

ARTIGO ORIGINAL

Há variabilidade para resistência à Murcha de *Ceratocystis* em variedades locais de cacau na Bahia

Alberto Montejo Diaz¹, Alice Lichs Marssaro², Dilze Maria Argolo Magalhaes³,
Edna Dora Martins Newman Luz³, Ronan Xavier Corrêa⁴

¹Universidade Estadual de Santa Cruz, Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Ilhéus, BA, Brazil. ²Universidade Estadual de Santa Cruz, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Ilhéus, BA, Brazil. ³Centro de Pesquisas do Cacau, Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira, Rod. Jorge Amado, Km 22, CEP45604-811, Ilhéus, BA, Brazil. ⁴Universidade Estadual de Santa Cruz, Centro de Biotecnologia e Genética, Departamento de Ciências Biológicas, Campus da UESC, Rod. Jorge Amado km 16, sn., Bairro Salobrinho, CEP 45662-900, Ilhéus, BA, Brazil.

Autor para correspondência: Ronan Xavier Corrêa (ronanxc@uesc.br)

Data de chegada: 25/11/2020. Aceito para publicação em: 03/05/2023

10.1590/0100-5405/245935

RESUMO

Diaz, A.M.; Marssaro, A.L.; Magalhaes, D.M.A.; Luz, E.D.M.N.; Corrêa, R.X. Há variabilidade para resistência à Murcha de *Ceratocystis* em variedades locais de cacau na Bahia. *Summa Phytopathologica*, v.49, p.1-7, 2023.

As variedades locais de cacau predominantes na Região de Mata Atlântica na Bahia, Brasil, vêm sendo multiplicadas pelos agricultores a partir de mudas produzidas com sementes das plantas mais produtivas. No entanto, essas plantas não têm sido avaliadas quanto à resistência à Murcha de *Ceratocystis*. Desta forma, nesta pesquisa, os níveis de resistência de diferentes genótipos de variedades locais de cacau foram avaliados, visando à sua utilização no melhoramento para resistência a essa doença. Discos foliares de 119 acessos de cacau, localmente denominados de variedade Comum (49 acessos), Maranhão (34) e Pará (36), foram inoculadas com *Ceratocystis*

cacaofunesta. Com base no número médio de peritécios formados nesses discos, foram definidos diferentes grupos genéticos de cacau dentre os genótipos testados por meio do teste de Scott-Knott. As três variedades apresentaram a maioria dos genótipos classificados juntamente com a variedade controle de resistência ('Jaca'), sendo que menos de um terço dos genótipos foram classificados junto com o controle suscetível (CCN51). Conclui-se que há variabilidade para resistência à Murcha de *Ceratocystis* nas variedades locais de cacau, sendo os genótipos resistentes úteis ao melhoramento visando resistência a essa doença.

Palavras-chave: *Ceratocystis cacaofunesta*, melhoramento genético, patógeno, seleção em fazenda, *Theobroma cacao*.

ABSTRACT

Diaz, A.M.; Marssaro, A.L.; Magalhaes, D.M.A.; Luz, E.D.M.N.; Corrêa, R.X. Variability for resistance to *Ceratocystis* wilt among local cacao varieties in Bahia. *Summa Phytopathologica*, v.49, p.1-7, 2023.

The local cacao varieties prevalent in the Atlantic Forest region in Bahia, Brazil, have been multiplied by farmers with seedlings produced by the most productive plants. However, these plants have not been evaluated for resistance to *Ceratocystis* wilt. Thus, in the present study, the resistance levels of different genotypes of local cacao varieties were assessed, aimed at their use in breeding for resistance to this disease. Leaf disks from 119 cacao genotypes, locally named as varieties 'Common' (49 genotypes), 'Maranhão' (34), and 'Pará' (36), were inoculated with *Ceratocystis*

cacaofunesta. Based on the mean number of perithecia formed on those disks, different cacao genetic groups were defined according to the Scott-Knott test. For the three varieties, most genotypes were classified together with the resistance control variety ('Jaca'), while less than one third of the genotypes were classified together with the susceptible control (CCN51). Therefore, there is variability for resistance to *Ceratocystis* wilt among the local cacao varieties, and resistant genotypes will be useful in breeding aimed at resistance to this disease.

Keywords: *Ceratocystis cacaofunesta*, genetic improvement, farm selection, pathogen, *Theobroma cacao*.

Theobroma cacao L. possui uma dispersão ampla na América Latina e conta com populações discretas, consideradas variedades distintas associadas às regiões geográficas de cultivo e de origem. Assim, aqueles originários da parte mais ocidental dos Andes são denominados crioulos, e os originários da parte oriental dos Andes são denominados forasteiros (4, 11). Os forasteiros são responsáveis por 90% do cacau

produzido no Brasil, Equador, Colômbia, e oeste da África, sendo utilizados na produção da maioria do cacau comercializado no mundo (25). A hibridação entre esses dois grupos de cacau deu origem a diversas variedades denominadas de trinitários (28). Alguns exemplos representativos dos trinitários são os clones denominados ICS (*Imperial College Selection*), os quais são considerados suscetíveis à Murcha

de *Ceratocystis* (12). As variedades locais da Bahia originaram-se do grupo dos forasteiros e são consideradas do tipo amelonado; foram distribuídas para vários países da África e vêm sendo cultivadas por dois séculos em áreas de Mata Atlântica da Bahia (31).

