

MARIA EDUARDA DA SILVA GUIMARÃES

AVALIAÇÃO GENÉTICA DE ACESSOS DE CACAUEIROS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Master Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2016

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

G963a
2016
Guimarães, Maria Eduarda da Silva, 1990-
Avaliação genética de acessos de cacauzeiros / Maria
Eduarda da Silva Guimarães. - Viçosa, MG, 2016.
ix, 52f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndice.

Orientador : Luiz Antônio dos Santos Dias.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Cacauzeiro - Melhoramento genético. 2. *Theobroma
cacao* L. 3. Cacauzeiro - Diversidade genética. 4. Bacias
hidrográficas. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Fitotecnia. Programa de pós-graduação
em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22 ed. 633.743

MARIA EDUARDA DA SILVA GUIMARÃES

AVALIAÇÃO GENÉTICA DE ACESSOS DE CACAUEIROS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Master Scientiae*.

APROVADA: 27 de julho de 2016.

Alúizio Borém de Oliveira

Carlos Alberto Spaggiari Souza

Caio Márcio Vasconcellos Cordeiro de Almeida

Luiz Antônio dos Santos Dias
(Orientador)

Aos meus queridos pais
Joaquim Cristina da Silva
e Vitória de Freitas Souza da Silva,
ao meu irmão Maxuel de Freitas Silva,
DEDICO.

Ao grande amor da minha vida
meu marido Julio César Abranches Guimarães,
OFEREÇO.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela presença constante em minha vida.

À toda minha família, em especial o meu marido Julio César Abranches Guimarães, que está ao meu lado há nove anos, me apoiando e aconselhando em todos os momentos e que contribuiu muito para o meu mestrado. A minha mãe Vitória de Freitas da Silva, o meu pai Joaquim Cristina da Silva e meu irmão Maxuel de Freitas da Silva, pelo apoio.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pela oportunidade de realizar este curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG), pelos recursos concedidos.

À Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), pelos dados e recursos concedidos.

Ao Professor Luiz Antônio dos Santos Dias, pela amizade, presteza, pelos ensinamentos, conselhos e orientação dedicados.

Ao Doutor e Professor Caio Márcio Vasconcellos Cordeiro de Almeida, pelos dados e informações concedidos, pelas sugestões e pelo incentivo.

Ao Doutor Carlos Alberto Spaggiari Souza por ter despendido esforços vindo de tão longe para a minha defesa.

Ao Professor Aluizio Borém de Oliveira (UFV), pela presteza e pelas sugestões apresentadas.

Aos Professores Felipe Lopes da Silva e Carlos Nick Gomes e ao Doutor Marco Antônio Galeas Aguilar pela presteza.

Aos amigos do Laboratório de Melhoramento de Oleaginosas.

Às queridas amigas: Claryssa, Fabiana, Françoise, Suelen e Martha, pela amizade, presteza, conversas, conselhos e incentivo nos momentos de dificuldades.

Enfim, a todos aqueles que contribuíram de alguma forma, para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

MARIA EDUARDA DA SILVA GUIMARÃES, filha de Joaquim Cristina da Silva e Vitória de Freitas da Silva, nasceu em 06 de abril de 1990, no município de Guaraciaba, MG. Concluiu o ensino médio em 2007, na Escola Estadual José Mateus de Vasconcelos, em Guaraciaba, MG. Em março de 2010 ingressou no curso de Agronomia na Universidade Federal de Viçosa (UFV). Durante a graduação, foi bolsista de Iniciação Científica no Departamento de Solos-UFV. Concluiu o curso em agosto de 2014, e em agosto do mesmo ano ingressou no curso de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, na Universidade Federal de Viçosa (UFV), submetendo-se a defesa de dissertação em 27 de julho de 2016.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1. O CACAUEIRO.....	2
2.2. IMPORTÂNCIA.....	6
2.3. ORIGEM E DISPERSÃO.....	8
2.4. DIVERSIDADE GENÉTICA.....	10
3. OBJETIVOS	13
4. MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1. AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE CACAU COM FOCO EM CONSERVAÇÃO GENÉTICA.....	13
4.1.1. Local.....	13
4.1.2. Material vegetal.....	14
4.1.3. Bacias hidrográficas.....	17
4.1.4. Métodos estatísticos.....	18
4.2. AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE CACAU COM FOCO EM MELHORAMENTO.....	19
4.2.1. Métodos estatísticos.....	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5.1. AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE CACAU COM FOCO EM CONSERVAÇÃO GENÉTICA.....	20
5.1.1. Variabilidade genética entre e dentro de populações de cacau.....	21
5.1.2. Variabilidade genética entre populações de cacau de difrentes bacias hidrográficas.....	24
5.2. AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE CACAU COM FOCO EM MELHORAMENTO.....	28
6. CONCLUSÕES	34
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

RESUMO

GUIMARÃES, Maria Eduarda da Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2016. **Avaliação genética de acessos de cacaueros**. Orientador: Luiz Antônio dos Santos Dias.

