

O ciclo de vida do fungo compreende uma fase parasítica alternada com uma fase saprofítica. PEGUS (1972) postulou a teoria dual e micelial para explicar como *C. pernicioso* existe em diferentes estados miceliais, e que o micélio primário, monocariótico, representa a fase biotrófica, enquanto a fase necrotrófica é induzida pelo micélio secundário. Posteriormente, EVANS & BASTOS (1979), EVANS (1980) e CALLE et al.(1982) demonstraram que o patógeno possui dois micélios distintos, que podem ser separados morfológica, fisiológica e geneticamente em: micélio monocariótico, parasítico, sem grampos de conexão, encontrado somente em tecidos vivos infectados e o micélio dicariótico, saprofítico, com grampo de conexão, encontrado em tecidos mortos e meio de cultura.

O micélio monocariótico da fase parasítica é dependente do tecido vivo do hospedeiro, onde o fungo cresce com a planta e obtém nutrientes das células vivas para sustentar seu crescimento e desenvolvimento. Quando o crescimento da planta é inibido, os nutrientes solúveis podem se tornar limitantes, o que leva o fungo a invadir e matar os tecidos, obtendo seus nutrientes necrotróficamente usando enzimas degradativas típicas de um parasita facultativo (EVANS, 1982).

O micélio do fungo não é infectivo, somente os esporos são capazes de induzir a doença. É através de micélios saprofíticos que o patógeno produz os corpos de frutificação ou basidiocarpos proveniente de tecidos infectados e secos (BASTOS, 1990). No interior dos basidiocarpos são produzidos os basidiósporos hialinos que são liberados e disseminados pelo vento.

O período de incubação é variável dependendo da idade do lançamento vegetativo quando infectado e de sua fase de crescimento após a inoculação. Em geral, em lançamentos e flores os sintomas aparecem de quatro a seis semanas e nos frutos de oito a dez semanas após a inoculação. Após a morte fisiológica das vassouras (quatro a seis semanas após) verifica-se um período de dormência, que varia de quatro a seis meses. Esse período é interrompido no início da estação chuvosa, quando as vassouras

produzem basidiocarpos, iniciando novo ciclo de patogênese (BASTOS & SILVA, 1980; ANDEBRHAN et al. 1983).

2.2. Sintomatologia da doença

O fungo ataca principalmente os tecidos meristemáticos em crescimento, como brotos vegetativos, almofadas florais e frutos, com sintomas de hipertrofia e outras anormalidades (RUDGARD, 1989 ; BASTOS, 1990). Nos lançamentos foliares, os ramos ficam hipertrofiados com proliferação intensa dos brotos laterais, apresentando aspecto típico de uma vassoura. Os ramos infectados tem diâmetro maior que os sadios, com entrenós curtos e folhas geralmente grandes, curvadas e retorcidas.

O vigor da planta e a idade dos lançamentos quando infectados exercem grande influência no tamanho final da vassoura. No início de um lançamento foliar, grandes vassouras podem ser formadas, porém, quando a infecção ocorre em gemas de tecidos envelhecidos, a hipertrofia é menor e pequenas vassouras são formadas (BASTOS, 1990). A infecção de pecíolos ou de pulvinos das folhas produz um inchaço que pode forçar a formação de um ângulo anormal entre sua lâmina e a haste do ramo. A infecção no eixo principal de um ramo nas regiões do nó do internódio produz hipertrofia da área imediatamente envolvida. O tecido hipertrofiado geralmente morre, formando um cancro. Gemas axilares associadas com cancos foliares podem ser estimuladas a produzir brotos hipertrofiados ou vassouras axilares. A infecção numa gema apical ativa, durante o crescimento inicial ou nos tecidos recém-desenvolvidos, dá lugar à formação de brotos hipertrofiados ou vassouras terminais (ANDEBRHAN et al. 1983 ; RUDGARD, 1989).

Posteriormente, as vassouras vegetativas e de almofada floral, após formadas secam e morrem, adquirindo coloração marrom-escura (vassouras secas ou necróticas) (BASTOS & SILVA, 1980).

2.3. Histopatologia da parte aérea

As observações histopatológicas são úteis para analisar a penetração, colonização, desenvolvimento e distribuição do fungo nos tecidos, as alterações decorrentes da infecção e compreender os possíveis mecanismos de resistência.

Em se tratando de fase de penetração, ficou esclarecido que o patógeno entra na folha por penetração direta e pelos estômatos, em ambos os casos a penetração se dá de forma simples ou múltipla de tubo germinativo (SREENIVASAN & DABYDEEN, 1989) provocando hiperplasia e hipertrofia das células na região subepidermal com a presença de hifas intercelulares (DABYDEEN & SREENIVASAN, 1989). Plantas em estágio inicial ou médio de infecção apresentam micélio intercelulares na região do córtex (CALLE et al. 1982 ; ORCHARD & HARDWICK, 1988) ou preferencialmente nos tecidos do córtex e da medula do caule (MACHADO, 1991). Em estágio avançado da infecção aparecem áreas necróticas, hifas intracelulares com grampos de conexão, localizadas na grande área do cortex e tecidos do floema e xilema (ORCHARD & HARDWICK, 1988) ou em toda a área do cortex, raio medular, floema e parênquima medular (CALLE et al. 1982). Em clones susceptíveis, os sintomas foram caracterizados por hiperplasia no córtex e no tecido vascular e hipertrofia no córtex e floema secundário; em clones resistentes e moderadamente resistentes os sintomas foram mínimos (LAKER et al. 1991).

2.4. Funções dos Nutrientes na planta

Os nutrientes minerais exercem importantes funções no metabolismo vegetal, influenciando o crescimento e a produção das plantas, além de favorecerem ou não a resistência da mesma a determinados patógenos.

O nitrogênio é absorvido pelas plantas preferencialmente nas formas de nitrato (NO_3^-) e de amônio (NH_4^+). Essas formas químicas devem sofrer um processo de redução (redução assimilatória do nitrato) para ser incorporadas aos compostos

orgânicos de carbono, tais como os diversos aminoácidos formadores de proteínas, enzimas e coenzimas.

Nas plantas, cerca de 85% do nitrogênio estão na forma proteica, 10% como ácidos maleicos e 5% como aminoácidos solúveis (MENGEL & KIRBY, 1982). Além dessa função na formação de proteínas, o nitrogênio é integrante da molécula de clorofila.

As plantas absorvem o fósforo preferencialmente como ânion H_2PO_4^- e em menor taxa como HPO_4^{2-} . O fósforo tem importante função nas plantas como constituinte de compostos armazenadores de alta energia, como o ATP (trifosfato de adenosina). É através da utilização dessa energia, que a semente germina, a planta efetua a fotossíntese, absorve de forma ativa os nutrientes do solo e sintetiza vários compostos orgânicos. Os primeiros compostos orgânicos formados com o fósforo dentro da planta são as fosfohexoses e o difosfato de uridina, que são precursores do ATP (MALAVOLTA, 1980).

O fósforo é rapidamente translocado dentro das plantas e pode mover-se dos tecidos mais velhos para os mais novos sob condições de reduzida disponibilidade no solo. Devido à alta mobilidade de fósforo na planta, o sintoma de deficiência aparece inicialmente nas folhas mais velhas, e é caracterizado pela coloração verde escuro azulado. A coloração púrpura aparece devido ao decréscimo da síntese de proteína quando o fósforo está deficiente. Disso resulta o aumento da quantidade de açúcares nos órgãos vegetativos da planta. A alta concentração de açúcares favorece a síntese de antocianina nas folhas que produz aquela coloração (MENGEL & KIRBY, 1982).

O potássio é absorvido como cátion monovalente (K^+) presente na solução do solo. Na planta, o potássio possui várias funções fisiológicas que vão desde a ação sobre o metabolismo e a formação de carboidratos; a quebra e a translocação de amido; a atuação sobre o metabolismo do nitrogênio e a síntese de proteína; o controle e regulação da atividade de vários nutrientes; ativador de enzimas, promotor de crescimento de tecidos meristemáticos e o ajuste da relação entre o movimento estomatal e a água (MALAVOLTA, 1980).

As plantas absorvem o cálcio na forma iônica Ca^{2+} . Apesar de haver maior concentração de cálcio do que de potássio na solução do solo (cerca de 10 vezes), a sua taxa de absorção em relação à de outros nutrientes catiônicos é menor, em virtude da sua absorção ocorrer somente em pontas de raízes novas, nas quais as paredes celulares da endoderme ainda não estão suberizadas (MENGEL & KIRKBY (1982); TISDALE et al., 1985).

Na planta, o cálcio sofre transporte ascendente pelo fluxo de massa, que depende da taxa de transpiração. Sua redistribuição através do floema de tecido velho é dificultada pela formação de compostos de baixa solubilidade, como fosfatos, pectatos e oxalatos.

Nos livros de MALAVOLTA (1980), MENGEL & KIRKBY (1982), TISDALE et al. (1985) e MARSCHNER (1986) são apresentadas as diversas funções do cálcio na planta. Sua importância está na elongação e divisão celular. Por esta razão, a sua deficiência no solo pode causar desde o bronzeamento até a morte gradual das pontas das raízes. A permeabilidade da membrana e a manutenção da integridade celular dependem também de uma adequada concentração de cálcio nos tecidos, assim como o crescimento do grão de pólen, sua germinação e o crescimento do tubo polínico. No processo metabólico, o cálcio afeta a atividade de hormônios e de enzimas, como os que regulam a senescência e a abscisão das folhas e frutos.

O magnésio é absorvido pela planta na forma de Mg^{2+} . Sua taxa de absorção pode ser bastante reduzida por outros cátions como K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Mn^{2+} , assim como pelo H^+ . Geralmente, o magnésio é absorvido pelas plantas em menores quantidades do que Ca^{2+} ou K^+ , com a sua concentração não ultrapassando 0,5% da matéria seca dos tecidos vegetais (MENGEL & KIRKBY, 1982). O Mg sofre competição com outros cátions como NH_4^+ , Ca^{2+} e K^+ , o que pode levar ao aparecimento da sua deficiência. Ao contrário do Ca^{2+} , o Mg^{2+} é muito móvel no floema e, portanto, redistribui-se facilmente das folhas e tecidos mais velhos para regiões de maior exigência, como os meristemas e os órgãos de reserva. As plantas deficientes de magnésio

apresentam decréscimo de N-protéico e aumento de N-mineral. Isto possibilita inferir que a deficiência de magnésio inibe a síntese de proteínas.

O enxofre é normalmente absorvido pelas plantas na forma inorgânica de SO_4^{2-} . A assimilação do enxofre assemelha-se bastante à do nitrogênio, ou seja, há necessidade de sua redução para que seja incorporado aos aminoácidos, que posteriormente farão parte de proteínas e coenzimas e de outros compostos. Entretanto, o íon sulfato também pode ser incorporado à estrutura orgânico sem a redução, tal como os sulfolípidios ou polissacarídeos. O enxofre é um dos constituintes dos aminoácidos essenciais cisteína e metionina (MENGEL & KIRKBY, 1982) e, desta forma, em condições de deficiência de enxofre, a inibição da síntese de proteína está inversamente correlacionada com o acúmulo de N-orgânico solúvel e de nitrato (MARSCHNER, 1986). Por outro lado, a deficiência de enxofre provoca aumento na teor de amido nas folhas (MARSCHNER, 1986). Em folhas verdes, a maioria das proteínas está localizada nos cloroplastos e as moléculas da clorofila contém grupos prostéticos. Portanto, plantas deficientes em enxofre apresentam menor teor de clorofila e consequentemente uma coloração verde pálida.

Em solução do solo com pH inferior a 7,0 o boro está presente na forma não dissociado e é nessa forma de ácido que a planta absorve o nutriente. Entretanto, não são bem conhecidos os detalhes do processo de absorção. Além do cálcio, o boro apresenta baixa mobilidade dentro do floema, pois forma complexos de baixa solubilidade e, portanto de difícil redistribuição das folhas mais maduras para os pontos de maior exigência, como os tecidos meristemáticos.

Segundo MALAVOLTA (1980), as plantas necessitam de boro para muitos processos de crescimento, especialmente para os seguintes: alongamento e divisão celular e metabolismo do ácido nucléico; germinação do pólen e crescimento do tubo polínico; síntese de aminoácidos e proteínas, e transporte interno de açúcares, amido, nitrogênio e fósforo.

O cobre é absorvido pelas plantas na forma de Cu^{2+} . Há evidência de que sua absorção seja inibida pela absorção de zinco e vice-versa (MENGEL &

KIRKBY, 1982). O cobre na planta concentra-se nos cloroplastos (70% do total), sendo ativador de diversas enzimas. A redistribuição do cobre na planta depende da sua concentração. Assim, em plantas bem nutridas este elemento apresenta maior mobilidade das folhas para as sementes, enquanto que em plantas carentes apresenta menor mobilidade.

O ferro é absorvido pelas raízes das plantas como cátion divalente ou como quelados, praticamente nenhuma absorção da forma trivalente devido à baixa solubilidade deste último em pH normal dos solos. A disponibilidade de ferro inorgânico parece ser dependente da capacidade das raízes em abaixar o pH, o que poderia reduzir o Fe^{3+} para Fe^{2+} . Essa habilidade varia inter e intra espécies ou mesmo variedades. A forma Fe^{2+} é móvel e fácil de ser incorporada à estrutura bimolecular (TISDALE et al. 1985). Este elemento apresenta baixa mobilidade entre os diferentes órgãos da planta. Assim, plantas deficientes apresentam os primeiros sintomas visuais, como clorose, em folhas mais novas, enquanto as maduras permanecem verdes. As principais funções do ferro na planta estão relacionadas à formação de complexos (estrutural) e a transferência de elétrons (ativador de enzimas).