Ceratocystis cacaofunesta Engelbr. & T.C. Harr. 2005 é o agente causal da doença Murcha de *Ceratocystis* do cacau. Nativo da América do Sul e da Central, o fungo pertence à classe *sordariomycetes* e ao complexo *Ceratocystis fimbriata* (3, 19). A Murcha de *Ceratocystis* do cacau foi descrita no Brasil, pela primeira vez, na Região Amazônica e encontrada no Sul da Bahia na década de 1990 (5, 6). Essa doença é caracterizada por danificar a planta inteira, não se restringindo aos galhos e frutos (18). Esta peculiar característica da doença tem ocasionado grandes perdas econômicas nas regiões que cultivam o cacau na Venezuela, Trinidad e Tobago e Colômbia (36, 37). Os sintomas ocasionados na planta pelo fungo são escurecimento dos caules e galhos, clorose, murcha das folhas e posterior morte da planta em um período de duas a quatro semanas (10, 34).

A murcha causada por *C. cacaofunesta* deve-se à morte das células do hospedeiro pelo acúmulo de metabólitos secundários (9). O fungo apresenta uma grande produção de enzimas como protease, lignina peroxidase e lactase. Estas enzimas têm sido relacionadas com fungos fitopatogênicos, pois ajudam na degradação da lignina presente no hospedeiro (15, 16, 21). Estudos histopatológicos evidenciam que os sintomas em plantas suscetíveis e resistentes são similares, porém a virulência ou intensidade da infecção é variável entre genótipos de cacau (32). No Estado da Bahia, uma incidência de 30% da doença foi identificada no município de Uruçuca (2). O período curto entre o aparecimento dos sintomas e a morte da planta impossibilita sua recuperação, fazendo com que este fungo apresente uma grave ameaça para regiões produtoras de cacau (17).

Programas de melhoramento por seleção genealógica têm como resultado descendentes muito heterogêneos, requerendo grande esforço de inoculações para seleção de plantas. Além disso, é requerido tempo muito prolongado em um programa de melhoramento desse tipo para gerar híbridos de interesse comercial (1). A seleção clonal é utilizada no melhoramento do cacau desde a década de 1940, e tem aumentado o rendimento e a homogeneidade das plantações por meio da propagação vegetativa de clones de híbridos previamente selecionados (8). No melhoramento para resistência, encontrou-se alta herdabilidade para essa característica em ensaios de progênies sob condições de infecção natural conduzidos por cerca de uma década (39). Portanto, são necessários novos estudos que empreguem métodos de inoculação mais rápidos e práticos como, por exemplo, a inoculação em discos foliares, o que permite avaliar as plantas em qualquer idade e em todos os meses do ano (23). Esse método foi validado como equivalente ao método clássico de inoculação em ramos de plantas adultas no campo, utilizando-se ensaios simultâneos com esses dois métodos (23).

Com a proliferação da Vassoura de bruxa no cacau na década de 1990 (causada por *Moniliophthora perniciosa*), a Região produtora de cacau na Bahia adotou o plantio de clones considerados resistentes como estratégia para combater a doença (27). No entanto, existe pouca informação sobre a origem desses clones, embora se saiba que a Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC) usou 18 progenitores para a criação desses híbridos que foram amplamente distribuídos na Região Cacaueira da Bahia (13, 38). A maioria desses clones originaram-se de seleção local feita por agricultores em suas fazendas em cooperação com pesquisadores (22). Estudos sobre a diversidade genética dessas seleções, baseados em marcadores moleculares, mostraram ampla diversidade existente nas fazendas, evidenciando potencial de encontrar genótipos como fonte promissora para o melhoramento, e com elevada diversidade genética, distinta daquela existente nos bancos de germoplasmas (20).

Considerando-se que as variedades locais são utilizadas em parte dos cultivos de cacau da Bahia, associado ao histórico de distribuição de materiais híbridos aos agricultores, bem como ao fato de que o cacau foi introduzido nessa Região há mais de dois séculos (31), a hipótese da pesquisa foi que existem materiais com diferentes níveis de resistência à Murcha de *Ceratocystis* em cultivos comerciais de variedades locais de cacau. O longo tempo de cultivo e a promoção de cruzamentos entre materiais locais e híbridos provavelmente proporcionam misturas de genes na população. Nesse contexto, objetivou-se descrever os níveis de resistência à Murcha de *Ceratocystis* em diferentes genótipos de cacau provenientes de cultivo comercial de variedades locais de cacau, visando avaliar o potencial de sua utilização no melhoramento para resistência a essa doença.

MATERIAL E MÉTODOS

Material biológico

As árvores amostradas nesse estudo são provenientes da Fazenda Novo Horizonte, localizada em Uruçuca, BA (26). Elas são cultivadas em sistema agroflorestal com árvores nativas denominado cabruca, em plantio estabelecido a partir de mudas seminais, plantadas e manejadas há mais de 30 anos. Nesse plantio, 119 plantas adultas foram selecionadas e tiveram três folhas adultas coletadas de cada árvore, apresentando pecíolo na cor de transição entre verde e marrom. Devido à origem seminal, cada árvore amostrada foi considerada como um genótipo e categorizada por inspeção visual como pertencente a uma das três variedades locais: 49 plantas da variedade localmente denominada de ‘Comum’ (CO), 34 plantas de ‘Maranhão’ (MA) e 36 plantas de ‘Pará’ (PA). Adicionalmente, a variedade mutante Jaca foi utilizada como padrão de resistência, e a variedade clonal CCN-51 foi utilizada como padrão de suscetibilidade, visto que ambas foram previamente avaliadas em ensaios de inoculação por meio de diferentes métodos e com distintos isolados do patógeno (30, 34, 35).

