

Metodologia de Inoculação Artificial de
Moniliophthora perniciosa em Cupuaçuzeiro



OBJETIVOS DE
DESENVOLVIMENTO
SUSTENTÁVEL



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

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
47**

**Metodologia de Inoculação Artificial de
Moniliophthora perniciosa em Cupuaçuzeiro**

*Maria Geralda de Souza
Aparecida das Graças Claret de Souza
Olivia Cordeiro de Almeida*

Embrapa Amazônia Ocidental
Rodovia AM-010, Km 29,
Estrada Manaus/Itacoatiara
69010-970, Manaus, AM
Fone: (92) 3303-7800
Fax: (92) 3303-7915
www.embrapa.br
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações
da Unidade Responsável

Presidente
Kátia Emídio da Silva

Secretária-Executiva
Gleise Maria Teles de Oliveira

Membros
*José Olenilson Costa Pinheiro, Maria Augusta
Abtibol Brito de Sousa e Maria Perpétua Beleza
Pereira*

Supervisão editorial e revisão de texto
Maria Perpétua Beleza Pereira

Normalização bibliográfica
Maria Augusta Abtibol Brito de Sousa

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Gleise Maria Teles de Oliveira

Foto da capa
Maria Geralda de Souza

1ª edição
Publicação digital (2022): PDF

Todos os direitos reservados

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

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Amazônia Ocidental

Souza, Maria Geralda de.

Metodologia de inoculação artificial de *Monilophthora perniciosa* em cupuaçuzeiro / Maria Geralda de Souza, Aparecida das Graças Claret de Souza, Olívia Cordeiro de Almeida. – Manaus : Embrapa Amazônia Ocidental, 2022.

21 p. : il. color. - (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Amazônia Ocidental, ISSN 1517-2457; 47).

1. Inoculação artificial. 2. Doença de planta. 3. Vassoura-de-bruxa. 4. *Monilophthora perniciosa*. I. Souza, Aparecida das Graças Claret de. II. Almeida, Olívia Cordeiro de. III. Título. IV. Série.

CDD 632.4

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução.....	8
Material e Métodos	11
Resultados e Discussão	17
Conclusão.....	19
Referências	19

Metodologia de Inoculação Artificial de *Moniliophthora perniciosa* em Cupuaçuzeiro¹

Maria Geralda de Souza²

Aparecida das Graças Claret de Souza³

Olivia Cordeiro de Almeida⁴

Resumo – A vassoura de bruxa, doença endêmica da região amazônica, é considerada a mais prejudicial à cultura do cupuaçuzeiro. Em mudas atacadas, o sintoma mais frequente é a vassoura terminal (VT), pois o fungo infecta principalmente a gema apical. A medida mais segura e de baixo custo para o manejo da doença é o uso de cultivares resistentes a ela. Porém o ciclo no melhoramento genético da cultura é longo. Assim, o uso de metodologia que permita fazer comparações na fase de mudas é de grande valia para acelerar o processo de seleção e desenvolvimento de cultivares de cupuaçuzeiro resistentes à vassoura de bruxa, pois genótipos suscetíveis podem ser descartados precocemente. Neste contexto, objetivou-se avaliar a metodologia de inoculação artificial do fungo *Moniliophthora perniciosa* para auxiliar na seleção precoce de potenciais fontes de resistência do cupuaçuzeiro à doença vassoura de bruxa. Foram conduzidos dois experimentos, com intervalo de 12 meses, tendo como tratamentos, por experimento, 24 progênies de meios-irmãos oriundas de diferentes acessos do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de cupuaçuzeiro, submetidas a inoculação artificial do fungo *M. perniciosa*. As mudas foram inoculadas com a deposição de uma gota de 30 µL do meio de cultura ágar-água a 0,03% contendo suspensão de 10⁵/basidiósporo/mL de *M. perniciosa*. O método de inoculação artificial de *M. perniciosa* em mudas de cupuaçuzeiro, descrito e avaliado neste trabalho, possibilitou discriminar as respostas de progênies de meios-irmãos de cupuaçuzeiro à manifestação do sintoma VT. Concluiu-se que a metodologia de inoculação artificial do fungo *M. perniciosa* em cupuaçuzeiro se mostrou adequada para auxiliar na busca de novas fontes de resistência à vassoura

¹ Cadastro nº AF01F35 (SisGen).