As formas de manganês mais importante na nutrição das plantas são as da solução do solo (Mn^{2+}). O manganês é absorvido predominantemente como Mn^{2+} , tendo o magnésio como seu competidor. A sua mobilidade na planta é considerada intermediária.

Entre as funções do manganês na planta, é mais conhecida a sua participação na fotossíntese, particularmente na evolução do oxigênio. Também atua no processo de oxidação, nas reações de descarboxilação e hidrólise e na síntese de proteínas.

Embora, o molibdênio seja um metal, ele ocorre na solução do solo como um oxi-ânion na forma de molibdato MoO_4^{2-} , na valência mais alta (MARSCHENER, 1986), e é absorvido pelas plantas como MoO_4^{2-} . Apresenta moderada mobilidade dentro da planta, e sua concentração, baseada em tecidos seco, é inferior a 1,0 ppm. Este elemento é essencial em qualquer família vegetal por fazer parte da enzima redutase do

nitrato, que reduz o NO_3^- absorvido pelas plantas a NO_2^- , o qual posteriormente é reduzido a NH_3 para ser incorporado aos compostos orgânicos. Dessa forma, plantas deficientes em molibdênio apresentam relativo maior acúmulo de NO_3^- e menor acúmulo de compostos amino solúveis.

A baixo valor de pH, o zinco é absorvido predominantemente como Zn^{2+} , enquanto a alto valor imagina-se que seja absorvido na forma monovalente como ZnOH^+ (MARSCHNER, 1986).

A mobilidade do zinco na planta é moderada (MENGEL & KIRKBY, 1982). Observa-se um acúmulo desse nutriente nos tecidos das raízes particularmente quando suprido em grande quantidade. Em folhas maduras e mais velhas, o zinco torna-se praticamente imóvel, não ocorrendo sua redistribuição para os tecidos em crescimento e de maior exigência funcional.

Embora não apresente função estrutural, ele participa como ativador de diversas enzimas como desidrogenase, aldolases, isomerases, transfosforilases e polimerases de DNA e RNA e nas sínteses de proteínas. O ácido indol acético (AIA), um hormônio de crescimento vegetal, necessita de zinco, pois o seu precursor, o triptofano requer na sua síntese esse nutriente. Os internódios curtos das plantas deficientes em zinco são, portanto, consequência da menor síntese do AIA.

2.5. Relação entre nutrientes minerais e doenças de plantas.

No que diz respeito ao cacaueteiro, não existe nenhum estudo realizado com a finalidade de relacionar o estado nutricional da planta com a incidência vassoura-de-bruxa. Mas sabe-se que para outras culturas, o nitrogênio é essencial para a produção de aminoácidos, proteínas, hormônios, fitoalexinas e fenóis (HUBER, 1989). Em níveis altos, promove crescimento vigoroso, podendo prolongar o estágio vegetativo e ou retardar a maturidade da planta, criando condições favoráveis ao ataque de patógenos. Por outro lado, plantas cultivadas em condições de deficiência de nitrogênio, crescem lentamente e tornam-se susceptíveis a patógenos.

A forma na qual nitrogênio (amônio ou nitrato) está disponível para o hospedeiro ou patógeno, afeta mais a resistência ou severidade à doença que a quantidade do elemento (AGRIOS, 1980). Para HUBER & WATSON (1974), a redução de doenças pelas formas de nitrogênio, resulta da sua influência em rotas metabólicas diferentes, alterando o crescimento de constituintes da planta ou exudatos.

O fósforo, apesar de estar envolvido em processos metabólicos e na formação de uma série de compostos bio-orgânicos de vital importância para as plantas, sua ação na resistência às doenças é variável e parece não ser muito evidente (KIRALY, 1976).

O potássio aumenta a resistência da planta independentemente da fase em que se encontra o ciclo dos parasitas (MARSCHNER, 1986). Entretanto, na maioria dos casos, o efeito do potássio está restrito à faixa de deficiência do elemento, isto é, plantas deficientes em potássio são mais susceptíveis do que plantas com níveis suficientes de potássio (HUBER & ARNY, 1985). A elevada susceptibilidade de plantas deficientes em potássio a certas doenças estão relacionadas com as funções metabólicas desse elemento. Em plantas deficientes, a síntese de compostos de alto peso molecular (proteínas, amido e celulose) é diminuída, enquanto compostos orgânicos de baixo peso molecular (açúcar e aminoácidos) acumulam-se. Aumentos do nível de K na planta, além do ótimo, não causam efeitos substanciais nos constituintes orgânicos e nem na resistência à doenças.

Segundo MARSCHNER (1986), o cálcio é essencial para a estabilidade das biomembranas. O conteúdo de cálcio nos tecidos das plantas afeta a incidência de doenças parasíticas de duas formas: na primeira, quando os níveis de cálcio são baixos, o fluxo de compostos de baixo peso molecular (açúcares) do citoplasma para o apoplasto é aumentado ; na segunda, poligalacturonatos de cálcio são requeridos na lamela média, para que haja estabilidade da parede celular. Muitos fungos e bactérias fitopatogênicos alcançam o tecido da planta pela produção de enzimas pectolíticas extracelulares, como a galacturonase, que dissolvem a lamela média. A atividade desta enzima é drasticamente inibida pela presença do cálcio.

O efeito do enxofre e do magnésio na incidência de doenças de plantas é pouco conhecido (HUBER, 1989). O cobre pode induzir resistência à planta devido ao

aumento da síntese de peróxidos, compostos fenólicos e quinonas, tendo todas propriedades bactericidas.

O ferro pode atuar na ativação de enzimas necessárias para a síntese de compostos antifúngicos, sendo, portanto, essencial para a síntese de fitoalexinas e indução de resistência à doenças.

O manganês é um elemento importante no controle das doenças das plantas (HUBER, 1989), podendo ter um efeito direto na patogênese, atuando como um inibidor da exoenzima pectolítica e proteolítica. Alta concentração de Mn inibe, por competição, a absorção de Fe e a sua translocação, sendo esse elemento responsável pela ativação de enzimas envolvidas na redução de N-NO_3 , metabolismo dos carboidratos e respiração. O teor de Mn é normalmente baixo nos tecidos susceptíveis em comparação com tecidos resistentes, mas aumenta em áreas localizadas próximo aos pontos de infecção.

2.6. Compostos orgânicos em plantas.

Tem-se sugerido que os tecidos jovens de cacaueiro possuem substâncias que estimulam o crescimento do fungo em sua fase parasítica (EVANS, 1982). Essas substâncias, entretanto, ainda não foram identificadas. Existem, entretanto, resultados que evidenciam mudanças ou aumentos nos níveis de açúcares nos tecidos infectados (ORCHARD & HARDWICH, 1988). Assim, os dados preliminares obtidos por MACHADO (1991) indicam que o fungo *C. perniciosus* induz, após a infecção, acumulação de proteínas solúveis e modifica o metabolismo de carboidratos nos tecidos do cacaueiro. Parece que esta modificação induz a produção de açúcares específicos, que são utilizados como fontes de carbono na nutrição do fungo. Posteriormente MACHADO et al. (1991) observaram que inicialmente a sacarose acumula-se nos tecidos infectados e é transformada em hexoses e ou utilizada para manter o crescimento excessivo do tecido, consequentemente, não permitindo a armazenagem do amido nas células.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local

O experimento foi desenvolvido em condições de casa de vegetação. As plantas de cacau foram cultivadas em vasos de barro contendo sílica grossa como substrato.

3.2. Planta

3.2.1. Casa-de-vegetação

Foram utilizadas sementes de três genótipos procedentes do banco de germoplasma, do Centro de Pesquisa do Cacau (CEPEC/CEPLAC) que foram obtidos através de cruzamentos de polinização controlada, correspondendo as seguintes progênes : ISC6 x SCA6 ; PA150 x MA15 e Catongo, considerados respectivamente, tolerante, medianamente tolerante e susceptível à vassoura-de-bruxa.

3.2.2. Campo

Coletaram-se ramos vegetativos, com e sem sintomas de vassoura-de-bruxa de quatro genótipos de cacauero, das áreas do banco de germoplasma e de produção de sementes do CEPEC, correspondendo a dois clones PA150 e SCA6, respectivamente de tolerância média e tolerante e de duas progênes: Catongo e SCA 6 x ICS 1 (Theobahia), consideradas susceptível e tolerante à vassoura-de-bruxa.

Foram coletadas a 2ª. e 3ª. folhas recém amadurecida de ramos com e sem vassouras. De cada genótipo e de cada tipo de ramos foram coletados 15 folhas para formar uma amostra composta simples e submetidas à análise química de compostos

(proteína e fenol), para os quatro genótipos e química (teor de macro e micronutrientes) somente para o SCA 6 x ICS 1.

3.3. Tratamentos

Os três híbridos de cacaueiro foram submetidos a omissão de macronutrientes, utilizando a solução nutritiva N° 1 de HOAGLAND & ARNON (1950), modificada para micronutrientes, tendo os seguintes tratamentos:

- 1 - Completo
- 2 - Com omissão de N (-N)
- 3 - Com omissão de P (-P)
- 4 - Com omissão de K (-K)
- 5 - Com omissão de Ca (-Ca)
- 6 - Com omissão de Mg (-Mg)
- 7 - Com omissão de S (-S)

Os nutrientes foram aplicados, utilizando-se as soluções estoque de trabalho apresentadas nas Tabelas 1 e 2.

**Tabela 1 - Composição e quantidade das soluções nutritivas
(ml/l de solução de estoque de trabalho)**

Reagente Analítico	Tratamento						
Solução Estoque	Completo ¹	-N	-P	-K	-Ca	-Mg	-S
KH_2PO_4 . mol.L ⁻¹	1	0	0	0	1	1	1
KNO_3 . mol.L ⁻¹	5	0	6	0	5	5	5
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. mol.L ⁻¹	5	0	4	5	0	5	4
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. mol.L ⁻¹	2	2	2	2	2	0	0
K_2SO_4 0,5. mol.L ⁻¹	0	4	0	0	0	3	0
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4) \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,5. mol.L ⁻¹	0	10	0	10	0	0	0
$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,01. mol.L ⁻¹	0	100	0	0	0	0	0
$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.mol.L ⁻¹	0	0	0	0	0	0	2
Sol. Micronutrientes ²	1	1	1	1	1	1	1
Sol. Fe - EDTA ²	1	1	1	1	1	1	1

¹ mg de nutriente/l de solução nutritiva (N 210; P 31; K 234; Ca 200; Mg 48 e S 64).

² Informações na Tabela 2.

Tabela 2 - Composição das Soluções nutritivas de Micronutrientes

Reagente Analítico	Quantidade de elemento (mg/l)	
	Original	Modificada
H ₃ BO ₃	0.5	0.2
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0.02	0.2
H MoO ₄ . H ₂ O	0.01	0.06
MnCl ₂ . 4H ₂ O	0.5	0.5
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0.05	0.38
Solução de Fe-EDTA ¹	5	5

¹ mg de nutrientes/l de solução nutritiva (S 3; Na 6)

3.4. Delineamento Experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com parcelas subdivididas, para cada progênie, sendo constituídas por 7 tratamentos principais (completo, com macro e micronutrientes e diagnose por subtração dos macronutrientes: -N; -P; -K; -Ca; -Mg e -S) e tratamentos secundários constituídos de plantas inoculadas e não inoculadas com suspensão de basidiosporos e cinco repetições.

3.5. Obtenção e Desenvolvimento das Plantas

3.5.1. Germinação das Sementes

As sementes de cada progênie foram postas para germinar em bandejas de plástico individualizadas, contendo areia lavada, regadas com água destilada. As plântulas foram transplantadas na fase de abertura dos cotilédones para vasos contendo 3,0 litros de sílica grossa lavada. Cada vaso recebeu duas plântulas de cacau.

3.5.2. Sistema e Recipientes utilizados

Vasos de barro de 5,0 litros de capacidade foram perfurados, próximo à base, e pintados internamente com tinta neutrox. Na perfuração de cada vaso foi conectado um segmento de mangueira de plástico, flexível e transparente ligando o interior do vaso com a boca de uma garrafa de vidro escuro de 1,0 litro de capacidade,

colocada em nível inferior ao do vaso. As soluções nutritivas recolhidas nas garrafas foram retornadas aos vasos duas vezes ao dia e trocadas semanalmente.

3.5.3. Aclimação e Soluções

Inicialmente as plântulas foram aclimatadas por um período de aproximadamente 56 dias, em soluções com diferentes diluições (Tabela 3), como forma de obter material vegetal da parte aérea. Após esse período, as plantas foram submetidas aos tratamentos de omissão dos respectivos macronutrientes, mantendo a solução nutritiva de macronutrientes diluída a 1/2 da concentração original, acrescida da solução modificada de micronutrientes, até a manifestação dos sintomas de deficiência dos elementos omitidos. No período inicial da manifestação dos sintomas, as plantas foram inoculadas com suspensões de basidiosporos.

Tabela 3 - Sequência de Aclimação das Plantas de cacaueteiro

Período em dias	Sistema de Condução de Plantas
1° ao 14°	Água destilada
14° ao 21°	Solução completa diluída à 1/10 da concentração original
21° ao 42°	Solução completa diluída à 1/5 da concentração original
42° ao 77°	Solução completa para macronutrientes diluída à ½ da concentração original e solução de micronutrientes na concentração original
77° ao 91°	Solução completa para macronutrientes diluída à ½ da concentração original e solução de micronutrientes modificados
91° ao 98°	Aplicação dos tratamentos com omissão mantendo a diluição dos macronutriente e solução de micronutrientes modificado
98° ao 119°	Manifestação dos sintomas de deficiências, inoculação e manutenção das soluções
119° ao 185°	Manifestação dos sintomas da doença, manutenção das soluções e colheita

3.6. Técnica de Inoculação

3.6.1. Obtenção do Inóculo

Induziu-se a formação de basidiocarpos em vassouras secas, incubando-as em câmaras plásticas transparentes (vassoureiros) onde as vassouras penduradas individualmente com fio de nylon foram submetida a um regime alternado de irrigação e seca por um período de 12 horas cada (ROCHA & WHEELER, 1985). Os basidiocarpos produzidos foram coletados destacando-se a estipe com uma pinça e fixando o píleo nos pontos contendo vaselina neutra, adicionada na tampa interna de placas de Petri de 60mm x 15mm, dispondo-se de três basidiocarpos por placa (EVANS, 1978).