As sementes fermentadas e secas do cacauero (*Theobroma cacao* L.) constituem a matéria-prima para a produção de chocolate, cuja cadeia produtiva envolve 60 bilhões de dólares anuais. A coleta, avaliação e conservação de germoplasma de cacau são muito importantes para os programas de melhoramento. Todavia, o nível e a distribuição da variação em populações silvestres são pouco conhecidos. Dessa forma, os objetivos do presente estudo foram: Avaliar a diversidade e o padrão de distribuição da mesma, entre e dentro de populações de cacau de diferentes bacias hidrográficas; avaliar a hipótese de diferenciação das populações por bacia e avaliar o potencial dos acessos clonais de cacau para o melhoramento. Para a avaliação foram coletados, durante quatro anos consecutivos, dados morfológicos de 145 acessos clonais provenientes de nove bacias hidrográficas: 1. Delta/estuário-PA, 2. Ji-Paraná-RO, 3. Solimões/Amazonas-PA, 4. Jamari-RO, 5. Clones alienígenas-TTO, 6. Clones alienígenas-PER, 7. Solimões/Amazonas-AM, 8. Acre-AC e 9. Clones melhorados-RO. Foram avaliadas 11 características, das quais nove relativas ao fruto, por planta: NTFC (Número total de frutos colhidos), NTFS (Número total de frutos sadios), MSUFS (Massa de sementes úmidas dos frutos sadios, em g), MMUSFS (Massa média de sementes úmidas por fruto sadio, em g), MSSFS (Massa de sementes secas dos frutos sadios, em g), MMSSFS (Massa média de sementes secas por frutos sadios, em g), PFVB (Percentagem de frutos com vassoura-de-bruxa), PFBR (Percentagem de frutos com broca), PFGE (Percentagem de frutos com sementes germinadas), NRVB (Número de ramos com vassoura-de-bruxa) e NAFVB (Número de almofadas florais com vassoura-de-bruxa). Os acessos pertencem ao Banco Ativo de Germoplasma da Estex-OP, localizado em Ouro Preto do Oeste-RO. Dados de oito das 11 características foram submetidos às análises de variância (ANAVAs) e ao cálculo distância de Mahalanobis (D^2) entre as bacias. Com base nas ANAVAs, houve diferenças significativas ($P < 0,05$) para todas as características e a maior variabilidade foi detectada dentro das populações de cacau. Sendo assim,

recomenda-se que a coleta de materiais botânicos silvestres priorize maior número de plantas de poucas populações das bacias mais divergentes. Valores significativos ($P < 0,05$) de D^2 evidenciaram maior divergência entre as bacias Ji-Paraná-RO e Solimões/Amazonas-PA (27,7) e maior semelhança entre Ji-Paraná-RO e Jamari-RO (1,39), com relação as suas populações. A análise multivariada revelou também que a diferenciação dos acessos ocorreu de acordo com o sistema de bacias hidrográficas. Utilizando-se dados das 11 características foram processadas a correlação de Pearson e as análises de variância (ANAVAs). As maiores correlações significativas ($P < 0,05$) foram observadas entre NTFC e NTFS (0,94), NTFS e MSUFS (0,86), NRVB e NAFVB (0,542) e entre NTFC e MSUFS (0,84). Com base nas ANAVAs, houve diferenças significativas ($P < 0,05$) entre acessos para todas as características, o que amplia as possibilidades de ganho com a seleção.

ABSTRACT

GUIMARÃES, Maria Eduarda da Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2016. **Genetic evaluation of cacao trees accessions.** Adviser: Luiz Antônio dos Santos Dias.