² Engenheira florestal, doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

³ Engenheira-agrônoma, doutora em Fitotecnia (Produção Vegetal), pesquisadora da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM.

⁴ Bióloga, mestre em Ciências Agrárias, pesquisadora do Centro de Pesquisas do Cacau, Manaus, AM.

de bruxa, especialmente visando ao descarte do material suscetível de forma precoce e proporcionando mais segurança na escolha de genótipos para o programa de melhoramento genético da cultura.

Termos para indexação: vassoura de bruxa, fruteira nativa, resistência.

Methodology of Artificial Inoculation of *Moniliophthora perniciosa* in Cupuassu Seedling

Abstract – Witch's broom, an endemic disease of the Amazon region, is considered the most harmful to the cupuassu tree culture. In attacked seedlings, the most frequent symptom is terminal broom, as the fungus mainly infects the apical bud. As a safer and low-cost measure to manage the disease, the use of cultivars resistant to witches' broom is used. However, the cycle in the genetic improvement of the crop is long. Therefore, the use of a methodology that allows comparisons to be made during the seedling stage is of great value to accelerate the process of selection and development of cupuassu cultivars resistant to witches' broom, as susceptible genotypes can be discarded early. In this context, the objective of the present work was to evaluate the methodology of artificial inoculation of the fungus *Moniliophthora perniciosa* to help in the early selection of potential sources of resistance of cupuacuzeiro to witches' broom disease. Two experiments were carried out, with an interval of 12 months, using as treatments, per experiment, 24 half-sib progenies from different accessions of the Active Germplasm Bank (BAG) of cupuaçuzeiro, submitted to artificial inoculation of the fungus *M. perniciosa*. The seedlings were inoculated with the deposition of a 30 μ L drop of 0.03% agar-water culture medium containing a suspension of 10^5 basidiospore/mL of *M. perniciosa*. The method of artificial inoculation of *M. perniciosa* in cupuassu seedlings described and evaluated in this work made it possible to discriminate the responses of half-sib progenies of cupuassu in terms of the manifestation of terminal broom symptom. It was concluded that the methodology of artificial inoculation of the fungus *M. perniciosa* in cupuassu palm proved to be adequate to help in the search for new sources of resistance to witches' broom disease, especially aiming at the early disposal of susceptible material and giving more confidence in the choice of genotypes for the crop's genetic improvement program.

Index terms: witch's broom, native fruit tree, resistance.

Introdução

O cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum.), família Malvaceae, é uma frutífera perene, nativa da Amazônia, cuja polpa é utilizada na elaboração de produtos como sucos, doces, tortas, bolos, biscoitos, pudins, pizzas, sorvetes, picolés, iogurtes e bebidas. As amêndoas são utilizadas na indústria de cosméticos e de alimentos.

A vassoura de bruxa, causada pelo fungo *M. pernicioso* (Stahel) (Aime; Phillips-Mora, 2005), doença endêmica da região amazônica, é considerada a mais prejudicial à cultura do cupuaçuzeiro e também do cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.) (Bastos, 1990). O fungo, da classe dos basidiomicetos, compreende duas fases em seu ciclo de vida. Uma inicial, biotrófica, quando o micélio é parasítico, dependente de células vivas, e o desenvolvimento do fungo é intercelular; e a outra fase é saprofitica, quando ocorre a morte das células e a necrose generalizada dos tecidos afetados (Evans, 1980; De Silva et al., 2016). Na fase saprofitica o fungo produz os basidiocarpos (cogumelos) (Figura 1), que, por sua vez, liberam os basidiósporos (esporos), unidades infectivas do fungo (Bastos; Andebrhan, 1986). O esporo infecta tecidos meristemáticos ativos, como brotos vegetativos, deixando os ramos hipertrofiados, com proliferações laterais intensas, que posteriormente secam e morrem, apresentando respectivamente aspecto típico de vassoura verde e vassoura seca (Figuras 2A e 2B). Os frutos, quando infectados ainda jovens, ficam pequenos, deformados e mumificados; quando maduros, os sintomas são lesões necróticas externas e danos internos, inutilizando o uso da polpa. Em mudas atacadas, o sintoma mais frequente é a VT, pois o fungo infecta principalmente a gema apical, com perda da dominância apical e formação de brotações laterais (Figuras 3A e 3B), com posterior seca e morte da muda (Bastos, 1990; Pereira et al., 1990). As condições climáticas consideradas favoráveis à liberação dos basidiósporos compreendem umidade do ar próximo a saturação e temperaturas em torno de 20 °C a 25 °C (Purdy; Schmidt, 1996; Griffith et al., 2003).