O substrato para a liberação dos basidiosporos a partir dos basidiocarpos foi composto de 3,0 ml de ágar-água à 0,29%. A placa de Petri foi colocado num ambiente arejado com temperatura de aproximadamente 25°C, por um período de 3 horas, de forma a obter o máximo de liberação de basidiosporos. Após a liberação dos basidiosporos, o meio foi transferido para um becker de 100ml contendo 20ml de meio ágar-água à 0,29%, sendo em seguida homogeneizado com bastão de vidro. O número de basidiosporos foi calculado com o auxílio de um hemocitômetro. O becker com a suspensão foi acondicionado em caixa de isopor com tampa, contendo cubos de gelo de forma a inibir a germinação dos basidiosporos.

3.6.2. Inoculação

As plantas de cacaueteiro tiveram os ápices terminais ou lançamentos novos protegidos com chumaço de algodão umedecido com água destilada, deionizada e estéril, de forma a assegurar o umedecimento nestes pontos de inoculação. Posteriormente, com auxílio de micropipetas, foram depositados 30µl da suspensão de *C. perniciosus*, contendo aproximadamente 330 basidiosporos, sobre os tecidos do ápice, incluindo a superfície das folhas novas e pecíolos, durante o início do período noturno, de forma a propiciar melhor a infecção. Posteriormente, o local da inoculação de cada planta foi marcado com fitilho de plástico para observar as possíveis modificações fenológicas.

3.7. Colheita

O experimento foi colhido cento e oitenta e cinco dias após o transplante das plântulas de cacauzeiro das bandejas de areia para os vasos. Após o corte de cada planta na altura do colo, a parte aérea (folha e caule) foi cortada novamente abaixo do ponto de inoculação e colocada separadamente em sacos de papel. Após a separação da parte aérea, denominou-se a parte contendo o ponto de inoculação de médio apical e a outra parte de médio basal.

3.8. Avaliação das Variáveis

3.8.1. Altura de Planta

A tomada da altura de planta foi realizada partindo-se do nó cotiledonar do caule até o ápice terminal da planta, em duas épocas, as que antecederam a inoculação e a colheita.

3.8.2. Análise Química de compostos da parte aérea da planta

3.8.2.1. Extração e Determinação de açúcares, fenóis e clorofila

Na extração etanólica, 2g de seções de tecidos de folhas e caules frescas foram colocados em 20ml de etanol 80% fervente e mantido durante 5 minutos na mesma temperatura. Em seguida o material foi homogeneizado no ultraturrax por 2 minutos, à velocidade máxima, e submetido à nova extração no mesmo etanol por mais 5 minutos sob fervura. A suspensão foi então filtrada em papel Whatman nº 1, e os filtrados evaporados em cápsula de porcelana e retomados em água destilada, na concentração calculada por grama de matéria fresca (MF) de folhas/ml. Posteriormente, os extratos foram submetidos a testes de açúcares, visando determinar o conteúdo de glicose através do método de Somogyi-Nelson (NELSON, 1944; SOMOGYI, 1952), açúcares redutores segundo método de Somogyi (SOMOGYI, 1945, 1952), teste de fenóis segundo método de SWAIN & HILLIS (1959), além do teste de clorofila segundo método de MCKINNEY (1941). As amostras foram analisadas em duplicatas. A expressão do

resultado final foi dado em mg de equivalentes de glicose, frutose, sacarose, ácido clorogênico, clorofila a, clorofila b e clorofila total por grama de matéria fresca de tecido foliar.

3.8.2.2. Extração e Determinação de Proteínas

As amostras de folhas coletadas no campo foram pesadas nas quantidades de 2g de matéria fresca de tecido foliar e suspensas em 20ml de solução tampão fosfato 0,1mol L⁻¹ pH 6,5 + 0,25% de ácido ascórbico. O material foi triturado em almofariz em banho de gelo e deixado por 30 minutos na geladeira. Após a decantação, o sobrenadante foi retirado cuidadosamente e submetido à análise de proteínas pelo método de LOWRY et al. (1951). O resultado foi apresentado em mg de equivalentes de soro albumina bovina (SAB) por ml, utilizando curvas padrões de SAB.

3.8.3. Análise Histopatológica da Parte Aérea

Efetuaram-se cortes finos, à mão, de 5mm de espessura, utilizando lâmina de aço inox, nos caules de plantas sadias e inoculadas, no sentido transversal, e cada círculo do ramo foi cortado ao meio para facilitar a inclusão. Os fragmentos foram fixados em glutaraldeído a 5% tamponado com fosfato de sódio 0,2mol L⁻¹, em pH 7,2 durante 2 a 4 horas (LEDBETTER & GUNNING, 1963). Após esse período foram lavados na solução tampão durante 2 horas.

A seguir, os espécimens foram fixados durante 2-4 horas a 4°C com tetróxido de ósmio a 2%, lavados durante 5 minutos por três vezes em solução NaCl 9%, pré-corados com acetato de uranila 2,5%, pernoite a 4°C (WATSON, 1958), desidratados gradualmente em série cetônica (25-50-75-100%) e finalmente em óxido de propileno a 100%. A inclusão em Epon 812 foi realizada gradativamente, com óxido de propileno (50% de resina e 50% de óxido de propileno; 75% de resina e 25% de óxido de propileno) e resina pura durante os períodos de 3,5 ; 3,5 e 12 horas. Posteriormente, a resina foi polimerizada em estufa a 70°C durante 16 horas.

Os cortes semi-finos foram feitos em ultramicrotomo equipado com navalha de vidro, secos sobre chapa aquecida, coloridos com azul de toluidina à 1% em solução de bórax à 1% e examinada ao microscópio de luz transmitida.

3.8.4. Sintomas Visuais de Deficiências de Nutrientes e Incidência da Doença

Os sintomas visuais de deficiências nutricionais foram descritos e fotografados. Os sintomas da doença foram avaliados quanto a hipertrofia e tipos de vassouras (RUDGARD, 1989) e ao período de manifestação em cada progênie.

3.8.5. Peso e Análise Química da Parte Aérea da Planta.

A parte aérea da planta, etiquetada e acondicionada em saco de papel, foi colocada em estufa a 60°C com circulação de ar forçada, até atingir peso constante e pesada.

Posteriormente, cada amostra da matéria seca da parte aérea foi moída em moinho tipo Willey e pesada, submetidas a digestão e quantificação segundo a metodologia descrita por MALAVOLTA et al. (1989).

Para determinação de N, o material vegetal foi submetido a digestão sulfúrica e destilação em microdestilador Kjeldahl. Para o B o material foi digerido pelo processo de incineração em meio alcalino e submetido à determinação colorimétrica pela Azometina H. Para os demais elementos a digestão realizada foi a nitro-perclórica por via úmida, sendo o P determinado por colorimetria do metavanadato, o K pela fotometria de chama, o S por turbidimetria do sulfato de bário e os demais elementos como Ca, Mg, Cu, Fe, Mn e Zn por espectrofotometria de absorção atômica.

3.8.6. Análises Estatísticas

Os dados foram submetidos a análises da variância segundo o delineamento inteiramente casualizado com parcelas subdivididas, sem transformações

nas variáveis. A comparação das médias entre os tratamentos foi realizada com o teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. A análise estatística foi realizada no microcomputador utilizando-se do programa SANEST.

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

4.1. Ensaio em Solução Nutritiva

4.1.1. Altura das Plantas

Dados da primeira avaliação de altura das plantas, efetuada logo após o aparecimento de sintomas de deficiências nutricionais e antes da inoculação, indicaram para cada progênie, homogeneidade no desenvolvimento, independentemente dos tratamentos com e sem omissão de macronutrientes (Tabela 4).

Sessenta e cinco dias após a inoculação, observou-se que as plantas da progênie de Catongo submetidas aos tratamentos com omissão de fósforo, potássio e enxofre apresentaram maior desenvolvimento e diferiram significativamente do tratamento com omissão de nitrogênio. A infecção não alterou a altura das plantas.

As plantas da progênie de ICS6 x SCA6 pertencentes ao tratamento completo apresentaram melhor desenvolvimento e diferiram significativamente do tratamento sem nitrogênio. Plantas sadias e infectadas não tiveram modificações na altura.

Quanto a progênie de PA150 x MA15, as plantas do tratamento completo, com omissão de fósforo e enxofre tiveram a maior altura e diferiram significativamente do tratamento com omissão de nitrogênio. Nesta, as plantas infectadas apresentaram significativamente maior desenvolvimento que as plantas sadias (Tabela 4).

Os dados da Tabela 4, indicam que o nitrogênio é o elemento que mais afetou a altura de plantas das três progênies de cacaueiro. O fraco desenvolvimento das plantas é devido ao baixo suprimento de N que diminui a divisão e a expansão celular (HEWIT & SMITH, 1975), sendo esse elemento um constituinte de todas as proteínas e ácidos nucleicos da planta, sendo portanto essencial para o crescimento.

Tabela 4 - Altura de planta de três progênes de cacaueiro obtidos no período que antecede a inoculação e colheita das plantas (médias de 4 repetições)

Tratamento	Catongo		PA150 x MA15		ICS6 x SCA6	
	AI	PI	AI	PI	AI	PI
	----- cm -----					
Completo	16,6	43,6ab	20,4	51,7a	23,6	63,3a
-N	18,7	28,7c	22,0	29,5b	20,6	40,8c
-P	17,2	46,7a	18,8	56,5a	26,7	51,4abc
-K	19,1	54,2a	23,0	41,6ab	21,5	61,2ab
-Ca	19,8	34,3bc	22,6	41,9ab	22,6	60,6ab
-Mg	18,1	45,1ab	19,2	43,3ab	22,9	45,6bc
-S	19,5	54,2a	23,4	54,9a	24,0	59,6ab
Ftratamento	2,51 ^{ns}	19,63**	1,05 ^{ns}	6,89**	1,16 ^{ns}	7,72**
d.m.s. (5%)	3,81	10,92	9,65	18,31	9,25	16,03
C.V. (%)	9	11	19	18	17	13
Não inoculada	18,2	43,1	22,3	42,6b	23,9	52,3
Inoculada	18,6	44,5	20,4	48,6a	22,3	57,0
Ffitossanidade	0,50 ^{ns}	1,00 ^{ns}	1,14 ^{ns}	10,36**	2,36 ^{ns}	3,72 ^{ns}
d.m.s. (5%)	1,17	2,86	3,63	3,80	2,17	4,96
C.V. (%)	12	13	34	17	19	18

AI = Antes da inoculação

PI = Posterior à inoculação

Médias seguidas da mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

4.1.2. Peso da Matéria Seca da Parte Aérea

Através da Tabela 5, observa-se que a maior produção de matéria seca da parte aérea do Catongo foi no tratamento sem magnésio que diferiu significativamente dos demais tratamentos. As plantas infectadas apresentaram maior produção de matéria seca da parte aérea do que as plantas sadias, provavelmente, em virtude da infecção ter causado engrossamento do caule, do pecíolo, das nervuras da lâmina foliar e de brotações laterais.

Dados da progênie de ICS6 x SCA6, indicam que o tratamento completo propiciou a maior produção de matéria seca da parte aérea diferindo significativamente dos tratamentos com omissão de P, K e Mg, tendo estes por sua vez significativamente maior produção que o tratamento com omissão de nitrogênio. A produção de matéria

seca total da parte aérea da planta infectada foi significativamente maior que das plantas sadias.

Quanto a progênie de PA150 x MA15, obteve-se a maior produção de matéria seca na parte aérea nos tratamentos completo, com omissão de P, K, Mg e S que diferenciaram significativamente dos tratamentos com omissão de N e Ca. Não houve diferença na produção de matéria seca da parte aérea das plantas sadias e infectadas. Os dados de produção das três progênes sugerem que a de ICS6 x SCA6 tem maior potencial de resposta, seguido a de PA150 x MA15 com comportamento intermediário e último a de Catongo, que praticamente não expressou potencial de produção frente ao tratamento completo, sentindo a falta dos macronutrientes (N, P, K, Ca e S). Para as outras duas progênes, o nitrogênio foi o elemento que mais limitou a produção.

Tabela 5 - Peso da matéria seca da parte aérea das três progênes de cacaueteiro, obtidas dos tratamentos de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos (médias de 4 repetições)

Tratamento	Catongo	PA150 x MA15	ICS6 x SCA6
	g / planta		
Completo	13,6b	18,8a	27,9a
-N	11,1b	9,9b	11,8c
-P	10,9b	15,7a	19,6b
-K	13,9b	18,4a	19,0b
-Ca	11,3b	10,0b	16,6bc
-Mg	18,1a	18,4a	19,1b
-S	14,0b	18,4a	17,1bc
Ftratamento	12,02**	11,19**	13,69**
d.m.s. (5%)	3,42	5,60	6,07
C.V. (%)	11	15	14
Não inoculada	11,1b	15,1	16,6b
Inoculada	15,4a	16,2	20,8a
Ffitossanidade	38,59**	1,52 ^{ns}	10,34**
d.m.s. (5%)	1,45	2,00	2,72
C.V. (%)	19	23	26

Médias seguidas da mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

4.1.3. Sintomas Visuais de Deficiência de Nutrientes e da Doença

Os sintomas de deficiência de macronutrientes observados aplica-se para as três progênes utilizadas. Já a descrição da doença refere-se principalmente a progênie de Catongo.