As inoculações foram realizadas com o isolado Cc-20 de *C. cacaofunesta*, pertencente à coleção de *Ceratocystis* da micoteca da seção de fitopatologia do Centro de Pesquisa de Cacau (CEPEC). Esse isolado foi obtido em plantações locais da Bahia e avaliado previamente como um dos mais virulentos (35).

Avaliação da resistência à Murcha de *Ceratocystis*

A avaliação indireta da resistência à Murcha de *Ceratocystis* foi realizada por meio da técnica de inoculação de discos foliares com pequenas modificações (23). As folhas coletadas em campo foram selecionadas visualmente por se apresentarem fisiologicamente ativas e sem lesões ou depósitos de sujeira. No laboratório, as folhas foram lavadas com água destilada para remover eventuais contaminantes e foram cortadas em discos com diâmetro de 1,5 cm. Os discos foliares foram distribuídos sobre espuma umedecida com água, com a superfície abaxial voltada para cima. As camadas de espuma foram previamente ajustadas para caberem em caixas plásticas (32,5cm X 22,0cm), e umedecidas por imersão em água destilada. Para cada planta, foram cortados 40 discos foliares, os quais foram distribuídos em 4 fileiras de discos, cada fileira disposta em uma caixa diferente, totalizando 12 fileiras (12 genótipos) por caixa. As caixas foram vedadas para formação de câmara úmida, visando oferecer as condições de umidade adequadas ao desenvolvimento do fungo. Cada disco foliar foi inoculado com 20 µL da suspensão aquosa de esporos do isolado Cc-20 de *C. cacaofunesta*, na concentração de 3×10^4 UFC/mL. As caixas foram mantidas no escuro durante quatro dias, em salas com

temperatura média de 25 °C. Após esse período de incubação, o número de peritécios formados em cada disco foliar foi contado com auxílio de uma lupa trinocular (mod. IBD-45T).

As avaliações dos 119 genótipos ocorreram em 11 lotes de plantas, isto é, com 11 datas diferentes. Cada lote foi composto de quatro caixas contendo os dois controles ('Jaca' e 'CCN51') e os 10 genótipos distintos de variedades locais. Este tamanho de ensaio foi adequado para ser conduzido por um profissional treinado, iniciando novo lote em data que não se sobreponha às atividades de avaliação do lote anterior.

Análises estatísticas

Os valores médios de peritécios formados por genótipo foram submetidos à análise de variância, considerando-se quatro blocos casualizados, em que cada caixa representou um bloco. Para uma distinção adequada da resistência dos genótipos avaliados, foi realizado o teste estatístico de Scott-Knott, baseado na razão de verossimilhança para testar a significância de um número n de tratamentos que podem ser agrupados em dois ou mais grupos (29).

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa SISVAR, com base nos 119 genótipos de variedades locais e nos dois clones controle. Inicialmente, apenas os controles ('CCN51', suscetível; e 'Jaca', resistente) foram submetidos à ANOVA e ao teste Scott-Knott com os seguintes propósitos: (i) investigar se foi observado efeito no dia de inoculação entre os 11 diferentes lotes (com datas diferentes de inoculação); (ii) certificar-se de que a aplicação da técnica transcorreu como previsto, isto é, se os dois controles diferiram estatisticamente quanto às médias de índice de doença; (iii) explicitar agrupamentos de lotes experimentais homogêneos para as análises subsequentes, caso ocorresse efeito no dia. Após essa análise inicial, foi realizada a análise conjunta de controle e variedades locais dentro de cada grupo de lotes experimentais homogêneos, por meio da ANOVA, e aplicado o teste Scott-Knott. Portanto, a análise conjunta dentro dos subgrupos homogêneos foi realizada para classificar os genótipos testados em relação aos respectivos controles experimentais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base na contagem de peritécios formados de *C. cacaofunesta* formados nos discos foliares, foi avaliada a resistência dos 119 genótipos de variedades locais de cacauzeiros. Verificou-se pela ANOVA que há diferenças significativas ($p=0,0001$) entre os dois genótipos utilizados como controle resistente ('Jaca') e controle suscetível ('CCN51') em cada lote de inoculação, quando inoculados com *C. cacaofunesta* (Tabela 1). Isto está de acordo com o relatado nos artigos que os recomendam como padrões de resistência e suscetibilidade (30, 34). Adicionalmente, não houve efeito de blocos (inoculações feitas em

caixas diferentes), indicando que as condições experimentais em cada dia de inoculação foram homogêneas. Isso assegura que as diferenças detectadas entre genótipos de variedades locais, testados em cada um desses lotes, são devidas unicamente às diferenças quanto ao nível de resistência a essa doença. No entanto, houve diferença estatística entre as datas de inoculação, lotes de plantas, pois a variação entre as médias de números de peritécios formados nos controles foi alta.