A medida mais segura, de baixo custo e ecologicamente aceita para o manejo da doença é o uso de cultivares resistentes (Alves; Ferreira, 2012; Souza et al., 2014). Porém o ciclo no melhoramento genético da cultura é longo, e a utilização de metodologia que permita fazer avaliações na fase de mudas

é de grande valia para acelerar o processo de seleção de fontes potencialmente resistentes à doença, uma vez que genótipos suscetíveis podem ser descartados precocemente. Nessa linha, Frias et al. (1995) desenvolveram para o cacaueteiro a metodologia de inoculação artificial visando à avaliação, em grande escala, de fontes potencialmente resistentes. A metodologia tem sido utilizada em vários trabalhos para identificação de genótipos de cacaueteiro resistentes à vassoura de bruxa (Frias, 1987; Frias et al., 1991, 1995; Surujdeo-Maharaj, 2004; Benjamin et al., 2014), entre outros. A inoculação é feita depositando-se uma gota (20 μL –30 μL) de suspensão em tecidos suscetíveis do hospedeiro (Lopes et al., 2001; Souza et al., 2009; Benjamin et al., 2014; Pierre et al., 2017). Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar para o cupuaçuzeiro a metodologia de inoculação artificial de *M. perniciosa*, visando auxiliar na seleção precoce de potenciais fontes de resistência à doença vassoura de bruxa.



Foto: Maria Geralda de Souza

Figura 1. Basidiocarpos do fungo *Moniliophthora perniciosa* em vassouras secas de cupuaçuzeiro.

Fotos: Maria Geralda de Souza



Figura 2. Sintomas de vassoura de bruxa: vassoura verde (A) e vassoura seca (B) em plantas de cupuaçuzeiro.

Fotos: Maria Geralda de Souza

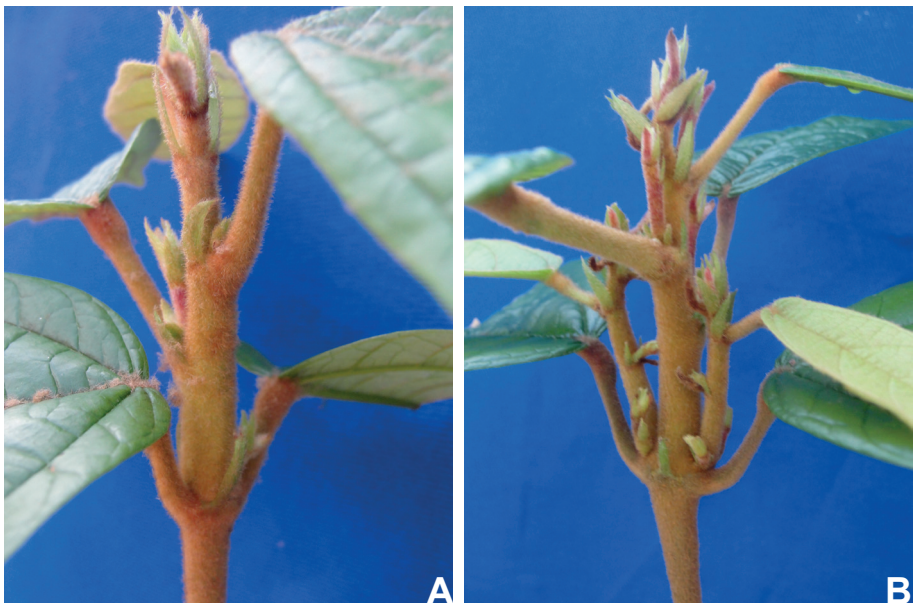


Figura 3. Sintomas de vassoura de bruxa terminal (A); emissão de gema lateral (B) em mudas de cupuaçuzeiro inoculadas.

Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia, no viveiro telado e na casa de vegetação da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, AM. Foram realizados dois experimentos com intervalo de 12 meses. Os tratamentos foram progênies de meios-irmãos oriundas de diferentes acessos do BAG de cupuaçuzeiro da Embrapa Amazônia Ocidental.