Plantas do tratamento completo apresentaram folhas alternadas de tamanho e cor normal sem desenvolvimento de deficiência de nutrientes, caule verde bem desenvolvido com internódios espaçados e lançamento apical normal. Nas plantas inoculadas, somente em uma planta apresentou inchamento nítido na base do pecíolo e de forma leve no caule próximo ao local de inoculação.

Nitrogênio- inicialmente, nas folhas velhas (Fig. 1), as nervuras principais e secundárias bem como a nervura do bordo que margeiam a folha apresentam coloração amarelada com fundo verde escuro, a seguir, a coloração amarelada ocupou toda a superfície da folha, excetuando as nervuras terciárias e quaternárias; posteriormente as nervuras primárias e secundárias adquiriram a coloração alaranjada com o fundo amarelado e as nervuras terciárias e quaternárias a cor verde claro, finalmente as nervuras primárias e secundárias bem como os bordos e o ápice das folhas tornam-se necrosadas e toda a lâmina foliar fica com coloração amarela opaco.

Nas plantas infectadas, houve pouco crescimento da parte apical e paralização da emissão de folhas novas, e enquanto as existentes ficaram retorcidas no sentido anti-horário, com redução da lâmina foliar e apresentaram aspecto coriáceo e duro, com os pecíolos inchados na porção basal. O ramo terminal ficou inchado com internódios curtos e sem estípula e posteriormente hipertrofiado formando vassoura terminal de coloração marron (Fig. 2). Em média, as vassouras vegetativas tiveram 9,5 cm de comprimento indicando pouco crescimento, apesar de ter sido inoculado um lançamento foliar jovem. Assim, plantas carentes em N, provavelmente formarão vassouras hipertrofiadas e pequenas. A omissão de N, diminui a divisão e a expansão celular e consequentemente reduz o tamanho das partes morfológicas da planta (HEWITT & SMITH, 1975). Prolonga a dormência de gemas e também a expansão de gemas laterais e apicais (BOULD et al. 1983).

Figura 1. Sintomas de deficiência de N em folhas de cacauero.

Figura 2. Sintomas de vassoura-de-bruxa em plantas submetidas ao tratamento com omissão de N

Fósforo- nas folhas velhas, as nervuras primárias, secundárias e terciárias apresentaram coloração verde escura com reticulado fino na superfície foliar; segue as nervuras primárias e secundárias adquiriram coloração amarelada, que evoluiu posteriormente na nervura primária para coloração alaranjada intensa, enquanto que as secundárias e terciárias mantiveram-se amareladas com fundo reticulado verde claro, e finalmente no estágio mais avançado tornaram-se verde amarelo-marrom opaco (Fig. 3).

As partes aéreas das plantas infectadas cresceram além do normal, principalmente no local próximo à inoculação, formando ramo inchado de forma irregular e retorcido de cor verde, com estípula e internódio mais curto próximo do ápice, inchaço irregular ao longo do pecíolo das folhas; lâmina foliar torcida na base no sentido anti-horário, devido ao inchaço das nervuras secundárias, dando aspecto de folha murcha, essas folhas apresentaram redução no tamanho e coloração verde claro com nervuras secundárias salientes e mais escura. Houve formação de vassoura terminal (Fig. 4). O crescimento acentuado da parte infectada (23 cm) deve-se em parte a alta mobilidade do fósforo na planta, sendo translocado rapidamente do tecido mais velho para o mais novo. Entretanto, plantas com deficiência de P tem o seu crescimento retardado, por ter vários processos afetados como a síntese protéica e de ácidos nucleicos (MENGEL & KIRKBY, 1982).

Potássio- inicialmente, nas folhas velhas, as nervuras primárias e secundárias apresentaram coloração amarelada com fundo da lâmina verde escuro, posteriormente evoluindo para uma coloração amarelo alaranjado claro e para amarelo alaranjado mais intenso e finalmente tornam-se necrosadas com o fundo foliar reticulado de coloração verde amarelado levemente brilhante (Fig. 5). Este sintoma se aproxima muito daquele descrito por CABALA-ROSAND et al. (1988), entretanto, não observou a necrose das bordas em V invertido.

Os sintomas nas plantas infectadas se assemelham ao das plantas infectadas no tratamento com omissão de fósforo. Sendo o potássio ativador de numerosas enzimas, sua deficiência acarreta distúrbios em reações metabólicas de acumulação de compostos nitrogenados livres ou solúveis (EPSTEIN, 1975) e de acumulação de carboidratos solúveis, açúcares redutores (EATON, 1952). O K tem

Figura 3. Sintomas de deficiência de P em folhas de cacaueiro.

Figura 4. Sintomas de vassoura-de-bruxa em plantas submetidas ao tratamento com omissão de P.

Figura 5. Sintomas de deficiência de K em folhas de cacaueiro.

Figura 6. Sintomas de vassoura-de-bruxa em plantas submetidas ao tratamento com omissão de K.

também papel essencial no turgor e alongamento do caule, agindo sinergicamente com o ácido giberílico (DELLA GUARDIA & BENLLOCH, 1980). Essas funções do potássio podem auxiliar no melhor entendimento da sintomatologia da doença, bem como no alongamento das vassouras vegetativas (22,5cm).

Cálcio- As folhas novas possuem nervuras secundárias salientes e ápice foliar recurvado para baixo, ocorrendo abortamento dos folíolos novos (Fig. 7). O cálcio é essencial para a permeabilidade das membranas e manutenção da integridade celular. A falta de Ca é caracterizada pela redução no crescimento de tecidos meristemáticos, sendo observada primeiro, nas extremidades em crescimento e folhas mais jovens (MENGEL & KIRKBY, 1982).

As plantas infectadas apresentaram inchaço e engrossamento irregular no ápice do caule, com estípulas e internódios curtos e abortamento das folhas novas, também as remanescentes são pequenas e retorcidas com o ápice necrosado ou não, voltadas para a face adaxial da folha. Os lançamentos hipertrofiados apresentaram vassouras terminais típicas (Fig. 8). Em tecidos de plantas carentes, deste elemento, ocorreram acúmulos de substâncias de cor marrom nos espaços intercelulares e nos tecidos vasculares, podendo afetar o mecanismo de transporte de nutrientes (BUSSLER, 1963). Estes compostos resultam da oxidação de polifenóis, os quais são inibidos pela quelatação deste com o cálcio (MENGEL & KIRKBY, 1982).

Magnésio- Nas folhas velhas, as nervuras primárias e secundárias apresentaram coloração verde escuro com fundo reticulado verde claro, evoluindo para um reticulado mais intenso, verde amarelado e brilhante (Fig. 9). O magnésio é muito móvel no floema e, portanto, redistribui-se facilmente das folhas e tecidos mais velhos para regiões de maiores exigências, como os meristemas e os órgãos de reserva (EPSTEIN, 1975). As plantas deficientes em magnésio apresentam decréscimo de N-protéico e aumento de N-mineral inferindo-se por isso que a deficiência de Mg inibe a síntese de proteínas.

As plantas infectadas apresentaram ramos de coloração verde escuro para marrom, inchados e retorcidos na proximidade do ápice com ponto escuro e internódio curto; pecíolo inchado na porção basal e mediana, lâmina foliar reduzida e anormal,

Figura 7.Sintomas de deficiência de Ca em folhas de cacaueiro.

Figura 8.Sintomas de vassoura-de-bruxa em plantas submetidas ao tratamento com omissão de Ca.

Figura 9. Sintomas de deficiência de Mg em folhas de cacauero.

Figura 10. Sintomas de vassoura-de-bruxa em plantas submetidas ao tratamento com omissão de Mg.

abortamento de algumas folhas novas; formação de brotos axilares ou vassouras axilares, e associados a esses apareceram ramos hipertrofiados ou vassouras terminais (Fig. 10).

Enxofre- Nas folhas velhas, aproximadamente na seção mediana para a base da folha, as nervuras primárias, secundárias e as nervuras do bordo foliar apresentaram coloração amarelada, enquanto que as nervuras terciárias são verdes escuro com fundo reticulado de coloração amarelado, posteriormente evoluindo para a necrose. Da seção mediana para o ápice da folha, as nervuras primárias, secundárias e os bordos laterais apresentam coloração alaranjada, com fundo verde mais escuro em forma de reticulado brilhante, segue-se que no final do sintoma, todas as nervuras, bem como a superfície foliar, apresentaram-se necrosadas (Fig. 11). Na última fase os sintomas assemelharam-se ao que foi descrito por CABALA-ROSAND et al. (1988). As folhas novas apresentaram coloração verde pálida, quase totalmente desprovida de pigmento. O enxofre, ainda que não seja um constituinte da clorofila, parece estar associado a este pigmento. Sendo por outro lado, o enxofre é um dos constituintes dos aminoácidos essenciais como a cisteína e a metionina (MENGEL & KIRKBY, 1982) e em condições de deficiência, a inibição da síntese de proteína está inversamente correlacionada com o acúmulo de N-orgânico solúvel e de nitrato (MARSCHNER, 1986). A similaridade entre a deficiência de enxofre e nitrogênio na planta tem levado a concluir que ambos desempenham papel paralelo na síntese de proteínas e clorofilas.

As plantas infectadas tiveram crescimento acentuado e apresentaram inchaço e engrossamento irregular no ápice do caule; com estípulas e internódios curtos; com formação de várias gemas axilares ou vassouras axilares; abortamento de algumas folhas novas; inchaço no pecíolo e folhas novas de tamanho reduzido e com sintomas de deficiência de enxofre ou totalmente deformadas e enroladas com nervuras salientes (Fig. 12).

4.1.4. Testes de Patogenicidade

O aparecimento dos sintomas da doença na progênie de Catongo ocorreu a partir de vinte e um dias após a inoculação em todos os tratamentos, surgindo um

Figura 11. Sintomas de deficiência de S em folhas de cacaueiro.

Figura 12. Sintomas de vassoura-de-bruxa em plantas submetidas ao tratamento com omissão de S.

inchaço do ramo e do pecíolo de uma ou várias folhas, até a caracterização das vassouras (Tabela 6) as plantas permaneceram em cultivo por sessenta e cinco dias após à inoculação. A progênie de Catongo, susceptível a vassoura-de-bruxa, apresentou o maior número de plantas com sintomas (Tabela 7), principalmente, vassoura terminal quando submetidas aos tratamentos de omissão de macronutrientes, excetuando a planta do tratamento completo (Tabelas 6 e 7) apresentou apenas um inchaço próximo ao local de inoculação.

Tabela 6 - Tipos de sintomas observados nas três progênes de cacauero inoculadas com *C. pernicioso*.

Sintomas	Progênie de Catongo						
	C	-N	-P	-K	-Ca	-Mg	-S
Leve inchaço no pecíolo							
Pecíolo inchado e torção							
Leve inchaço no caule							
Leve inchaço no caule e no pecíolo	+						
Inchaço no caule, no pecíolo e torção		+	+	+	+		
Inchaço no caule, pecíolo, torção e brotos						+	+
Sintomas	Progênie de ICS6 x SCA6						
	C	-N	-P	-K	-Ca	-Mg	-S
Leve inchaço no pecíolo						+	
Pecíolo inchado e torção							
Leve inchaço no caule					+		
Leve inchaço no caule e no pecíolo							
Inchaço no caule, no pecíolo e torção							
Inchaço no caule, pecíolo, torção e brotos							
Sintomas	Progênie de PA150 x MA15						
	C	-N	-P	-K	-Ca	-Mg	-S
Leve inchaço no pecíolo		+			+	+	+
Pecíolo inchado e torção				+		+	
Leve inchaço no caule					+		
Leve inchaço no caule e no pecíolo							
Inchaço no caule, no pecíolo e torção							
Inchaço no caule, pecíolo, torção e brotos							

Na progênie de ICS6 x SCA6, considerada tolerante à vassoura-de-bruxa, os sintomas da doença, desenvolveram-se lentamente, e somente foram notadas, a partir de sessenta dias após a inoculação, com leve inchaço no pecíolo e/ou no ramo (Tabela 6) e teve número variável de plantas doentes (Tabela 7). Nesse caso, vale ressaltar que

houve maior número de plantas com sintomas (três) no tratamento carente de cálcio. Para MARSCHNER (1986) muitos fungos fitopatogênicos alcançam o tecido de planta pela produção de enzimas pectolíticas extracelulares, como a galacturonase, que desestabiliza a parede da lamela média, quando o nível de cálcio é baixo. Os sintomas surgem nas proximidades do ponto de inoculação e aí permanecem e são caracterizados pelo inchaço no eixo e ou pecíolo, mas a parte mediana do ramo e os ápices de crescimento apresentam-se normais.

Tabela 7 - Número de plantas com sintomas de vassoura-de-bruxa encontradas nas três progênes de cacauero

Tratamento	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 5	Total
----- Catongo -----						
C	+	-	-	-	-	1
-N	-	+	+	+	+	4
-P	-	+	-	-	+	2
-K	+	-	+	+	+	4
-Ca	+	-	+	-	+	3
-Mg	+	+	-	+	+	4
-S	+	+	-	+	+	4
Tratamento	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 5	Total
----- ICS6 x SCA6 -----						
C	-	-	-	-	-	0
-N	+	-	-	-	-	1
-P	-	-	-	-	-	0
-K	-	-	-	+	+	2
-Ca	+	-	+	+	-	3
-Mg	-	+	-	-	-	1
-S	+	-	-	-	-	1
Tratamento	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3	Rep. 4	Rep. 5	Total
----- PA150 x MA15 -----						
C	-	-	-	-	-	0
-N	+	-	-	-	-	1
-P	-	-	-	-	-	0
-K	+	-	-	-	-	1
-Ca	+	-	+	-	-	1
-Mg	-	+	+	-	+	3
-S	-	+	-	-	-	1

(+) Sintomas observados; (-) Sintomas não observados

Na progênie de PA150 x MA15, de tolerância intermediária à vassoura-de-bruxa, o aparecimento dos sintomas ocorreu a partir de 30 dias após a inoculação das plantas, havendo inchamento do pecíolo e ou dos ramos (Tabela 6). Os sintomas, também, se localizaram nas proximidades do ponto de inoculação. LAKER et al. (1991), observaram que o período de incubação e o tipo de sintoma apresentados varia com a resistência do genótipo. As plantas das progênies de ICS6 x SCA6 e PA150 x MA15, submetidas aos tratamentos completo e com omissão de fósforo não apresentaram sintomas de infecção. Dos resultados obtidos pode-se inferir que as observações de LAKER et al. (1991) estão corretas e que também são influenciadas pelo estado nutricional das plantas hospedeiras do fungo. No entanto, o número de plantas inoculadas foi muito pequeno para que se possa fazer esta afirmação.