Considerando que foi utilizado o mesmo isolado fúngico nas diferentes datas de inoculação, realizadas em condições laboratoriais controladas, e que o teste de viabilidade de inóculo em cada data demonstrou homogeneidade na formação de peritécios, infere-se que essas diferenças podem ter-se originado de mudanças no estado fisiológico das folhas coletadas em diferentes datas no campo ou por causas aleatórias. Para evitar que essa provável diferença afetasse a classificação dos níveis de resistência dos genótipos em relação aos controles ('Jaca' e 'CCN51'), o resultado da análise estatística para essas duas variedades foi utilizado na definição de grupos experimentais homogêneos. Desse modo, entre os 11 lotes de plantas, quatro grupos estatisticamente diferentes foram gerados (Tabela 2). As análises estatísticas das médias dos genótipos de variedades locais foram, portanto, realizadas em quatro grupos experimentais para a classificação dos genótipos desconhecidos em relação aos dois controles.

Dentro de cada grupo experimental homogêneo foi demonstrado que houve diferença significativa ($p=0,0001$) entre os genótipos pelo teste F (Tabela 3). Ao agrupar os genótipos com base no teste Scott-Knott, levando em conta as médias de peritécios formados nos discos de folhas, demonstrou-se que há genótipos de variedade local de cacau com médias inferiores ou iguais à variedade controle resistente 'Jaca', bem como genótipos com médias iguais ao controle suscetível 'CCN51'. Com esses resultados foi possível identificar as plantas com padrão semelhante ao controle resistente, bem como plantas semelhantes ao suscetível. Além disso, foram identificados genótipos que apresentaram número de peritécios formados significativamente inferior ao controle resistente. Ao selecionar os genótipos com médias inferiores ou iguais estatisticamente ao controle resistente, foram identificadas 86 plantas resistentes para o primeiro ciclo de seleção. No entanto, a combinação dessa seleção com os resultados prévios da resistência à Vassoura de bruxa (24), na busca de resistência a múltiplas doenças, levou à redução do número total de plantas selecionadas.

Ao observar a distribuição dos genótipos quanto aos níveis de resistência em relação às denominações de variedades locais (CO, MA e PA), comprovou-se que existem indivíduos resistentes dentro de cada variedade (Figura 1). Considerando como resistentes aqueles genótipos cuja contagem de peritécios aponta para valores menores ou iguais à variedade Jaca, observa-se que a percentagem de plantas resistentes foi maior que a de plantas suscetíveis nas três variedades (Figura 1B).

Tabela 1. Análise de variância de número de peritécios formados de *Ceratocystis cacaofunesta* em discos de folhas de cacauzeiros controle (variedade resistente Jaca; clone suscetível CCN51) realizados em 11 datas diferentes

| Fonte de variação | Graus de liberdade | Soma dos Quadrados | Quadrado médio | Fc | Pr>Fc |
|-------------------|--------------------|--------------------|----------------|--------|--------|
| Genótipo | 1 | 7648,3655 | 7648,3655 | 51,358 | 0,0000 |
| Dia | 10 | 16589,5482 | 1658,9548 | 11,140 | 0,0000 |
| Bloco | 3 | 134,2459 | 44,7486 | 0,300 | 0,8251 |
| Erro | 73 | 10871,3636 | 148,9228 | | |
| Total corrigido | 87 | 35243,5232 | | | |
| % CV | 53,57 | | | | |
| Média geral | 22,78 | | | | |

Fonte: dados desta pesquisa.

Tabela 2. Comparação das médias de número de peritécios de *Ceratocystis cacaofunesta* contabilizados em discos foliares de cacaueiros utilizados como controle experimental, em diferentes lotes (datas) de inoculação

| Lote | Média | *SK |
|------|-------|-----|
| 5 | 2,08 | a |
| 3 | 6,05 | a |
| 9 | 12,19 | b |
| 11 | 16,05 | b |
| 8 | 17,40 | b |
| 6 | 18,49 | b |
| 2 | 26,03 | c |
| 10 | 29,74 | c |
| 7 | 31,86 | c |
| 4 | 45,32 | d |
| 1 | 45,38 | d |

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5%.

Fonte: dados desta pesquisa.

Dentre estas, MA apresentou maior número de plantas resistentes à Murcha de *Ceratocystis* no presente trabalho, como também nos estudos prévios de resistência à Vassoura de bruxa do cacaueiro (24). Parte desses genótipos, quando previamente analisados quanto à resistência à Podridão parda (causada por *Phytophthora palmivora*) e genotipados com marcadores moleculares, apresentou diversidade genética molecular dentro dos grupos resistentes e suscetíveis à podridão parda, bem como dentro de cada uma das três variedades (26). Portanto, há diversidade genética e variabilidade para grau de resistência às doenças dentro das variedades locais, o que as habilita para seleção, visando ao melhoramento para resistência intravarietal à Murcha de *Ceratocystis*, Podridão parda e Vassoura de bruxa.

A avaliação para resistência a *C. cacaofunesta* nos 119 genótipos testados provou que existem plantas nas populações de variedades locais com resistência, e que ainda não havia sido estudadas. Esses resultados são de grande relevância, pois estudos anteriores (30, 33) mostraram suscetibilidade de alguns clones que são amplamente utilizados na Região, como, por exemplo, o CEPEC-2009, CCN-51, CCN-10, PH-16, SJ-02. Existem clones como CEPEC-2002, PS-1319 e TSH-

1188, previamente descritos como resistentes a esse fungo (30, 33), já sendo plantados na Região. No entanto, a procura por maior número de genótipos de cacaueiro que possam ser utilizados como novas fontes de resistência é primordial para o programa de melhoramento, especialmente se estes genótipos provêm de populações melhoradas para produção e outras caracteres, e perfeitamente adaptadas ao local de plantio. Isto contribuiria para diminuir etapas do programa de melhoramento.