No Experimento 1 foram avaliadas 24 progênies de meios-irmãos oriundas dos acessos: 1) N 41–15; 2) D40–8; 3) N21–9; 4) T4–5; 5) P9–10; 6) N29–9; 7) PMA 7; 8) C5–9; 9) D54–1; 10) C15–3; 11) C6–18; 12) C3–20; 13) G10–11; 14) G4–11; 15) CM 15; 16) G3–10; 17) N29–12; 18) P11–2; 19) P7–17; 20) T25–14; 21) T6–7; 22) G5–10; 23) P13–2; e 24) PMA 3.

No Experimento 2 também foram avaliadas 24 progênies de meios-irmãos oriundas dos acessos do BAG de cupuaçuzeiro: 1) P10–7; 2) C7–13; 3) P11–4; 4) PMA 7; 5) C6–7; 6) C8–2; 7) C7–14; 8) C9–19; 9) C4–8; 10) P7–9; 11) C7–17; 12) C10–2; 13) A11–27; 14) A15–18; 15) A11–5; 16) C1–10; 17) C2–4; 18) C4–17; 19) C4–4; 20) C6–13; 21) P12–5; 22) C1–17; 23) C3–4; e 24) CM 15.

Em ambos os experimentos, os acessos PMA 7 e CM 15 foram utilizados como padrão de suscetibilidade e resistência à vassoura de bruxa, respectivamente. O delineamento experimental, em ambos os experimentos, foi o de blocos ao acaso, com 24 tratamentos, 4 repetições e 24 plantas por parcela, totalizando 96 mudas por progênie de meios-irmãos por experimento.

Formação das mudas

As mudas foram formadas por sementes, semeadas diretamente em tubetes plásticos de 100 cm³, preenchidos com substrato comercial Plantmax®. Os tubetes foram mantidos em viveiro telado de 50 m², revestido com sombrite a 50% de sombra (Figura 4).



Figura 4. Semeadura das sementes de progênies de meios-irmãos de cupuaçuzeiro.

Produção de inóculo

Para a obtenção de inóculo (basidiocarpos) do fungo *M. pernicioso*, vassouras-de-bruxa secas foram coletadas em diferentes plantas do BAG de cupuaçuzeiro da Embrapa Amazônia Ocidental. Após imersão em solução de hipoclorito de sódio a 1% por 5 minutos, para desinfestação superficial, essas vassouras foram penduradas em arames galvanizados sob telado com 20 m², totalmente revestido com sombrite a 50% de sombra, com apenas uma porta frontal (vassoureiro) (Figura 5). Nesse ambiente, as vassouras foram mantidas sob alta umidade por irrigação em aspersão e alternância de período de 8 horas de estresse hídrico, com temperatura variando de 24 °C a 26 °C, condições favoráveis para a produção de inóculo, de acordo com Rocha e Wheeler (1985), e com alternância de período seco e úmido. Após 3 meses iniciou-se a produção dos basidiocarpos, com duração de 7 meses, tendo o pico de produção, no Experimento 1, nos meses de maio a junho e no Experimento 2 de maio a julho.



Fotos: Ricardo Pessoa

Figura 5. Vassoureira (A e B) para a indução da produção de inóculo do fungo *Moniliophthora perniciosa*.

Coleta e conservação de basidiósporos

Após a produção de basidiocarpos, estes foram removidos das vassouras, levados para laboratório e imersos em solução de estreptomicina a 1% por 1 minuto; lavados em água destilada por três vezes para eliminar o resíduo químico; logo depois foram colocados em papel-filtro para a eliminação do excesso de umidade. Em seguida, para a indução da liberação dos basidiósporos, os basidiocarpos (somente o píleo) foram afixados na parte interna da tampa da placa de Petri com o auxílio de vaselina, tomando-se o cuidado para que a face himênio do basidiocarpo ficasse voltada para o fundo de um becker de vidro contendo solução de glicerol a 16%, em quantidade suficiente para cobrir o fundo do becker (Figura 6). Logo após, o conjunto de becker com a solução e basidiocarpos afixados foi acomodado sobre fundos de placa de Petri cobertos com papel-filtro umedecido e mantidos em condições de laboratório a 25 °C “*overnight*”, para a liberação dos basidiósporos. Após esse período, a suspensão obtida foi quantificada, utilizando-se câmara de Neubauer para a determinação da concentração de esporos. Uma alíquota de 50 μ L da suspensão foi depositada em meio ágar-água a 2% para os testes de germinação dos esporos. Posteriormente, suspensões cujos percentuais de germinação foram acima de 80% e concentrações superiores a

10^5 esporos/mL foram transferidas, com auxílio de uma pipeta automática, para tubos criogênicos de 2 mL, codificados e armazenados em nitrogênio líquido (Figura 7). Foram feitas coletas de basidiocarpos produzidos em cada vassoura, durante seu período produtivo de 7 meses, com pico de coleta nos meses de maio a julho.