4.1.5. Observações Histopatológicas

Seções de caules das três progênies foram preparadas para cortes semi-finos e examinadas. As observações descritas referem-se somente para a progênie de Catongo que possibilitou a caracterização dos sintomas e interpretação dos resultados.

Aparentemente, nas seções das plantas infectadas do tratamento completo, não foram detectadas estruturas fúngicas, observou-se diferenças anatômicas quanto a amplitude das camadas, sendo maior na camada medular, vindo em seguida o sistema vascular e posteriormente o parênquima cortical. Por outro lado, as plantas sadias, apresentavam amplo parênquima cortical, seguido do parênquima medular contendo muitas células com grãos de amido e do sistema vascular com fibras típicas.

Nas seções das plantas infectadas e carentes em nitrogênio (Fig. 13), observaram-se muitas células necrosadas localizadas no parênquima cortical, sistema vascular e parênquima medular, há um intenso aparecimento de hifas nessas estruturas distribuídas inter e intracelularmente, sendo visíveis a olho nú o escurecimento das células dos tecidos condutores e de sustentação. Nessa condição foi possível observar hifas no interior das células, também observadas por CALLE et al. (1982); ORCHARD & HARDWICK, (1988). Nas regiões de contato da hifa com a parede das células do

hospedeiro, ocorre um escurecimento e ou espessamento da parede celular deste último, provavelmente como forma de reação.

Nas seções de plantas infectadas e carentes em fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, verificou-se a distribuição abundante de hifas em todos os tecidos do caule; entretanto, no tratamento com omissão fósforo (Fig. 14), potássio (Fig. 15) e cálcio (Fig. 16) parece haver um predomínio das hifas entre as células, distribuídas nas regiões do parênquima medular, sistema vascular e parênquima medular, respectivamente. Não foi observado células necrosadas nesses tratamentos.

No tratamento com omissão de potássio, em virtude da invasão final, ocorreu aumento no parênquima cortical e medular e sistema vascular do caule, enquanto que na omissão de fósforo, houve principalmente aumento no parênquima medular e presença de células com poucos grãos de amido. Sugere-se que na omissão do nutriente, existe uma variação na extensão da hiperplasia referente as regiões do caule do Catongo. Já as observações realizadas por LAKER et al. (1991) indicam que a hiperplasia no córtex e tecido vascular são manifestações típicas do efeito da doença em genótipo susceptível.

Na omissão de magnésio, a ocorrência de hifas se deu principalmente no parênquima cortical seguido do sistema vascular. O contato da hifa com a parede da célula provoca um escurecimento e ou espessamento da parede e halo de escurecimento no interior da célula, quando as hifas estão localizadas respectivamente inter e intracelularmente (Fig. 17).

Nas seções de planta infectadas, do tratamento com omissão de enxofre, as hifas intercelulares ocuparam amplamente todas as regiões do caule, com células necróticas no sistema vascular e presença de hifas intracelulares na região do sistema vascular do xilema e parênquima medular (Fig. 18). O escurecimento e subsequente necrose das células nos tecidos infectados de material susceptível são respostas prováveis de hipersensibilidade. Provavelmente, este hospedeiro reage ao suprimento nutricional pela invasão do fungo e estimula a produção de metabólitos fungitóxicos que interferem no desenvolvimento e crescimento hifal (LAKER et al. 1991).

Figura 13. Fotomicrografia de caule de cacaueiro submetida ao tratamento com omissão de N (400x) (células necrosadas e estruturas fúngicas.)

Figura 14. Fotomicrografia de caule de cacaueiro submetida ao tratamento com omissão P (400x) (estruturas fúngicas.)

Figura 15. Fotomicrografia de caule de cacaueiro submetida ao tratamento com omissão K (200x) (estruturas fúngicas.)

Figura 16. Fotomicrografia de caule de cacaueiro submetida ao tratamento com omissão Ca (200x) (estruturas fúngicas.)

Figura 17. Fotomicrografia de caule de cacaueiro submetida ao tratamento com omissão de Mg (400x) (células necrosadas e estruturas fúngicas.)

Figura 18. Fotomicrografia de caule de cacaueiro submetida ao tratamento com omissão de S (200x) (células necrosadas e estruturas fúngicas.)

4.1.6. Fator Fisiológico

As plantas infectadas de todos os tratamentos, exceto o de omissão de cálcio, tiveram os teores de clorofila **b**, **a** e total reduzidos no extrato foliar (Fig. 19). A magnitude de queda nos teores de clorofila se deve em grande parte ao efeito da doença, sendo drástico nos tratamentos com omissão de enxofre, fósforo, potássio, magnésio e nitrogênio, cujas folhas da parte aérea apical apresentaram-se com clorose generalizada ou na forma de clorose internerval, ambos os sintomas associadas à vassoura terminal. Ainda que não seja um constituinte da clorofila, o enxofre parece estar associado com este pigmento, onde aproximadamente 70% deste elemento está contidos nos aminoácidos dos cloroplastos. A similaridade entre a deficiência de S e N na planta tem levado a conclusão que estes elementos desempenham papel paralelo na síntese de clorofila e proteína (MILLER et al. 1986). A queda nos teores de clorofila **a** foi proporcionalmente mais acentuada do que a clorofila **b**, entretanto, os dois pigmentos são importantes para o processo de absorção e transferência da energia radiante que resulta num aumento da eficiência da fotossíntese e consequentemente na biossíntese de compostos (MAGALHÃES, 1979). Observa-se também que, a falta de nitrogênio e magnésio em plantas sadias acarreta um baixo teor da clorofila **a** e total, pois ambos elementos participam na constituição estrutural da clorofila (LEHNINGER, 1976). Plantas infectadas carentes em cálcio possuem maiores teores de clorofila **b**, **a** e total do que plantas sadias, chegando a ser duplicado o teor de clorofila **b**.

De maneira geral, plantas infectadas da progênie de ICS6 x SCA6 apresentaram teor de clorofila total menor ou igual ao das plantas sadias, excetuando o tratamento com omissão de potássio (Fig. 20). Cálcio, nitrogênio e potássio são os elementos que mais interferiram diminuindo os teores de clorofila na planta sadia. As duas progênies em estudo apresentaram teor de clorofila **a** maior que a clorofila **b**. ORCHARD & HARDWICK (1988) observaram que a atividade fotossintética das folhas infectadas reduziu-se em até 40% nas infecções graves e ocorrendo ainda senescência prematura e queda das folhas. A redução da atividade fotossintética esteve associada a níveis baixos de clorofila nas folhas de plantas com vassoura.

Figura 19. Teores de clorofila total, clorofila a e b encontrados nos extratos de folhas de Catongo

Figura 20. Teores de clorofila total, clorofila a e b encontrados nos extratos de folhas da progênie de ICS6 x SCA6.

4.1.7. Compostos Químicos

Através da quantificação de açúcares (Fig.21), verificou-se aumento de glicose (tratamentos com omissão de P e Mg), de frutose (tratamentos completo, com omissão de N, de P e de K) e sacarose (tratamentos completos, com omissão de N, P, K e Mg). A alteração no metabolismo de carboidrato foi encontrado por ORCHARD & HARDWICK (1988), cujo nível de açúcar redutor foi significativamente mais alto no tecido infectado do que no sadio sendo o nível de sacarose mais baixo em tecidos infectados, especialmente em estágio avançado da doença.

Observou-se nas plantas infectadas, um aumento de glicose livre, somente no tratamento completo. Isto indica que para a progênie susceptível como o Catongo em estágio avançado da doença, não existe alimento direto para o fungo, apesar de haver, um aumento substancial de frutose livre e de sacarose, podendo, este último ser convertido a hexoses para posterior utilização pelo hospedeiro e ou patógeno. Nos tratamentos carentes em N, P, K, Ca e S observou-se um aumento de glicose livre nas plantas sadias, provavelmente oriundo do desequilíbrio de nutrientes provenientes do próprio elemento faltante. A falta de Mg, tanto na planta sadia como na infectada, induz um teor menor de glicose livre. Além da fotossíntese, o Mg participa no metabolismo da glicose, e também em outras funções de síntese de carboidratos, proteínas, lipídios e vitaminas.

A avaliação realizada na progênie de ICS6 x SCA6, através da quantificação de açúcares, verificou-se um aumento de frutose e glicose livre, respectivamente, nas plantas inoculadas dos tratamentos carentes em P, K, Ca e S e nos tratamentos com omissão N e K. De maneira geral, as plantas infectadas das duas progênies conseguem manter teor maior de frutose livre. (Fig. 22). Parece haver uma interação ocasionada pelos tratamentos aplicados e a necessidade do fungo, e outra na modificação do metabolismo de açúcar nos tecidos da planta. Resultados obtidos por ORCHARD & HARDWICK (1988), comprovaram que infecções mais graves, provocaram queda na translocação de carboidratos das folhas mais velhas, em direção as folhas novas em brotação na própria vassoura. Os mesmos autores, usando elemento marcado, comprovaram também que o fungo não interfere no movimento preferencial do carboidrato da parte sadia da planta em direção a vassoura.

Figura 21. Teores totais de açúcares redutores, glicose e sacarose encontrados nos extrato de caule do Catongo.

Figura 22. Teores totais de açúcares redutores, glicose e sacarose encontrados nos extratos de caule da progênie de ICS6 x SCA6.

O teor de glicose livre em plantas infectadas da progênie de ICS6 x SCA6 e carentes em N, P e K tendem a ser maior que o completo, enquanto que a omissão de Ca, Mg e S houve diminuição no teor de glicose em quase 40% em relação ao completo. Para a progênie de Catongo a omissão de N, P, K, Ca e Mg diminui o teor deste açúcar. Dessa forma, há necessidade de recompor esse nutrientes às plantas a fim de manter ativo o metabolismo de carboidratos.

No Catongo, em virtude da manifestação da doença, houve falta de material vegetal fresco para proceder a análise de proteína.

A Figura 23, mostra o teor de proteína total extraído de folhas da progênie de ICS6 x SCA6. Observa-se maior acúmulo de proteína total somente no tecido infectado do tratamento completo. Esses dados sugerem que, provavelmente, ocorreu resposta metabólica defensiva do tecido hospedeiro ao ataque do patógeno, indicando a formação de proteínas relacionadas com o desenvolvimento da patogênese (PR-proteínas) conforme proposto por LINTHORST (1991). Trabalhando com extratos de fluido apoplástico e da mucilagem de cacaueiro, MACHADO (1991) obteve nestes maior teor de proteína solúvel nos tecidos infectados que nos tecidos sadios.

Dentre os macronutrientes estudados, os dados indicam que a omissão de Mg, S e P diminuem o teor de proteína total tanto em plantas sadias como nas infectadas.

As quantidades de fenóis contidos no extrato de folhas do Catongo indicam, de maneira geral, que nas plantas infectadas os teores são mais baixos que nas plantas sadias, com exceção do tratamento com omissão de Mg e P que apresentaram maior quantidade de fenóis nas plantas infectadas (Fig.24). REYES & REYES (1968) trabalhando com *Ceratocystis fimbriata* em cacaueiro observaram que em híbrido susceptível há tendência de desaparecimento de certos compostos fenólicos em virtude de uma provável oxidação pelo patógeno ou pela atividade acentuada da polifenol-oxidase do hospedeiro.

Em relação às plantas do tratamento completo, observa-se, também, menor quantidade de fenóis tanto nas plantas sadias como nas plantas infectadas e carentes em P, S e K (Fig. 24). A falta de N e Ca promove um maior acúmulo de fenóis no extrato de folhas de plantas sadias.

A determinação de fenóis foi realizada no caule da progênie de ICS6 x SCA6, devido ao aparecimento de sintoma. De maneira geral, observa-se através da Figura 25, maior conteúdo de fenóis nos extratos de caule de plantas infectada, excetuando aquelas dos tratamentos carentes em cálcio e magnésio. Há um menor conteúdo de fenóis no extrato de plantas infectadas sem cálcio, sendo também, esse tratamento o que apresentou maior número de plantas com sintomas da doença. Os resultados obtidos com Catongo e ICS6 x SCA6 indicam que apesar das plantas conterem a informação genética para o mecanismo global de defesa, a diferença entre ser susceptível e resistente, é devida a velocidade e magnitude com que a codificação é expressa (KUC, 1987).

4.1.8. Absorção de Nutrientes

Analisando os efeitos dos tratamentos completo e com omissão de macronutrientes (Tabela 8), observa-se que a omissão de N ou de Ca diminui de forma significativa o conteúdo de N e Ca na parte aérea médio apical do Catongo. Nos demais tratamentos, cada elemento omitido, como no caso de P e K teve o seu conteúdo diminuído. Não há diferença nos conteúdos de P, K e S para plantas sadias ou infectadas, enquanto que os conteúdos de N e Ca nas plantas infectadas são significativamente maiores que nas plantas sadias, e o conteúdo de Mg é maior na planta sadia em relação à planta infectada. Esses dados mostram uma relação direta entre o conteúdo e mobilidade de nutrientes na planta com o sintoma da doença observada.