Menos de um terço das plantas avaliadas apresentaram padrão semelhante ao do controle suscetível (Figura 1B). Há uma baixa densidade de plantas na fazenda onde as plantas foram amostradas se localizam, o que é consequência da morte de plantas durante os anos secos (algumas áreas têm solo raso). Mortes por Murcha de *Ceratocystis* também ocorreram nesta fazenda: várias plantas sintomáticas foram detectadas durante o período de coletas para esta pesquisa. Portanto, essa baixa proporção de plantas com padrão suscetível presentemente encontrada pode ser resultado de sucessivas reduções no *stand*, com eliminação natural preferencial de plantas suscetíveis ao patógeno, uma vez que essa área foi plantada há mais de 30 anos. Sabe-se também que os primeiros relatos da ocorrência da Murcha de *Ceratocystis* na Região datam da década dos anos 90 do século passado (6, 7), sendo assim, a pressão de seleção pelo patógeno já ocorre na Região por pelo menos duas décadas. A infecção natural por *C. cacaofunesta* foi utilizada em uma área experimental da CEPLAC como estratégia para seleção de plantas resistentes à Murcha de *Ceratocystis* (39).

A existência de plantas resistentes nessas três variedades estudadas tem um significado prático muito importante: possibilita realizar melhoramento dentro de cada variedade. Os programas de melhoramento genético do cacaueiro necessitam de genótipos com variabilidade genética e com características de qualidade das amêndoas, produtividade, resistência às doenças dentre outras características (14), razão da importância dos resultados ora apresentados.

Dentre as amostras foliares de plantas de CCN51, algumas foram classificadas no mesmo grupo de algumas plantas 'Jaca' na análise conjunta dos controles experimentais nos 11 lotes de inoculação. Isso pode ter sido causado por diferenças fisiológicas existentes nas folhas utilizadas nos diferentes lotes de inoculação, uma vez que, o estágio de desenvolvimento das folhas é um dos fatores primordiais para o sucesso das inoculações pelo método de discos foliares (23). No entanto, ao considerar os valores médios dos genótipos dentro dos subgrupos definidos a partir dessa análise dos controles, foi possível inferir claramente os grupos que representam diferentes níveis de resistência ao isolado Cc-20 de *C. cacaofunesta*. Ensaios de inoculação dos genótipos

Tabela 3. Análise de variância das médias de peritécios formados de *Ceratocystis cacaofunesta* em discos foliares de cacaueiros controle e genótipos de variedades locais em cada grupo experimental (GE)

| Fonte de variação | GL | GE1 | GL | GE2 | GL | GE3 | GL | GE4 |
|------------------------|----|-------|-----|-------|-----|-------|----|-------|
| Genótipo | 24 | * | 51 | * | 51 | * | 23 | * |
| Bloco | 3 | .n.s | 3 | .n.s | 3 | .n.s | 3 | .n.s |
| Erro | 72 | . | 153 | . | 189 | . | 69 | . |
| Total corrigido | 99 | . | 207 | . | 243 | . | 95 | . |
| % CV | . | 60,53 | . | 43,53 | . | 44,36 | . | 37,32 |
| Média geral | . | 4,28 | . | 18,70 | . | 14,14 | . | 27,28 |
| Média dos selecionados | . | 2,55 | . | 11,44 | . | 5,16 | . | 12,03 |

GL grau de liberdade; * significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F; n.s. não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F. GE1 a GE4 correspondem aos subconjuntos de lotes de inoculação, definidos como a até d na Tabela 2, respectivamente. Média dos selecionados, isto é, dos genótipos que apresentaram índice de doença menor ou igual ao controle resistente 'Jaca'.

Fonte: dados desta pesquisa.