The fermented and dried seeds of the cacao tree (*Theobroma cacao* L.) are the raw material for the production of chocolate, whose production chain involves 60 billion annually. The collection, evaluation and cocoa germplasm conservation are very important for breeding programs. However, the level and distribution of variation in wild populations are unknown. Thus, the objectives of this study were to evaluate the diversity and distribution pattern of the same, between and within cacao populations in different river basins; assess the possibility of differentiation of populations by basin and assess the potential of clonal cocoa accessions to improvement. For the evaluation were collected for four consecutive years, morphological data of 145 clonal access from nine river basins: 1. Delta/estuário-PA, 2. Ji-Paraná-RO, 3. Solimões/Amazonas-PA, 4. Jamari-RO, 5. Clones alienígenas-TTO, 6. Clones alienígenas-PER, 7. Solimões/Amazonas-AM, 8. Acre-AC e 9. Clones melhorados-RO. We evaluated 11 characteristics, nine of which related to fruit, per plant: NTFC (Total number of fruits), NTFS (total number of healthy fruits), MSUFS (Mass wet seeds of healthy fruits, g), MMUSFS (Massa average wet seed for healthy fruit, g), MSSFS (Mass dry seeds of healthy fruits, g), MMSSFS (average mass of dry seeds for healthy fruits, g), PFVB (fruit Percentage of witches' -bruxa) PFBR (Percentage of fruit with drill), PFGE (Percentage of fruits with seeds germinated), NRVB (number of branches with witch's broom) and NAFVB (number of flower cushions with witch's broom). Accesses belong to the Active Germplasm Bank of Estex-OP, located in Ouro Preto do Oeste-RO. Data from eight of the 11 characteristics were submitted to analysis of variance (ANAVAs) and calculate Mahalanobis distance (D2) between the basins. Based on ANAVAs, there were significant differences ($P < 0.05$) for all features and greater variability was detected within the cocoa populations. Therefore, it is recommended that the collection of wild botanical materials prioritizes greater number of plants of a few populations of the different basins. Significant values ($P < 0.05$) D2 showed greater divergence between basins Ji-Paraná-RO and Solimões/Amazonas-PA (27.7) and greater similarity between Ji-Paraná-RO and Jamari-RO (1.39), regarding their populations. Multivariate analysis also

revealed that the differentiation of access took place according to the system of watersheds. Using data from 11 characteristics were processed Pearson's correlation and analysis of variance (ANAVAs). The higher significant correlation ($P < 0.05$) were observed between NTFC and NTFS (0.94), NTFS and MSUFS (0.86), and NRVB NAFVB (0.542) and between NTFC and MSUFS (0.84). Based on ANAVAs, there were significant differences ($P < 0.05$) access to all features, which increases the gain of possibilities with the selection.

1. INTRODUÇÃO

O cacauero (*Theobroma cacao* L.), espécie arbórea pertencente à família Malvaceae, é uma planta perene, típica de clima tropical e nativa da região de floresta úmida da América. Cultivada inicialmente na América Central, há mais de dois mil anos, o cacau é uma cultura de grande importância sócio-econômica mundial. Os principais produtores são Costa do Marfim, Gana, Indonésia, Nigéria, Brasil, Equador, Camarões e Papua nova Guiné (ICCO, 2015).

O Brasil é o quinto produtor mundial de cacau (ICCO, 2015) e mais de 50% de toda produção nacional advém do estado da Bahia, o restante do Pará, Rondônia, Espírito Santo, Amazonas e Mato Grosso (Souza *et al.*, 2016). As sementes fermentadas e secas do cacauero constituem a matéria-prima básica para a fabricação de chocolate, confeitos, manteiga de cacau, produtos para a indústria farmacêutica e de cosméticos (Souza & Dias, 2001; CEPLAC, 2016a; Souza *et al.*, 2016).

Os tipos botânicos de *T. cacao* conhecidos são divididos em dois grupos raciais: Crioulo (Criollo) (*Theobroma cacao* var. *cacao*) e forasteiro Amazônico (Forastero) (*Theobroma cacao* var. *sphaerocarpum*). Os híbridos entre Forasteiros do Alto e do Baixo Amazonas e Crioulos da América do Sul surgiram espontaneamente em Trinidad e constituem as populações de Trinitários (Dias, 2001; Dias *et al.*, 2003a; Beckett, 2009). No entanto, estudos realizados com marcadores moleculares evidenciaram uma nova classificação do germoplasma de cacau amazônico, propondo dez novos grupos (Motamayor *et al.*, 2008).

A região amazônica constitui grande centro de diversidade da espécie *T. cacao* e apresenta sérios riscos de erosão genética pela exploração de madeira e de minério, projetos hidroelétricos e pela abertura de novas fronteiras agrícolas (Almeida & Dias, 2001; Dias *et al.*, 2003a; Laliberté *et al.*, 2012). Os acessos de cacau presentes nos bancos de germoplasma representam pequena parte da variabilidade existente e, com o objetivo de coletar e preservar os recursos genéticos, expedições de coleta, principalmente na bacia amazônica, vem sendo realizadas desde o século XX (Laliberté *et al.*, 2012).

A coleta de recursos genéticos de *T. cacao* visa o resgate de suas populações, que são um repositório de variabilidade genética, não renovável, potencial para os programas de melhoramento e oferece oportunidade de resgate de novos genes que poderão propiciar futuros ganhos genéticos (Almeida & Dias, 2001; Lanaud *et al.*, 2009; Zhang & Motilal, 2016). Todavia, os

custos desta atividade são elevados e apresentam dificuldades de retorno a determinada região já explorada. Dessa forma, o coletor deve explorar ao máximo as diferentes alternativas e possibilidades apresentadas pela coleta. Além da coleta de germoplasma há necessidade de avaliar e caracterizar todo o conjunto gênico resgatado e conhecer as características morfo-agronômicas desses recursos, para que se possa inferir sobre seu valor potencial para os programas de melhoramento (Almeida & Dias, 2001).