O tratamento com omissão de enxofre apresenta maior conteúdo de B e na falta de Mg há um aumento significativo nos conteúdos de Cu e Mn. O conteúdo de B é maior na planta sadia, o contrário é observado para o conteúdo de Fe (Tabela 9).

De maneira geral os conteúdos de N e K são menores na parte médio basal da planta, os conteúdos tem valores próximos nas duas partes da planta para P, Mg e S e apresenta maior conteúdo de Ca na parte médio basal, indicando o comportamento dos nutrientes quanto ao local de acúmulo, devido à sua mobilidade na planta (Tabela 10).

O conteúdo de B, Cu, Fe e Mn. na parte aérea da planta na porção apical encontra-se na Tabela 11.

Figura 23. Teor de proteína total encontrado no extrato de folha da progênie ISC6 x SCA6.

Figura 24. Teor de fenóis encontrado no extrato de folhas do Catongo.

Figura 25. Teor de fenóis encontrado no extrato de caule da progênie de ISC6 x SCA6.

Observando as quantidades extraídas de macronutrientes, o cacaueteiro requer para o seu desenvolvimento: de $K > N > Ca > Mg$, e estes resultados, de certa forma, discorda com os de THONG & NG (1978) que obtiveram quantidades absorvidas aproximadamente iguais para K, N e Ca. Na omissão de Mg houve maior acúmulo de K, N e Ca na planta (Fig. 26) e maior produção de matéria seca da parte aérea (Tabela 4). A explicação pode ser dada pelo trabalho de VESK et al. (1966), que mostraram maior acúmulo de amido em cloroplasto deficientes em Mg, sendo portanto, a principal causa no aumento da matéria seca.

A omissão de Mg promoveu, também, maior acúmulo de Mn na parte aérea do Catongo (Fig. 27) e observa-se que no tratamento completo e nos demais tratamentos com omissão de nutrientes, as quantidades absorvidas de Mn é praticamente constante nesta progênie.

Os dados da Tabela 12, mostram que a falta de um nutriente tem o seu próprio conteúdo diminuído de forma significativa. Na progênie de ICS6 x SCA6, o conteúdo de N e Ca são maiores nas plantas sadias do que nas infectadas. Já os conteúdos de P, K, Mg e S não são influenciados pelo estado fitossanitário das plantas. Dentre os micronutrientes, o manganês é o que apresenta maior conteúdo na parte aérea da progênie de ICS6 x SCA6 e esse valor constitui-se em quase o dobro do conteúdo quando comparado com o do Catongo na porção apical (Tabela 13) e na porção basal (Tabela 15). As plantas sadias apresentam maior conteúdo de B, Fe e Mn que as infectadas.

De maneira geral na parte aérea da planta há maior conteúdo de P, Ca e Mg na porção média basal (Tabela 14) em comparação à porção média apical da planta e não há diferença de conteúdo de macronutrientes nas plantas sadias e infectadas. A progênie de ICS6 x SCA6, em relação as duas progênies utilizadas, extrai maiores quantidades de N, K, Ca e Mg (Fig. 28) e Mn e Fe (Fig. 29). Dentre os nutrientes estudados a omissão de N é o que mais suprime a absorção dos macro e micronutrientes enquanto que a omissão de Ca afeta somente a absorção de B, Fe, Mn e Zn.

Tabela 8 - Teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, da parte aérea médio-apical da progênie de Catongo, submetida a omissão de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições).

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	S
	g/kg					
Completo	21,0ab	2,5a	21,1ab	9,2a	3,5a	1,2
-N	14,7c	1,9bc	18,4b	5,7bc	3,2ab	1,2
-P	19,7ab	1,6c	24,6ab	7,5ab	2,7ab	1,1
-K	19,6ab	2,0abc	9,8c	9,3a	2,8ab	1,1
-Ca	15,2c	1,7bc	21,5ab	3,0c	2,3b	1,1
-Mg	18,1b	2,3ab	26,9a	10,6a	3,1ab	1,2
-S	21,6a	2,3ab	26,9a	10,2a	3,2ab	1,1
Ftratamento	15,82**	4,95**	9,25**	12,77**	2,53*	0,98 ^{ns}
d.m.s. (5%)	0,29	0,06	0,84	0,33	0,10	0,03
C.V. (%)	6	12	16	17	14	12
Sadia	18,0b	2,0	22,2	7,1b	3,4a	1,1
Infectada	19,1a	2,1	20,5	8,8a	2,5b	1,1
Ffitossanidade	11,94**	0,16 ^{ns}	1,88 ^{ns}	9,18**	11,17**	0,26 ^{ns}
d.m.s. (5%)	0,07	0,03	0,26	0,11	0,05	0,01
C.V. (%)	5	20	19	21	28	17

Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 9 - Teores de boro, cobre, ferro, manganês e zinco, da parte aérea médio-apical da progênie de Catongo submetida a omissão de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições).

Tratamento	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	mg/kg				
Completo	22b	2,7cd	50	61c	21
-N	23b	2,8cd	50	95b	27
-P	27ab	4,3ab	57	99b	24
-K	26ab	3,7abc	51	77bc	20
-Ca	27ab	1,7d	41	72bc	17
-Mg	30ab	4,8a	55	140a	24
-S	35a	2,3cd	41	91b	21
Ftratamento	3,84**	9,64**	1,72 ^{ns}	11,16**	1,83 ^{ns}
d.m.s. (5%)	9,63	1,56	20,66	32,91	10,79
C.V. (%)	14	20	17	15	19
Sadia	30a	3,4	44b	93	23
Infectada	25b	3,0	54a	88	21
Ffitossanidade	5,93*	2,00 ^{ns}	6,48*	0,82 ^{ns}	3,86 ^{ns}
d.m.s. (5%)	4,69	0,57	8,37	10,79	2,23
C.V. (%)	26	27	25	18	15

Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 10 - Teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, da parte aérea médio-basal da progênie de Catongo, submetida a omissão de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições).

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	S
	----- g/kg -----					
Completo	15,8ab	2,5a	15,3ab	14,3ab	4,1a	1,2
-N	10,3c	2,0ab	12,1bc	5,9d	2,7ab	1,0
-P	16,2ab	1,7b	18,6a	8,4c	3,6a	1,1
-K	16,0ab	2,5a	7,7c	13,2b	2,7ab	1,2
-Ca	13,3bc	1,9ab	14,9ab	5,9d	3,1ab	1,2
-Mg	14,1abc	2,3ab	19,9a	16,4a	1,6b	1,1
-S	17,3a	2,3ab	15,8ab	12,7b	3,4a	1,1
Ftratamento	5,92**	2,71*	15,66**	55,9**	4,05**	0,82 ^{ns}
d.m.s. (5%)	0,39	0,07	0,61	0,24	0,17	0,03
C.V. (%)	11	15	12	9	22	12
Sadia	14,9	2,1	15,8	11,7	3,0	1,1
Infectada	14,5	2,2	13,9	10,3	3,1	1,1
Ffitossanidade	0,40 ^{ns}	1,14 ^{ns}	3,78 ^{ns}	2,37 ^{ns}	0,04 ^{ns}	3,03 ^{ns}
d.m.s. (5%)	0,13	0,02	0,20	0,18	0,06	0,01
C.V. (%)	13	16	21	25	31	8

Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferiu entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 11 - Teores de boro, cobre, ferro, manganês e zinco, da parte aérea médio-basal da progênie de Catongo submetida a omissão de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições).

Tratamento	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	----- mg/kg -----				
Completo	29ab	5a	54	76c	21
-N	23b	3b	50	123abc	25
-P	26b	4,5a	67	100bc	23
-K	28ab	4,2ab	61	97bc	23
-Ca	27b	4,0ab	50	95bc	19
-Mg	30ab	4,0ab	62	154a	22
-S	38a	3,5ab	45	102bc	17
Ftratamento	3,54**	3,69**	2,28 ^{ns}	11,63**	1,67 ^{ns}
d.m.s. (5%)	10,52	1,38	22,19	31,52	8,72
C.V. (%)	15	14	16	12	16
Sadia	30	4,7a	50	108	21
Infectada	27	3,4b	61	105	22
Ffitossanidade	2,33 ^{ns}	46,11**	7,02 ^{ns}	0,11 ^{ns}	0,88 ^{ns}
d.m.s. (5%)	4,47	0,42	9,32	18,82	18
C.V. (%)	23	16	25	27	2,61

Médias seguidos de mesma letra, na vertical, não diferiu entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Figura 26. Acúmulo de N,P,K,Ca,Mg e S na parte aérea do Catongo.

Figura 27. Acúmulo de B,Fe,Mn e Zn na parte aérea do Catongo.

Figura 28. Acúmulo de N,P,K,Ca,Mg e S na parte aérea da progênie de ICS 6 x SCA6.

Figura 29. Acúmulo de B,Fe,Mn e Zn na parte aérea da progênie de ICS6 x SCA6.

Tabela 12 - Teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, da parte aérea médio-apical da progênie de ICS6 x SCA6, submetida a omissão de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições).

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	S
	g/kg					
Completo	20,3a	2,0ab	19,5ab	8,5ab	2,8	1,7a
-N	13,2b	2,2ab	13,6bc	4,7bc	3,0	1,4ab
-P	20,3a	1,2c	20,4ab	5,8bc	2,6	1,3ab
-K	18,4a	1,8b	9,3c	10,8a	3,2	1,4ab
-Ca	20,7a	1,8b	21,9a	10,2a	2,5	1,1b
-Mg	18,3a	2,4a	20,8a	4,3c	2,6	1,3ab
-S	20,3a	2,0ab	23,1a	10,0a	2,8	1,2ab
Ftratamento	4,27**	10,65**	9,63**	4,75**	0,94 ^{ns}	2,81*
d.m.s. (5%)	0,36	0,05	0,69	0,55	0,11	0,04
C.V. (%)	12	11	15	28	16	14
Não inoculada	19,6a	2,0	18,8	8,5a	2,6	1,4
Inoculada	17,9b	1,9	18,9	7,0b	2,9	1,3
Ffitossanidade	9,50**	2,27 ^{ns}	1,00 ^{ns}	4,17*	2,06 ^{ns}	1,34 ^{ns}
d.m.s. (5%)	0,12	0,01	0,24	0,16	0,05	0,02
C.V. (%)	10	10	20	32	29	24

Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 13 - Teores de boro, cobre, ferro, manganês e zinco, da parte aérea médio-apical da progênie de ICS6 x SCA6 submetida a omissão de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições).

Tratamento	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	mg/kg				
Completo	33	2ab	77ab	117c	23b
-N	47	2ab	84a	199a	34a
-P	36	2ab	66ab	133bc	25ab
-K	39	2ab	53b	122bc	25ab
-Ca	42	1,5b	68ab	130bc	23b
-Mg	45	2ab	50b	140bc	22b
-S	32	3a	68ab	161ab	29ab
Ftratamento	1,32 ^{ns}	2,35*	2,87*	7,57**	3,70*
d.m.s. (5%)	21,31	1,54	29,91	42,55	9,32
C.V. (%)	22	30	18	12	14
Não inoculada	44a	2	76a	156a	26
Inoculada	35b	2	57b	129b	26
Ffitossanidade	7,71*	0,02 ^{ns}	6,28*	10,85**	0,10 ^{ns}
d.m.s. (5%)	6,75	0,79	15,96	17,68	2,88
C.V. (%)	26	51	36	18	17

Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 14 - Teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, da parte aérea médio-basal da progênie de ICS6 x SCA6, submetida a omissão de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições).

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	S
	g/kg					
Completo	14,7ab	2,4b	13,5bc	14,4a	3,6	1,3
-N	7,7c	1,9b	10,0c	7,6b	3,9	1,1
-P	16,3a	1,3c	14,9ab	11,6ab	2,9	1,4
-K	13,3ab	2,2b	5,1d	15,5a	3,5	1,2
-Ca	15,7a	2,3b	15,9ab	17,2a	3,2	1,1
-Mg	11,6bc	2,1b	15,1ab	6,6b	3,7	1,4
-S	16,9a	2,9a	17,5a	16,5a	3,0	1,2
Ftratamento	11,96**	15,64**	22,01**	9,23**	1,60 ^{ns}	1,65 ^{ns}
d.m.s. (5%)	0,40	0,05	0,38	0,60	0,14	0,03
C.V. (%)	12	10	12	19	17	12
Não inoculada	13,9	2,2	13,1	13,1	3,1	1,2
Inoculada	13,6	2,2	13,2	12,4	3,6	1,3
Ffitossanidade	0,40 ^{ns}	0,01 ^{ns}	0,03 ^{ns}	0,45 ^{ns}	3,87 ^{ns}	0,95 ^{ns}
d.m.s. (5%)	0,13	0,03	0,19	0,22	0,05	0,01
C.V. (%)	15	21	22	26	24	12

Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferiu entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 15 - Teores de boro, cobre, ferro, manganês e zinco, da parte aérea médio-basal da progênie de ICS6 x SCA6 submetida a omissão de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições).