Fotos: Karina Bichara

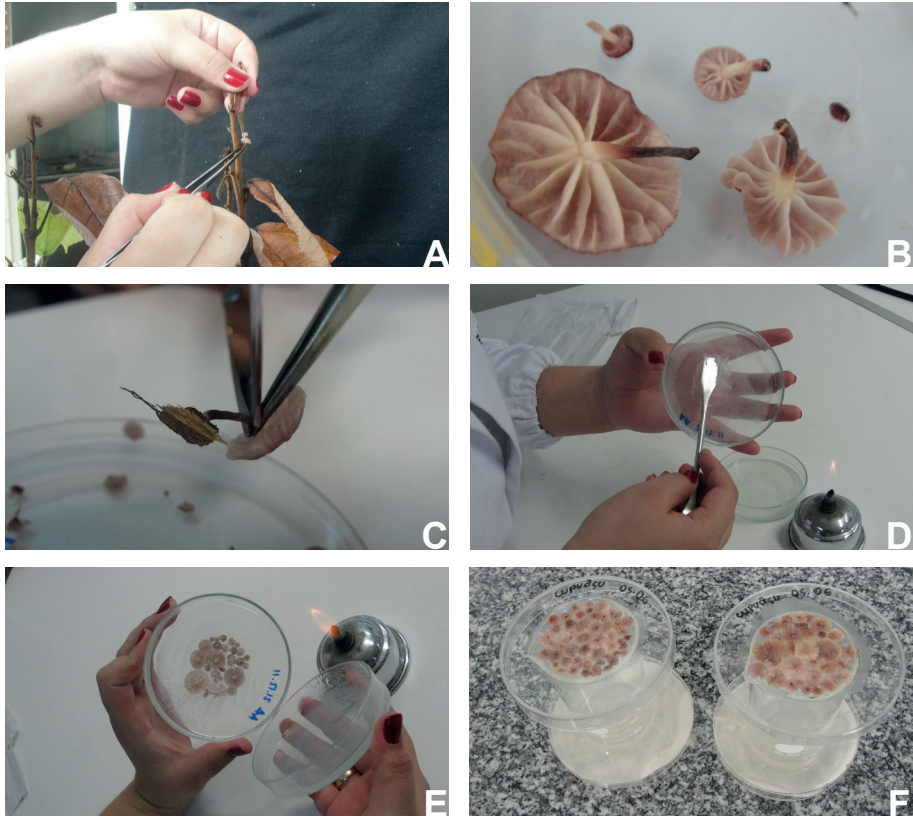


Figura 6. Obtenção do inóculo e remoção dos basidiocarpos da vassoura seca (A); basidiocarpos destacados (B); retirada do estipe (C); fixação do píleo na tampa da placa de Petri (D, E e F) para a liberação dos basidiósporos.



Fotos: Ricardo Pessoa

Figura 7. Armazenamento em nitrogênio líquido (A) de suspensão de esporos; em microtubos de 2 mL, codificados (B).

Inoculação

As mudas ficaram no viveiro telado por 4 semanas, antecedendo a inoculação. Após esse período foram transferidas para a sala de inoculação e, 1 dia antes, tiveram 2/3 do limbo foliar cortado (Figura 8), onde permaneceram por 24 horas sob condições de umidade próxima a 100% e temperatura em torno de 25 °C, para adaptação. Em seguida foram inoculadas com a deposição, na gema apical, de uma gota de 30 µL do meio de cultura ágar-água a 0,03% contendo suspensão de 10^5 /basidiósporos/mL de *M. perniciosa* (Figura 9). Ao término da inoculação, as plantas permaneceram por 48 horas sob as mesmas condições de umidade e temperatura. Findo esse período foram transferidas para casa de vegetação.