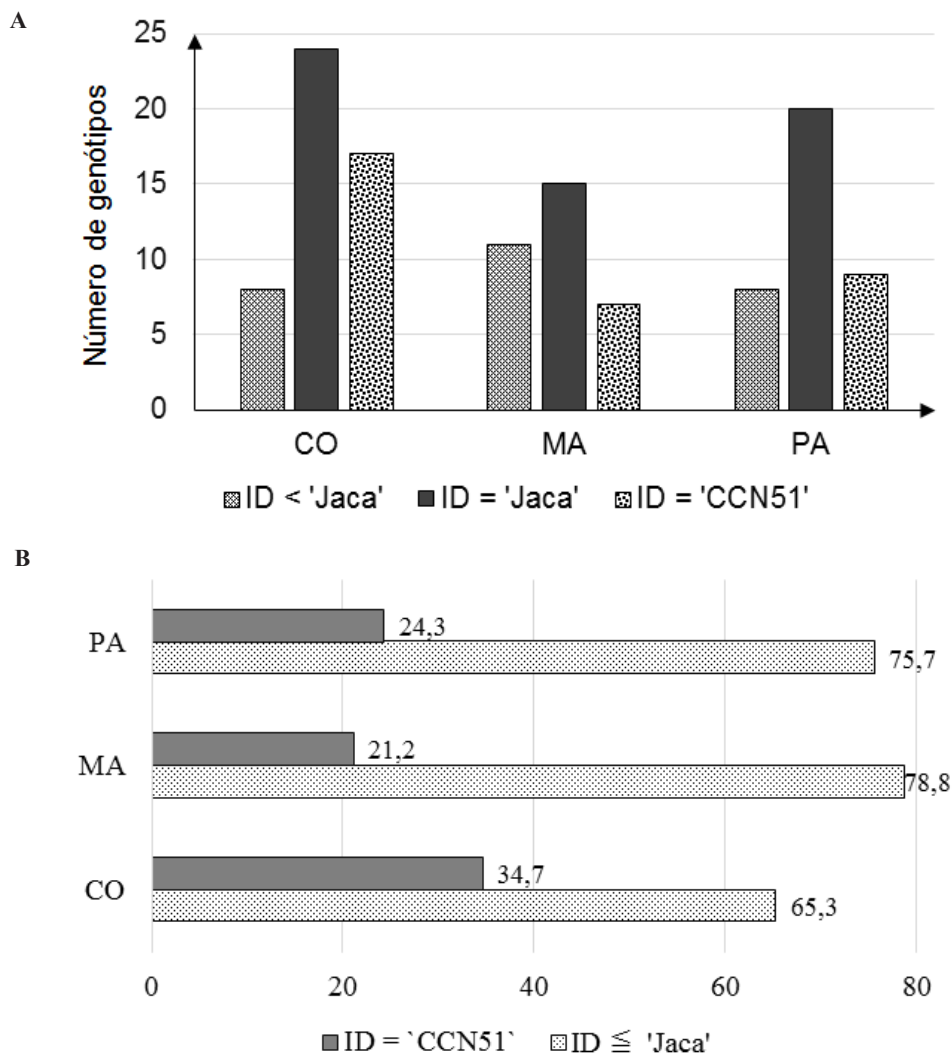


Figura 1. Distribuição das plantas de cada variedade local de cacau por grupo de intensidade de doença (ID) em relação aos controles resistente ('Jaca') e suscetível ('CCN51'). A) Número de genótipos por variedade e por semelhança de ID com os controles. B) Porcentagem de plantas consideradas resistentes (ID ≤ 'Jaca') e suscetíveis (ID = 'CCN51') por variedade. Os grupos de ID diferem significativamente entre si pelo teste a Scott-Knott a 5% de probabilidade. As variedades locais são denominadas Comum (CO), Maranhão (MA) e Pará (PA).
Fonte: dados desta pesquisa.

selecionados, utilizando-se diferentes isolados desse patógeno, serão úteis para comprovar a resistência desses genótipos aos isolados de *C. cacaoifunesta* presentes nesta Região.

Como as variedades MA, CO e PA foram introduzidas há mais de dois séculos na Região Cacaueira de Mata Atlântica da Bahia, estas estão aclimatadas às condições locais de cultivo, além de serem consideradas pelos agricultores como produtivas. Por causa disso, elas têm um grande potencial para formar parte de um programa de melhoramento focado na resistência à Murcha de *Ceratocystis* (31).

A variação nos níveis de resistência à Murcha de *Ceratocystis*, encontrada dentro de cada variedade local amostrada, comprova a viabilidade para realizar melhoramento genético dessas variedades. Os genótipos de cacau analisados que se mostraram resistentes à Murcha de *Ceratocystis* são úteis como fonte de resistência para desenvolvimento de cultivares adaptados às condições climáticas e agronômicas da Bahia. Portanto, recomenda-se que os genótipos resistentes, identificados em cada uma das três variedades locais de cacau da Bahia, sejam utilizados

para constituir as populações de melhoramento genético e conservação de germoplasma.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos aos proprietários da Fazenda Novo Horizonte, especialmente ao Prof. Luiz Augusto Grimaldi Sampaio, pela autorização da coleta das amostras foliares. Agradecem também ao Centro de Pesquisas do Cacau, pelo uso do laboratório de *Ceratocystis* na etapa das inoculações. Esta pesquisa foi financiada pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq do Brasil (Processo 309841/2015-1), e o primeiro autor recebeu a bolsa de doutorado financiada pelo Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología – CONACYT do México (Processo 32709/382417).