Tratamento	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	mg/kg				
Completo	31b	4,1bc	102ab	206	28
-N	47a	4,3b	128a	206	28
-P	35ab	6,2a	70bc	220	28
-K	33b	4,0bc	69bc	195	24
-Ca	37ab	3,0c	55c	144	25
-Mg	36ab	4,7b	60c	212	22
-S	43ab	3,7bc	55c	166	30
Ftratamento	3,39*	12,64**	12,85**	0,96 ^{ns}	1,12 ^{ns}
d.m.s. (5%)	13,28	1,19	33,31	153	13,37
C.V. (%)	14	11	17	20	13
Não inoculada	38	4,4a	60b	192	27
Inoculada	37	4,2b	95a	193	26
Ffitossanidade	0,13 ^{ns}	0,66	32,11**	0,002 ^{ns}	0,26
d.m.s. (5%)	6,32	0,49	13,20	17,49	3,86
C.V. (%)	25	18	26	14	23

Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Os dados da Tabela 16, indicam que a omissão de Mg afeta significativamente o conteúdo de N, mais do que a omissão do próprio N, já na omissão de P e K os seus próprios conteúdos são afetados. Observa-se também que a falta de nutrientes não afeta o conteúdo de Ca, Mg e S na parte aérea-médio apical, bem como no conteúdo de Mg e S na parte basal (Tabela 18). Os conteúdos de N e Ca são mais elevados, em plantas infectadas do que nas sadias. Quanto aos micronutrientes, o tratamento completo apresentou respectivamente maior e menor conteúdo de Cu e Mn (Tabela 17). A planta sadia apresenta, respectivamente, menor e maior conteúdo de B e Cu. Em média, os conteúdos de N, P, K e S encontrados na parte basal são menores que na parte apical e neste os conteúdos de Ca e Mg são maiores, informações essas, concordantes com a mobilidade destes elementos na planta (Tabela 18).

Tabela 16 - Teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, da parte aérea médio-apical da progênie de PA150 x MA15, submetida a omissão de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições).

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	S
	g/kg					
Completo	15,9b	1,8bc	19,9b	7,8	3,0	1,3
-N	15,7b	2,2ab	18,0b	5,1	3,3	1,4
-P	19,0a	1,2c	23,3ab	7,6	3,0	1,1
-K	19,9a	1,8bc	9,1c	11,2	3,3	1,4
-Ca	19,4a	2,0ab	18,1b	10,7	4,2	1,2
-Mg	12,7c	1,7bc	21,2b	3,6	2,9	1,2
-S	20,9a	2,4a	28,7a	10,9	3,4	1,4
Ftratamento	34,51**	7,64**	20,32**	4,21 ^{ns}	2,05 ^{ns}	1,43 ^{ns}
d.m.s. (5%)	0,21	0,06	0,57	0,80	0,16	0,05
C.V. (%)	5	13	11	25	12	10
Não inoculada	17,1b	1,9	19,1	8,5a	3,2	1,3
Inoculada	18,2a	1,8	20,4	7,7b	3,4	1,3
Ffitossanidade	6,39*	0,80 ^{ns}	1,56 ^{ns}	22,84**	0,31 ^{ns}	2,14 ^{ns}
d.m.s. (5%)	0,08	0,01	0,23	0,034	0,05	0,01
C.V. (%)	7	10	18	6	25	10

Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 17 - Teores de boro, cobre, ferro, manganês e zinco, da parte aérea médio-apical da progênie de PA150 x MA15 submetida e omissão de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições).

Tratamento	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	----- mg/kg -----				
Completo	33	4a	52	72d	30
-N	47	2b	60	174a	37
-P	36	3ab	55	153ab	28
-K	39	3ab	70	120c	22
-Ca	42	3ab	61	114c	21
-Mg	45	2,7b	46	127bc	17
-S	37	3ab	55	154ab	29
Ftratamento	0,77 ^{ns}	4,61*	0,55 ^{ns}	22,48**	2,49 ^{ns}
d.m.s. (5%)	32,15	1,34	56,76	30,45	22,83
C.V. (%)	21	17	25	9	22
Não inoculada	34b	3,6a	61	138	28
Inoculada	44a	2,7b	53	124	25
Ffitossanidade	7,63*	10,0**	2,69 ^{ns}	4,05 ^{ns}	3,73 ^{ns}
d.m.s. (5%)	5,70	0,64	9,83	15,16	2,97
C.V. (%)	22	31	27	17	17

Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 18 - Teores de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre, da parte aérea médio-basal da progênie de PA150 x PA15, submetida a omissão de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições).

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	S
	----- g/kg -----					
Completo	13,6bc	1,0ab	12,7abc	12,4abc	3,6	1,2
-N	9,7d	2,1ab	10,6bc	9,4bc	3,9	1,1
-P	14,9b	1,3b	13,3ab	11,2abc	2,8	1,2
-K	15,4b	2,2a	7,4c	11,9abc	3,7	1,3
-Ca	18,5a	2,2a	17,5a	13,9ab	2,5	1,2
-Mg	10,9cd	1,9ab	11,4bc	8,0c	3,6	1,2
-S	16,0ab	2,4a	15,1ab	14,9a	3,3	1,2
Ftratamento	19,58**	2,94*	6,83**	5,08**	1,63 ^{ns}	0,27 ^{ns}
d.m.s. (5%)	0,29	0,08	0,53	0,46	0,16	0,03
C.V. (%)	8	18	17	16	20	12
Não inoculada	14,8a	2,1a	11,8	10,7b	3,0	1,2
Inoculada	13,5b	1,9b	13,3	12,7a	3,7	1,2
Ffitossanidade	4,63*	4,86*	3,80 ^{ns}	7,93	3,70 ^{ns}	2,13 ^{ns}
d.m.s. (5%)	0,12	0,02	0,16	0,15	0,07	0,01
C.V. (%)	13	13	19	20	32	12

Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 19 - Teores de boro, cobre, ferro, manganês e zinco, da parte aérea médio-basal da progênie de PA150 x MA15 submetida a omissão de macronutrientes, com e sem inoculação de basidiosporos (média de 4 repetições).

Tratamento	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	----- mg/kg -----				
Completo	22b	3,5	59	143bc	27
-N	35ab	2,8	63	219a	31
-P	25ab	3,5	53	149bc	24
-K	37ab	2,5	59	122c	21
-Ca	42a	2,8	53	141bc	21
-Mg	31ab	2,8	48	164abc	21
-S	30ab	3,8	61	192ab	28
Ftratamento	2,55**	2,45 ^{ns}	1,91 ^{ns}	6,54**	2,46 ^{ns}
d.m.s. (5%)	18,30	1,33	16,57	56,55	11,49
C.V. (%)	23	17	12	14	18
Não inoculada	30b	3,1	57	170	24
Inoculada	34a	3,1	56	153	25
Ffitossanidade	5,54**	0,02 ^{ns}	0,08 ^{ns}	2,32 ^{ns}	0,06 ^{ns}
d.m.s. (5%)	4,16	0,74	9,17	24,04	3,61
C.V. (%)	20	36	24	22	22

Médias seguidas de mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Figura 30. Acúmulo de N,P,K,Ca,Mg e S pela parte aérea da progênie PA150 x MA15.

Figura 31. Acúmulo de B,Fe,Mn e Zn pela parte aérea da progênie de PA150 x MA15.

A progênie de PA150 x MA15 requer K, N e Ca em maior quantidade seguido do Mg, S e P. A omissão de N afeta a extração de N, P, K, Ca, Mg e S enquanto que a omissão de S promove maior absorção de K, N e Ca não afetando a extração de Mg, S e P (Fig. 30). A omissão de Ca diminui a absorção de Mn, Fe, B e Zn e de maneira geral a omissão de S, Mg, P e K promove o aumento de Mn (Fig. 31).

Através dos dados de absorção de nutrientes das plantas sadias e infectadas das três progênes (Tabela 20), pode-se afirmar que a tolerância à vassoura-de-bruxa está ligada ao conteúdo adequado de N e Ca, fornecido através da nutrição mineral e ou genética do material e o alto conteúdo de Mn oriundo da própria planta. Assim, pode-se dizer que a progênie de ICS6 x SCA6 é tolerante à vassoura-de-bruxa por ser eficiente em absorver principalmente o Mn, seguido do N e Ca, enquanto que o Catongo e o PA150 x MA15 são susceptíveis pelo fato dessas duas progênes serem ineficientes em absorver Mn e N. Para HUBER (1989) existe um efeito interativo do Mn e N, em funções metabólicas da planta, associadas em defesa contra o patógeno. Outros nutrientes como Fe e B podem também estar associados com a tolerância, conforme pode ser observado abaixo:

Tabela 20. Níveis de nutrientes encontrados nas três progênes de cacauero

Progênie	Plantas	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
Catongo	Sadia	b	-	-	b	a	-	a	-	b	-	-
	Infectada	a	-	-	a	b	-	b	-	a	-	-
IC6 x SCA6	Sadia	a	-	-	a	-	-	a	-	a	a	-
	Infectada	b	-	-	b	-	-	b	-	b	b	-
PA150x MA15	Sadia	b	-	-	a	-	-	b	a	-	-	-
	Infectada	a	-	-	b	-	-	a	b	-	-	-

(a)-adequado

(b)-baixo

Segundo CAMPBELL & NABLE (1988) o papel do Mn na síntese de lignina e fenol pode ser extremamente importante, para o mecanismo de defesa da planta na resistência à doença. A interação e o equilíbrio dos diferentes nutrientes como o Cu, B, Fe e Mn podem dificultar à infecção do patógeno pois estão envolvido na biossíntese da lignina.

Finalmente, os dados indicam que deve haver um bom nível nutricional de Mn, N, Ca, Fe e B para as plantas, a fim de que elas sejam menos suscetíveis à infecção da doença.

4.2. Coleta Foliar no Campo

4.2.1. Compostos Químicos

Com relação aos ramos de alguns genótipos coletados no campo, observa-se que no extrato foliar, o teor de proteínas total referentes ao Catongo e ao clone PA150 tendem a ser praticamente iguais entre si, tanto para folhas de ramos saudáveis como nas de ramos infectados (Fig. 32). Observa-se, também, que o teor de proteína total tende a ser superior no clone SCA6 e na combinação híbrida SCA6 x ICS1, quando comparado à plantas saudáveis de Catongo e do clone PA150.

Na época da coleta não haviam vassouras verdes do clone SCA6 para efetuar a análise de proteínas nas folhas. Assim, no caso de SCA6 x ICS1, considerado tolerante à vassoura-de-bruxa, observa-se que no extrato de folha provenientes de ramos infectados o teor de proteína total é maior do que na de ramos saudáveis. Através desses dados presume-se que como resultado da infecção são produzidas ou ativadas as proteínas ligadas a resistência (LINTHORST, 1991). Observa-se também pela Figura 33 que os teores de fenóis tem forma de distribuição similar a de proteína total, para os quatro genótipos e os teores com essas substâncias aumentaram como resposta à infecção.

Figura 32. Teor de proteína total encontrado nos extratos de folhas de diferentes genótipos de cacaueteiro.

Figura 33. Teor de fenóis encontrado nos extratos de folhas de diferentes genótipos de cacaueteiro.

4.2.2. Diagnose Foliar

Através da Tabela 20, observa-se que os teores foliares de N, P, Ca, S e B foram considerados altos, enquanto que os teores de Cu, Fe e Zn estavam abaixo dos teores considerados adequados tanto nas folhas provenientes de ramos saudáveis como para aquelas de ramos de cacaueteiro infectados. Já os teores foliares de Mg e Mn foram altos para as folhas de ramos saudáveis e baixos para os de ramos infectados. Ocorreu também uma inversão nos teores de K em folhas de ramos saudáveis considerados baixos e foram

altos para folha de ramos infectados, segundo os padrões propostos por MALAVOLTA et al. (1989). Através desses dados, infere-se que a estabilidade da resistência relacionada a nutrição de plantas, para a progênie de SCA6 x ICS1, provavelmente é dada pelo manganês que participa de alguns processos vitais. Nesse caso, o papel do manganês, poderia ser explicado pela participação deste nutriente principalmente no processo de controle hormonal ligado à constituição ou à ativação da oxidase do ácido indol acético (IAA). É fato que plantas infectadas tem a síntese e liberação do IAA/citoquininas inibidas, causando divisões celulares excessivas, células dilatadas, anormais e perda da dominância apical que resulta na proliferação de gemas axilares e também no processo de síntese de proteínas (KRUPASAGAR & SEQUEIRA, 1969; LAKER et al. 1991).

Os nutrientes, de maneira geral, interagem entre si, tornando-se difícil isolar seus efeitos. Assim, segundo HUBER (1989) manganês interage com o metabolismo de nitrogênio e ambos estão intimamente envolvidos na síntese de carboidratos, fotossíntese, síntese de fenol e outros compostos associados com a defesa de plantas contra patógenos.

Tabela 20 - Teores de macro e micronutrientes contidos nas folhas sadias e infectadas do híbrido SCA6 x ICS1.