Fotos: Maria Geralda de Souza

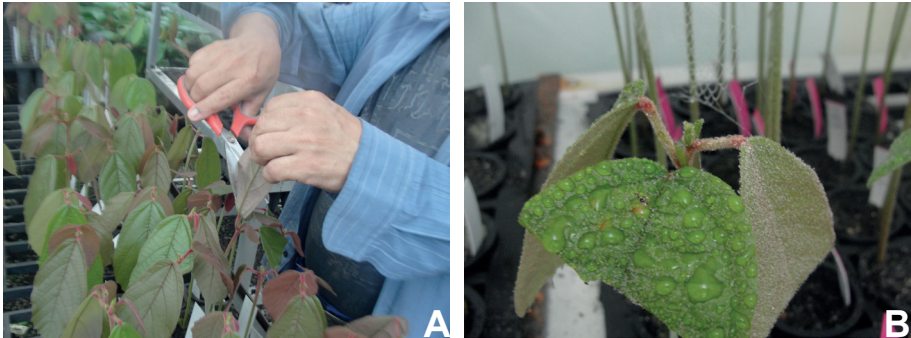


Figura 8. Preparo das mudas para a inoculação: corte de 1/3 das folhas de cupuaçuzeiro (A e B).

Foto: Maria Geralda de Souza



Figura 9. Inoculação das mudas de cupuaçuzeiro com suspensão de basidiósporos de *Monilophthora perniciosa*.

Avaliação da infecção de *M. perniciosa* e análise estatística

Aos 60 dias após a inoculação foi feita a contagem do número de mudas que manifestaram sintoma de VT (Figura 3), sendo escore 1 presença e escore 0 ausência, avaliada em cada tratamento. Os dados coletados foram transformados em $\sqrt{x+1}$ e submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias agrupadas pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade. As análises foram feitas utilizando o software R (R Development Core Team, 2019).

Resultados e Discussão

O comportamento das progênies de meios-irmãos submetidas à inoculação artificial apresentou diferenças significativas ($P < 0,01$), pelo teste F, para a variável manifestação do sintoma de VT, tanto no Experimento 1 como no Experimento 2 (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância das progênies de meios-irmãos de cupuaçuzeiro inoculadas com o fungo *Moniliophthora perniciosa* – Experimento 1 e Experimento 2.

FV	Experimento 1			Experimento 2		
	GL	Valor F	%	GL	Valor F	%
Progênies meios-irmãos	23	9,528**	-	23	3,797**	-
Blocos	3	1,899 ^{NS}	-	3	1,399 ^{NS}	-
Erro	69	-	-	69	-	-
CV	-	-	7,89	-	-	4,8

^{NS}Não significativo. ^{**}Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

De acordo com o teste de Scott-Knott, distinguiram-se potenciais grupos de progênies de meios-irmãos resistentes a *M. perniciosa* de grupos suscetíveis, permitindo a formação de três grupos no Experimento 1 e de dois grupos no Experimento 2 (Tabela 2).

Tabela 2. Médias referentes a manifestação do sintoma vassoura terminal (VT) em mudas de progênies de meios-irmãos de cupuaçuzeiro inoculadas artificialmente com o fungo *Moniliophthora perniciosa*, agente causal da doença vassoura de bruxa.

Experimento 1				Experimento 2			
Tratamento	Médias	Reação		Tratamento	Médias	Reação	
1 N 41–15	0,984	a	S	1 P10–7	0,861	a	S
2 D40–8	0,951	a	S	2 C7–13	0,819	a	S
3 N21–9	0,927	a	S	3 P11–4	0,813	a	S
4 T4–5	0,912	a	S	4 PMA 7	0,796	a	S
5 P9–10	0,905	a	S	5 C6–7	0,789	a	S
6 N29–9	0,903	a	S	6 C8–2	0,773	b	R
7 PMA 7	0,893	a	S	7 C7–14	0,767	b	R
8 C5–9	0,882	a	S	8 C9–19	0,763	b	R

Tabela 2. Continuação.