REFERÊNCIAS

- Agama, J. **Selección de progenies y plantas elites de cacao (*Theobroma cacao* L.), mediante la evaluación de características agronómicas y de resistencia a enfermedades**. Teses (Engenheiro Agrônomo) - Faculdade de Ciências Agrícolas, Universidad Central de Ecuador, 2005.
- Almeida, L.C.C.; Costa, A.Z.M.; Lopes, J.R.M.; Bezerra, J.L. Distribuição geográfica da Murcha de *Ceratocystis* do cacau na Bahia, Brasil. **Agrotropica**, São Paulo, v.17, p.83-86, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/172774>
- Baker, C.J.; Harrington, T.C.; Krauss, U.; Alfenas, A.C. Genetic variability and host specialization in the Latin American clade of *Ceratocystis fimbriata*. **Phytopathology**, Miami, v.93, n.10, p.1274-1284, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.10.1274>.
- Bartley, B.G.D. A review of cocoa improvement: fundamentals, methods and results. In: International Workshop on Cocoa Breeding Strategies, Kuala Lumpur, 1994. **Proceedings**. Kuala Lumpur: INGENIC, 1994. p.3-16.
- Bastos, C.N.; Evans, H.C. Ocorrência de *Ceratocystis fimbriata* Ell. & Halst. na Região Amazônica Brasileira. **Acta Amazônica**, Manaus, v.8, p.543-544, 1978. DOI: <https://doi.org/10.1590/1809-43921978084543>.
- Bezerra, J.L. *Ceratocystis fimbriata* causing death of budded cocoa seedlings in Bahia, Brazil. **Incoped News**, Ghana, v.1, p.6, 1997.
- Bezerra, J.L.; Almeida, O.C.; Luz, E.D.M.; Silva, S.D.V.M. Ocorrência de *Ceratocystis fimbriata* em clones de cacau no estado da Bahia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.23, p.228, 1998.
- Bowman, G. Desarrollo de plantaciones clonales de cacao con material superior. **Cocoa Information Bulletin**, Trinidad y Tobago, v.1, p.1-4, 1947.
- Coleman, J.J.; White, G.J.; Rodriguez-Carres, M.; Vanetten, H.D. An ABC transporter and a cytochrome P450 of *Nectria haematococca* MPVI Are virulence factors on Pea and Are the major tolerance mechanisms. **Molecular Plant-Microbe Interactions Journal**, Eagan, v.24, p.368, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1094/MPMI-09-10-0198>.
- Delgado, R.; Suárez, C. Diferencias em agressividade entre aislamientos de *Ceratocystis fimbriata* de Ecuador y Brasil en cacao. In: Seminário Nacional de Sanidad Vegetal, 12., 2003, Latacunga. **Anais**. Latacunga: INIAP, 2003. v.8, p.19-21.
- Efombagn, M.I.B.; Sounigo, O.; Eskes, A.B.; Motamayor, J.C.; Manzaneres-Dauleux, M.J.; Schnell, R.; Nyassé, S. Parentage analysis and outcrossing patterns in cacao (*Theobroma cacao* L.) farms in Cameroon. **Heredity**, London, v.103, p.46-53, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1038/hdy.2009.30>.
- Engelbrecht, B.C.J.; Harrington, G.T. Intersterility, morphology and taxonomy of *Ceratocystis fimbriata* on sweet potato, cacao and sycamore. **Mycologia**, Lawrence, v.97, p.57-69, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1080/15572536.2006.11832839>.
- Faleiro, F.G.; Lopes, U.V.; Yamada M.M.; Melo, G.R.P.; Pires, J.L.; Rocha, J.B.; Bahia, R.C.S.; Gomes, L.M.C.; Araujo, I.S.; Faleiro, A.S.G. Genetic diversity of cacao accessions selected for resistance to witches' broom disease based on RAPD markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Brasília, DF, v.4, p.12-17, 2004. DOI: <https://doi.org/10.12702/1984-7033.v04n01a03>.
- Fariñas, L.G.; Bertorelli, L.O.; Angulo, J.; Parra, P. Características físicas del fruto de cacao tipos criollo, forastero y trinitario de la localidad de cumboto, Venezuela. **Agronomía Tropical**, Maracay, v.52, p.3, 2002. Disponível em: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0002-192X2002000300006. Acesso em: 15 Jan 2021.
- Firmino, A.C.; Furtado, E.L. Produção de enzimas extracelulares por *Ceratocystis* spp. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v.40, p.371-374, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/0100-5405/1986>.
- Giese, E.G.; Covizzi, L.G.; Dekker, R.F.H.; Barbosa, A.M. Influência de Tween na produção de lacases constitutivas e indutivas pelo *Botryosphaeria* sp. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, Londrina, v.26, p.463-470, 2004. DOI: <https://doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v26i4.1536>.
- Harrington, T.C.; Thorpe, D.J.; Alfenas, A.C. Genetic variation and variation in aggressiveness to native and exotic hosts among Brazilian populations of *Ceratocystis fimbriata*. **Phytopathology**, Miami, v.101, p.555-66, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-10-0228>.
- Harrington, T.C. Host specialization and speciation in the American wilt pathogen *Ceratocystis fimbriata*. **Fitopatologia Brasileira**, Viçosa, v.25, p.262-263, 2000. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/285968864_Host_specialization_and_speciation_in_the_American_wilt_pathogen_Ceratocystis_fimbriata. Acesso em: 15 Jan 2021.
- Johnson, J.A.; Harrington, T.C.; Engelbrecht, C.J.B. Phylogeny and taxonomy of the North American clade of *Ceratocystis fimbriata*. **Mycologia**, Lawrence, v.97, p.1067-1092, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1080/15572536.2006.11832756>
- Leal, J.B.; Santos, L.M.; Santos, C.A.P.; Pires, J.L.; Ahnert, D.; Correa, R.X. Diversidade genética entre acessos de cacau de fazendas e de banco de germoplasma na Bahia. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.43, p.851-858, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2008000700009>.