Tratamento	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Zn
	----- g/kg -----						----- mg/kg -----				
Sadia	24,4	2,0	12,9	26,7	10,7	2,7	43	1	57	454	29
Infectada	23,3	3,0	22,8	11,5	4,4	2,5	56	4	91	123	33

5- CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nas condições dos experimentos, permitiram as seguintes conclusões:

- A falta de nitrogênio afetou a altura de plantas dos três híbridos e a produção de matéria seca da parte aérea dos híbridos ICS6 x SCA6 e PA150 x MA15. Diferenças na expressão do sintoma da doença aparecem em função da falta do nutriente mineral e do material genético, sendo os sintomas de vassouras terminais no híbrido Catongo e inchaço localizado nos híbridos ICS 6 x SCA6 e PA150 x MA15;
- Em função da falta de nutrientes existiu uma variação na extensão da hiperplasia referente ao parênquima cortical e medular e sistema vascular e presença generalizada de micélios intercelulares. Os micélios intracelulares foram localizados somente nos tratamentos sem N, Mg e S;
- A patogenicidade foi alterada pela falta de nutrientes e do material genético, sendo que o início dos sintomas ocorreram a partir de 21 dias para o Catongo, 60 dias para o ICS6 x SCA6 e 30 dias para o PA150 x MA15. Plantas com nutrição equilibrada com macro e micronutrientes tem a severidade da doença reduzida (Catongo) ou são isentas da doença (ICS6 x SCA6 e PA150 x MA15);
- A doença alterou reduzindo os teores de clorofila, modificando o metabolismo de carboidratos através do aumento no teor da frutose e aumentando o metabolismo de proteínas e fenóis, neste caso, somente para o híbrido tolerante ICS6 x SCA6. O híbrido susceptível mesmo com nutrição adequada, não tem mecanismo adequado de aumentar os teores de proteínas e fenóis totais;

- A extração de nutrientes, variou em função do material genético sendo preferencialmente $K > N > Ca > Mg > S \geq P$ para Catongo e PA150 x MA15 e $N > K > Ca > Mg > S \geq P$ para ICS6 x SCA6;
- O híbrido ICS6 x SCA6 se diferenciou dos demais por ter um alto conteúdo de Mn, N, Ca, Fe e B e dentre estes, o Mn foi o nutriente que lhe conferiu a tolerância à vassoura-de-bruxa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.M. Environmental effects on infections plant disease development. In: **Plant pathology**. 3. ed. London, Academic Press, 1980. p 147-55.
- ANDERBRHAN, T.; ALMEIDA, L.C. de; FONSECA, S.E.A. **Doenças do cacaueiro**. Belém, CEPLAC/DEPEA/COPES, 1983. 91p.
- BAKER, R.D. & HOLLIDAY, P. **Witches broom disease of cacao (*Marasmius perniciosus* Stahel)**. Kew, CMI, 1957. 42p. (CMI. Phytopathological papers,2).
- BASTOS, C.N. Efeito da radiação solar e do período pós-germinativo sobre a viabilidade de basidiosporos de *Crinipellis perniciosus*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **14**(3/4): 261-3, out./dez. 1989.
- BASTOS, C.N. Patogenicidade e características do isolado de *Crinipellis perniciosus* procedente de Uruçuca, Bahia. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, **15**(4): 344-6, dez. 1990.
- BASTOS, C.N. & SILVA, H.M. **Doenças do cacaueiro na Amazônia Brasileira**. Belém, CEPLAC/DEPEA/COPES, 1980. 42p. (Comunicado Técnico, 2).
- BOULD, C.; HEWITT, E.J.; NEEDHAM, P. **Diagnosis of mineral disorders in plants: principles**, London, HMSO, 1983. v.1, 174p.

- BUSSLER, W. The development of calcium deficiency symptoms. **Zeitscheift fur Pflanzenernährung, Frengung un Bodenhunde**, Weinhein, **100**: 53-8, 1963.
- CABALA-ROSAND, P.; SANTANA, M.B.M.; SANTANA, C.J.L. de; CHEPOTE, R.E. NAKAYAMA, L.H.I. **Utilização de adubos e corretivos na cultura do cacau**; Manual do extensionista Ilhéus, CEPLAC,. 1988. 18p.
- CALLE, H.; COOK, A.A.; FERNANDO, S.Y. Histology of Witches' Broom caused in Cacao by *Crinipellis pernicioso*. **Phytopathology**, St. Paul, **72**: 1479-81, 1982.
- CAMPBELL,L.C & NABLE,R.O. Physiological functions of manganese in plants. In: Graham, R.D.; Hannam, R.J.; Uren, N.C.,ed. **Manganese in soils and plants**.. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers. 1988. p.139-54.
- CRONSHAW, D.K. & EVANS, H.C. Witches' broom disease of cocoa (*Crinipellis pernicioso*) in Equador. II Methods on infection, **Annals of Applied Biology**, London, **89**: 193-200, 1978.
- DABYDEEN, S. & SCREENIVASAN, T.N. Occurence, anatomy and morphology of “blisters” on cocoa seedlings inoculated with *Crinipellis pernicioso*. **Plant Disease**, St. Paul, **73**(6): 481-89.1989.
- DELLA GUARDIA, M.D. & BENLLOCH, M. Effects of potassium and gibberillic acid on stem growth of whole sunflower plants. **Physiologia Plantarum**, Kopenhagen, **49**:443-8, 1980.
- EATON, S.V. Effects of potassium dificiency on growth and metabolism of sunflower plants. **Botanical Gazette**, Chicago, **114**:160-80, 1952.

- EPSTEIN, E. **Nutrição Mineral das Plantas; princípios e perspectivas.** Livros Técnicos e Científicos. Rio de Janeiro, 1975. 341p.
- EVANS, H.C. Witches' broom disease of cocoa (*Crinipellis Perniciosa*) in Equador. I. The fungus. **Annals of Applied Biology**, London, **89**:185-92, 1978.
- EVANS, H.C. Pleomorphism of *Crinipellis perniciosa* causal agent of Witches' broom disease of cocoa. **Transactions of the British Mycological Society**, London, **74**(3): 515-23. 1980.
- EVANS, H.C. Witches' broom disease a case study. In: II INTERNATIONAL WORKSHOP ON THE WITCHES' BROOM DISEASE OF CACAO, 2., Belém, 1982. Belém, CEPLAC, 1982. p.5-19.
- EVANS, H.C. & BASTOS, C.N. Uma reavaliação do ciclo de vida da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis perniciosa*) de cacau. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, **4**(1): 104, 1979.
- FRIAS, G.A & PURDY, L.H. Infection biology of *Crinipellis perniciosa* on vegetative flushes of cocoa. **Plant Disease**, St Paul, **75**(6): 552-6. 1991.
- HAMMENCHIDT, H & NICHOLSON, R.L. Resistance of maize to antracnose: changes in host phenols and pigments. **Phytopathology**, St. Paul, **67**: 251-8, 1977.
- HEWITT, E.J. & SMITH, A. **Plant mineral nutrition.** London, The English Universities, 1975. 298p.
- HUBER, D.M. The role of nutrition in the take-all disease of wheat and other small grains. In: ENGELHARD, A.W., ed. **Soil borne plant pathogens: (Management of disease with macro and microelements.)** St. Paul, APS Press, 1989. p.46-75.

- HUBER, D.M. & ARNY, D.C. Interactions of potassium with disease. In: Munson, R.D., ed **Potassium in agriculture**. Madison, American Society of Agronomy, 1985. 467-88p.
- HUBER, D.M. & WATSON, R.D. Nitrogen form and plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, **12**: 139-65, 1974.
- HOAGLAND, D.R. & ARNON, D.I. **The water culture method for growing plants without soil**. Berkeley, California Agricultural Experimental Station, 1950. 34p. (Circular, 347).
- KIRALY, Z. Plant disease resistance as influenced by biochemical effects of nutrients in fertilizers. In: **Fertilizer Use and Plants Health**. Colloquium of the International Potash Institute, 12., 1976. Proceedings. p.33-46.
- KRUPASAGAR, V. & SEQUEIRA, L. Auxin destruction by *Marasmius perniciosus*. **American Journal of Botany**, Columbus, **56** (4): 390-7. 1969.
- KUC, J. Plant immunization and its applicability for disease control. In: Chet, J. ed. **Innovative approaches to plant control**. New York, John Wiley, 1987. p. 255-74.
- LAKER, H.A.; SREENIVASAN, T.N. ; KUMAR, D.R. Investigations on the histopathology of cocoa seedling infected with *Crinipelli perniciosa* in Trinidad. **Agrotrópica**, Ilhéus, **3**(3): 129-37. 1991.
- LEDBETTER, M.C. & GUNNING, B.E.S. Glutaraldehyde-osmic acid fixation of plant cells. In: SYMPOSIUM ON BOTANICAL APPLICATION ON ELETRON MICROSCOPY, London, 1963.

LEHNINGER, A.L. **Bioquímica**. São Paulo, Edgard Blücher, 1976. v.2, 448p.

LINDEBERG, G. & MOLIN, K. Notes on the physiology of the cocoa parasite *marasmius perniciosus*. **Physiologia Plantarum**, Munksgaard, **2**: 138-44, 1949.

LINTHORST, H.J.M. Pathogenesis - related proteins of plants. **Critical Reviews in Plants Sciences**. 10(2) : 123-50, 1991.

LOWRY, O.H.; ROSENBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biology Chemistry**, Baltimore, **193**:265-75. 1951.

MACHADO, R.C.R. **Characterization of the intercelluar solution in cocoa plants infected with *Crinipellis pernicios***: relatório das atividades desenvolvidas na Universidades de Liverpool-Inglaterra e de Hamburgo-Alemanha, 1991. 16p.

MACHADO, R.C.R., HARDWICK, K. ; ORCHARD, J.E. **Changes in starch levels in cocoa stems infected with *Crinipellis pernicios***: relatório de Atividades desenvolvida na Universidade de Liverpool-Inglaterra, 1991. 11p.

MAGALHÃES, A.C.N. Fotossíntese. In: FERRI, M.G., Coord. **Fisiologia vegetal**. 2.ed., São Paulo, EPU 1979. p117-63.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo, Agronomica Ceres, 1980. 251p.

MALAVOLTA, E ; VITTI, G.C.; OLIVIERA, S.A. de. **Avaliação do estudo nutricional das plantas**: princípios e aplicações. Piracicaba, Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e Fosfato, 1989. 201p.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London, Academic Press, 1986. 674p.

MCKINNEY, G. Absorption of light by chlorophyll solution. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore. **140**:315-22, 1941.

MENGEL, K. & KIRKBY, E.A. **Principles of plant nutrition**. 3. ed. Bern, International Potash Institute, 1982. 655p.

MILLER, G.W.; PUSHNIK, J.C. ; REYES, N. The major elements in plants. In: ASHMEAD, H.D.; ASHMEAD, H.H.; MILLER, G.W.; HSU, HSIN-HUNG. **Foliar feeding of plants with amino acid chelates**. Clearfield, Albion Laboratories; Park Ridge, Noyes publ. 1986. p.65-161.

NELSON, N. A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, **153**:375-80, 1944.

ORCHARD, J.E. & HARDWICK, K. Photosynthesis, carbohydrate translocation and metabolism of host and fungal tissue in cocoa seedlings, infected with *Crinipellis perniciosus*. In: International cocoa Research Conference, 10. Santo Domingo, 1987, Proceedings p 325-30.

PEGUS, J.E. Aspects of the host parasite relationship in the theobroma cocoa *L./Marasmius perniciosus*(Stahel) disease complex. St. Augustine, 1972. 41p. (M.Sc. Thesis University of the West Indies).

REYES, L.C. de & REYES, E.H. Contenido de polifenoles en dos variedades de *Theobroma cacao* L. y su relacion con la resistència a *Ceratocystis fimbriata*. **Agrochimica Tropical**, **18**(3): 335-9, 1968.

- ROCHA, H.M. & WHEELER, B.E.J. Factors influencing the production of basidiospores of *Crinipellis pernicioso*, the causal fungus of witches' broom disease on cocoa *Theobroma cacao*. **Plant Pathology**, 34: 319-28, 1985.
- RUDGARD, S.A. Detailed description of symptoms of witches' broom disease of cocoa caused by *Crinipellis pernicioso*. Cocoa Growers'. Bulletin, Bournviele (41): 1-32, 1989.
- SCREENIVASAN, T.N. & DABYDEEN, S. Modes of penetration of young cocoa leaves by *Crinipellis pernicioso*. **Plant Disease**, St. Paul, 73(6): 478-81, 1991.
- SOMOGYI, M. A new reagent for the determination of sugars. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, 160: 61-8, 1945.
- SOMOGYI, M. Notes on sugar determination. **Journal of Biological Chemistry**. Baltimore, 195: 19-23, 1952.
- SWAIN, R. & HILLIS, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The qualitative analysis of phenolic constituents. **Journal of Science of Food and Agriculture**, London, 10: 63-8, 1959.
- THONG, K.C. & NG, W.L. Growth and nutrient composition of monocrocy cocoa plants on island Malaysian soils. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON COCOA COCONUTS. Kuala Lumpur, 25p. 1978.
- TISDALE, S.L.; NELSON, W.L.; BEATON, J.D. **Soil fertility and fertilizers**. 4. ed. New York, Macmillan, 1985. 754p.

VESK, M.; POOSINGHANIU, V.; MERCER, F.V. The effect of mineral nutrient deficiency on the struture of the leaf cells of tomato. Spinach and maize. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, 1: 1-18, 1966.

WATSON, D.J. Staining of tissue section of electron microscopy with heavy metal. II. Application of solution containing lead and barium. **Journal of Biophysical and Biochemistry Cytology**, New York, 4.: 727, 1958.

REFERÊNCIAS CONSULTADAS

BASTOS, C.N. Patogenicidade e características do isolado de *Crinipellis pernicioso* procedente de Uruçuca, Bahia. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, 15(4): 344-6, dez. 1990.

COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Cacau: riqueza do Brasil**. Ilhéus, 1986. 42p.

COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA. **Situação da economia cacaueira**. Brasília, 1993. 10p.

FERRAZ, E. C de A. **A vassoura-de-bruxa na Bahia: plano integrado de ações**. Ilhéus, CEPLAC, 1989. 43p.

LINDEBERG, G. & MOLIN, K. Notes on the physiology of the cocoa parasite *marasmius perniciosus*. **Physiologia Plantarum**, Munksgaard, 2: 138-44, 1949.

MADDISON, A. & MOGROVEJO, E. **Escoba de bruja en el establecimiento de cacao**. Pichilingue, Estacion Experimental Tropical., 1985. 19p. (Comunicacion Tecnica, 13).

MUSE, R.B.; ISAAC, S.; COLLIN, H.A. ; HARDWICK, K. Phitotoxin production by *Crinipellis perniciosa*. In: International Cocoa Research Conference, 10. SantoDomingo, 1987. Proceedings. p 355-58.

PEREIRA, J.L.; RAM, A.; FIGUEIREDO, J.M. de. ; ALMEIDA, L.C. de. Primeira ocorrência de vassoura-de-bruxa na principal região produtora de cacau do Brasil. *Agrotropica*, Ilhéus, 1(1): 79-81, 1989.