Experimento 1				Experimento 2			
Tratamento	Médias	Reação		Tratamento	Médias	Reação	
9 D54-1	0,862	b	I	9 C4-8	0,762	b	R
10 C15-3	0,820	b	I	10 P7-9	0,756	b	R
11 C6-18	0,818	b	I	11 C7-17	0,753	b	R
12 C3-20	0,788	c	R	12 C10-2	0,748	b	R
13 G10-11	0,743	c	R	13 A11-27	0,745	b	R
14 G4-11	0,716	c	R	14 A15-18	0,742	b	R
15 CM 15	0,708	c	R	15 A11-5	0,740	b	R
16 G3-10	0,707	c	R	16 C1-10	0,740	b	R
17 N29-12	0,707	c	R	17 C2-4	0,736	b	R
18 P11-2	0,707	c	R	18 C4-17	0,735	b	R
19 P7-17	0,707	c	R	19 C4-4	0,734	b	R
20 T25-14	0,707	c	R	20 C6-13	0,729	b	R
21 T6-7	0,707	c	R	21 P12-5	0,727	b	R
22 G5-10	0,707	c	R	22 C1-17	0,724	b	R
23 P13-2	0,707	c	R	23 C3-4	0,719	b	R
24 PMA 3	0,707	c	R	24 CM 15	0,718	b	R

Médias seguidas da mesma letra na coluna pertencem ao mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

S = Suscetível; R = Resistente; I = Intermediária.

No Experimento 1 (Tabela 2), as progênies N41-15, D40-8, N21-9, T4-5, P9-10, N29-9, PMA 7 e C5-9 foram estatisticamente iguais, tendo, entre elas, a PMA 7, que foi utilizada como referência de suscetibilidade a vassoura de bruxa. Esse grupo apresentou as maiores estimativas de médias quando comparadas às médias das progênies agrupadas e acompanhadas das letras “b” e “a” para manifestação do sintoma VT, sendo, portanto, o grupo de genótipos mais suscetível à doença. As progênies D54-1, C15-3 e C6-18 podem ser consideradas como aquelas com reação de resistência intermediária. Entre as progênies C3-20, G10-11, G4-11, G3-10, N29-12, P11-2, P7-17, T25-14, T6-7, G5-10, P13-2, PMA 3, configura a progênie meio-irmão CM 15, utilizada como referência de resistência a vassoura de bruxa,

e esse grupo apresentou as menores estimativas de médias para a variável VT, sendo, portanto, potencialmente fonte de resistência à doença vassoura de bruxa. No Experimento 2 (Tabela 2), houve a formação de dois grupos de médias, sendo que 19 progênies de meios-irmãos, incluindo a CM 15, pertencentes ao mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott, apresentaram menores médias para manifestação do sintoma VT em função da inoculação, portanto com reação para resistência. Também no Experimento 2, a progênie de meio-irmão PMA 7 ficou no grupo com característica de suscetibilidade, comportamento também apresentado no Experimento 1, testada com outras progênies de meios-irmãos. Com esses resultados, o método de inoculação artificial de *M. perniciosa* em mudas de cupuaçuzeiro, descrito e avaliado neste trabalho, possibilitou discriminar as respostas de progênies de meios-irmãos de cupuaçuzeiro quanto à manifestação do sintoma VT. Essa prática de inoculação artificial é muito importante para uso no programa de melhoramento genético da cultura na busca de potenciais fontes de resistência à doença vassoura de bruxa, especialmente visando ao descarte de material suscetível de forma precoce e proporcionando mais segurança na escolha de genótipos.

Conclusão

A metodologia de inoculação artificial do fungo *M. perniciosa* em cupuaçuzeiro mostrou-se adequada para avaliação de forma precoce de potenciais fontes de resistência à doença vassoura de bruxa, dando mais segurança na escolha de genótipos para uso no programa de melhoramento genético da cultura.

Referências

AIME, M. C.; PHILLIPS-MORA, W. The causal agents of witches' broom and froxy pod rot of cacao (chocolate, *Theobroma cacao*) form a new lineage of marasmiaceae. **Mycologia**, v. 97, n. 5, p. 1012-1022, 2005.

ALVES, R. M.; FERREIRA, F. N. **BRS Carimbó**: nova cultivar de cupuaçuzeiro da Embrapa Amazônia Oriental. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2012. 8 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Comunicado técnico, 232).

BASTOS, C. N. Patogenicidade e características do isolado de *Crinipellis perniciosa* de Uruçuca, Bahia. **Fitopatologia Brasileira**, v. 15, p. 344-346, 1990.