- Leonowicz, A.; Chon, N.S.; Luterek, J.; Jarosz-Wilkolazka, A.; Wojtas-Wasilewska, M.; Matuszewska, A.; Höflicher, M.; Dobritsch, D.; Rogalki, J. Fungal laccase: properties and activity on lignin. **Journal Basic Microbiology**, Berlin, v.41, p.185-227, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1002/1521-4028\(200107\)41:3/4<185::AID-JOBM185>3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/1521-4028(200107)41:3/4<185::AID-JOBM185>3.0.CO;2-T).
- Lopes, U.V.; Monteir, W.R.; Pires, J.L.; Rocha, J.B.; Pinto, L.R.M. On farm selection for witches' broom resistance in Bahia, Brazil: a historical retrospective. **Agrotropica**, São Paulo, v.16, p.61-66, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1984-70332011000500011>.
- Magalhães, D.M.A.; Luz, E.D.N.; Lopes, U.V.; Niella, A.R.R.; Damaceno, V.O. Leaf disc method for screening *Ceratocystis* wilt resistance in cacao. **Tropical Plant Pathology**. Viçosa, v.41, p.155-161, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40858-016-0081-9>.
- Marssaro, A.L.; Diaz, A.M.; Montañó-Orellana, V.M.; Luz, E.D.N.; Corrêa, R.X. Resistance to witches' broom in adult plants and progeny of local varieties of cacao in Southern Bahia. **Bragantia**, Campinas, v.79, n.4, p.421-432, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1678-4499.20200341>.
- Motamayor, J.C.; Lechenaud, F.; Silva e Mota, J.W.; Loor, R.; Kuhn, D.N.; Brown, S.; Schnell, R.J. Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree (*Theobroma cacao* L.). **Plos One**, San Diego, v.3, p.3311, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003311>.
- Mucherino, J.J.M.; Melo, C.A.F.; Silva, R.J.S.; Luz, E.D.M.N.; Corrêa, R.X. Structural and Functional Genomics of the Resistance of Cacao to *Phytophthora palmivora*. **Pathogens**, Brasília, DF, p.961, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/pathogens10080961>.
- Pereira, A.B. Melhoramento clonal. In: Dias, L.A.S. **Melhoramento genético do cacauero**. Goiânia: Funape, 2001. p.361-384.
- Powis, T.G.; Cyphers, A.; Gaikwad, N.W.; Grivetti, L.; Cheong, K. Cacao use and the San Lorenzo Olmec. **Proceedings of the National Academy of Science of the U.S.A.**, New Haven, v.108, p.8595-8600, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1100620108>
- Ramalho, M.A.P.; Ferreira, D.F.; Oliveira, A.C. **A experimentação em genética e melhoramento de plantas**. Lavras: UFLA, 2000.
- Sanches, C.L.G.; Pinto, L.R.M.; Pomella, A.W.V.; Silva, S.D.V.M.; Loguerio, L.L. Assessment of resistance to *Ceratocystis cacaofumesta* in cacao genotypes. **European Journal of Plant Pathology**, Berlin, v.122, p.517-528, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9319-9>.
- Santos, E.S.L.; Cerqueira-Silva, C.B.M.; Mori, G.M.; Ahnert, D. Mello, D.L.N.; Pires, J.L.; Corrêa, R.X.; Sousa, A.P. Genetic structure and molecular diversity of cacao plants established as local varieties for more than two centuries: the genetic, history of cacao plantations in Bahia, Brazil. **Plos One**, San Francisco, v.10, p.1371, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145276>
- Santos, R.M.F.; Silva, S.D.V.M.; Sena, K.; Micheli, F.; Gramacho, K.P. Kinetics and histopathology of the cacao-*Ceratocystis cacaofumesta* interaction. **Tropical Plant Biology**, Brasília, DF, v.6, p.37-45, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12042-012-9115-8>
- Silva, S.D.V.M.; Pinto, L.R.; Oliveira, B.F.; Damaceto, V.O.; Pires, J.L.; Dias, C.T.D.S. Resistência de progênies de cacauero à Murcha de *Ceratocystis*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v.37, p.191-195, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1982-56762012000300005>.
- Silva, S.D.V.M.; Paim, M.C.; Castro, W.M. Cacau "Jaca" Resistente a *Ceratocystis fimbriata* na Região Cacaueira da Bahia, Brasil. **Agrotropica**, Ilhéus, v.29, p.538-540, 2004. DOI: <https://doi.org/10.21757/0103-3816.2019v31n1p27-36>.
- Silva, S.D.V.M.; Mandarino, E.P.; Damaceno, V.O.; Filho, L.P.S. Reaction of cocoa genotypes to isolates of *Ceratocystis cacaofumesta*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.32, p.6, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-41582007000600009>.
- Spence, J.L. Preliminary observations on a wilt condition of cocoa. **Journal of the Agricultural Society of Trinidad and Tobago**, Weinheim, v.58, p.349-359, 1958.
- Thorold, C.A. **Diseases of cocoa**. 12th ed. Oxford: Clarendon Press, 1975. 423p.
- Yamada, M.M.; Pires, J.L.; Lopes, U.V.; Flores, A.B.; Melo, G.R.P. Di-

versidade e origem de seleções de cacau (*Theobroma cacao* L.) feitas em fazendas para resistência à vassoura-de-bruxa. In: Congresso Brasileiro De Melhoramento De Plantas, 3., 2003, Porto Seguro. **Anais**. Porto Seguro: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2003.

39. Yamada, M.M.; Faleiro, F.G.; Lopes, U.V.; Pires, J.L. Genetic parameters and resistance of cacao progenies to *Ceratocystis* wilt under natural infection. **Agrotropica**, Ilhéus, v.27, p.215-218, 2015. DOI: <https://doi.org/10.21757/0103-3816.2015v27n3p215-218>

Editor associado para este artigo: Luadir Gasparotto