- BASTOS, C. N.; ANDEBRHAN, T. Urucu (*Bixa orellana*): nova espécie hospedeira da vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso*) do cacauero. **Fitopatologia Brasileira**, v. 11, p. 963-965, 1986.
- BENJAMIN, C. S.; LUZ, E. D. M. N.; MONTEIRO, W. R.; SANTOS FILHO, L. P.; SANTOS, W. O. Avaliação de progênies de clones de cacaueros (Série CP) quanto à resistência a *Moniliophthora pernicioso*. **Agrotropica**, v. 26, n. 1, p. 17-26, 2014.
- DE SILVA, N. I. de; LUMYONG, S.; HYDE, K. D.; BULGAKOV, T.; PHILLIPS, A. J. L.; YAN, J. Y. Mycosphere essays 9: defining biotrophs and hemibiotrophs. **Mycosphere**, v. 7, n. 5, p. 545-559, 2016.
- EVANS, H. C. Pleomorphism of *Crinipellis pernicioso* causal agent of witches broom disease of cacao. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 74, n. 3, p. 515-523, 1980.
- FRIAS, G. A. **An inoculation method to evaluate resistance to witches' broom disease of cacao**. 1987. 111 f. Thesis (Ph.D.) – University of Florida, Gainesville, 1987.
- FRIAS, G. A.; PURDY, L. H.; SCHMIDT, R. A. An inoculation for evaluating resistance of cacao to *Crinipellis pernicioso*. **Plant Disease**, v. 79, n. 8, p. 787-791, 1995.
- FRIAS, G. A.; PURDY, L. H.; SCHMIDT, R. A. Infection biology of *Crinipellis pernicioso* on vegetable flushes of cacao. **Plant Disease**, v. 75, n. 6, p. 552-556, 1991.
- GRIFFITH, G. W.; NICHOLSON, J.; NENNINGER, A.; BIRCH, R. N.; HEDGER, J. N. Witches' brooms and frosty pods: two major pathogens of cacao. **New Zeland Journal of Botany**, v. 41, p. 423-435, 2003.
- LOPES, J. R. M.; LUZ, E. D. M. N.; BEZERRA, J. L. Susceptibilidade do cupuaçuzeiro e outras espécies vegetais a isolados de *Crinipellis pernicioso* obtidos de quatro hospedeiros diferentes no sul da Bahia. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 601-605, 2001.
- PEREIRA, J. L.; RAM, A.; FIGUEIREDO, J. M.; ALMEIDA, L. C. C. The first occurrence of witches' broom disease in the principal cocoa growing region of Brazil. **Tropical Agriculture**, v. 67, p. 188-189, 1990.
- PIERRE, S.; GRIFFITH, G. W.; MORPHEW, R. M.; MUR, L. A.; SCOTT, I. M. *Saprotrophic proteomes* of the witches' broom pathogen *Moniliophthora pernicioso*. **Fungal Biology**, v. 121, p. 743-753, 2017.
- PURDY, L. H.; SCHMIDT, R. A. Status of cacao witches' broom: biology, epidemiology and management. **Annual Review of Phytopathology**, v. 34, p. 573-594, 1996.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2019. Disponível em: <http://www.R-project.org/>. Acesso em: 10 nov. 2022.
- ROCHA, H. M.; WHEELER, B. E. J. Factors influencing the production of basidiocarps and the deposition and germination of basidiospores of *Crinipellis pernicioso*, the causal fungus of witches' broom on cocoa (*Theobroma cacao*). **Plant Pathology**, v. 34, n. 3, p. 319-328, 1985.
- SOUZA, A. das G. C. de; SOUZA, M. G. de; SOUSA, N. R.; PAMPLONA, A. M. S. R.; QUISEN, R. C.; BERNI, R. F.; GUIMARAES, R. dos R. **Cultivares de cupuaçuzeiro: clones para o Estado do Amazonas: produtividade: resistência à vassoura-de-bruxa**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2014. Não paginado.

SOUZA, M. G.; SOUZA, A. das G. C.; ARAÚJO, J. C. A.; SOUSA, N. R.; LIMA, R. M. B. **Método para avaliação da severidade da vassoura-de-bruxa do cupuaçuzeiro em condições de campo**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2009. 11 p. (Embrapa Amazônia Ocidental. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 10).

SURUJDEO-MAHARAJ, S.; UMAHARAN, P.; BUTLER, D. R. Assessment of resistance to witches' broom disease in clonal and segregating populations of *Theobroma cacao*. **Plant Disease**, v. 88, n. 8, p. 787-803, 2004.



Amazônia Ocidental

Patrocínio



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



CGPE 017905