Para gerir os recursos genéticos de cacau de forma eficiente, devemos conhecer a variabilidade, como a mesma está distribuída e quais fatores influenciam a sua distribuição. Esse conhecimento constitui a base científica para a coleta e conservação de germoplasma (Dias *et al.*, 2003a). Acredita-se que a diferenciação de populações de *T. cacao* se dá por bacias hidrográficas (Pound, 1938; Almeida *et al.*, 1987; Almeida, 2001; Dias *et al.*, 2003a; Bartley, 2005). Se comprovada tal hipótese esta poderá ser utilizada para aperfeiçoar a coleta de germoplasma para programas de conservação genética e de melhoramento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O CACAUEIRO

Nomeado inicialmente por Charles de L' Ecluse como *Cacao fructus*, em 1937 o cacaueiro foi classificado pelo botânico Carlos Linneu como *Theobroma fructus* e, posteriormente, como *Theobroma cacao* L., traduzido como “manjar dos deuses”, o qual perdura até os dias de hoje. O gênero *Theobroma* inclui 22 espécies, sendo a espécie *T. cacao* L. a única explorada comercialmente em larga escala (Sánchez, 2011). Até recentemente, *T. cacao* era classificada como pertencente à família Sterculiaceae (Cuatrecasas, 1964) porém, através de estudos filogenéticos moleculares, morfológicos e anatômicos foi reclassificada como da família Malvaceae e subfamília *Sterculiaceae* (Sindoni, 2006; Sánchez, 2011).

O cacaueiro (*Theobroma cacao* L.), planta arbórea perene originária entre a bacia amazônica, o rio Orinoco e as Guianas. Seu *habitat* natural é de bosques e florestas escuras e úmidas com árvores de grande porte (Souza & Dias, 2001). O suposto centro de origem, acredita-se, ser na confluência dos Rios Napo, Putumayo (Rio Içá, no Brasil) e Caquetá (Rio Japurá, no Brasil), no sopé dos Andes (Cheesman, 1944), atualmente fronteira da Colômbia e Equador.

Domesticado há mais de 2000 anos pelos povos mesoamericanos (Motamayor *et al.*, 2002), o cacaveiro era cultivado pelos maias e astecas e suas sementes utilizadas como matéria-prima para a produção de chocolate, consumido como bebida nas festividades e cultos sagrados (Powis *et al.*, 2011) e como moeda de troca no pagamento de tributos e compra de mercadorias (Young, 1994). Com a colonização espanhola, o cacau foi enviado à Espanha, em meados de 1585, por Cristóvão Colombo. Bem aceito, seu consumo generalizou-se pela Europa, África e América do Sul, sendo consumido hoje em todo mundo (Young, 1994; Sánchez, 2011).

Cacaveiros podem ser cultivados sob mata (sistema cabruca), em sistemas agroflorestais (em especial com seringueira) e solteiro a pleno sol. É uma cultura típica de clima tropical úmido e desenvolve-se preferencialmente em locais com variações pequenas de temperatura (média de 25 °C) e radiação solar, com precipitação anual bem definida e distribuída, variando de 1500 mm a 2500 mm (Gramacho *et al.*, 1992; Silva Neto *et al.*, 2001; Sánchez, 2011; Valle, 2012; CEPLAC, 2016a).

O sistema radicular é pivotante e atinge profundidade variável de acordo com a estrutura, textura, profundidade efetiva, consistência e fertilidade do solo, podendo chegar a 2 m de profundidade. Na parte superior da raiz principal estão presentes as raízes secundárias que se concentram (70% a 90%) nos primeiros 30 cm do solo e são responsáveis pela nutrição da planta (Souza & Dias, 2001; Silva Neto *et al.*, 2001; Aguilar *et al.*, 2016a).

O caule é ereto, de casca lisa e verde durante os dois primeiros anos, tornando-se cinza-escuro e de superfície irregular na planta adulta, em decorrência do desenvolvimento das almofadas florais. Com aproximadamente dois anos, o crescimento da gema é interrompido a uma altura de 1 m a 1,50 m do solo e ocorre a emissão de ramos laterais formando a coroa, composta de 3 a 5 ramos principais. Posteriormente, desses ramos surgem outros para formar a copa da planta (Souza & Dias, 2001; Silva Neto *et al.*, 2001; Aguilar *et al.*, 2016a).

As folhas são pecioladas com dois intumescimentos, sendo um na inserção com o caule e outro com o limbo foliar, ambos chamados pulvínulos. As folhas novas são tenras e sua coloração pode variar do verde-esbranquiçado ao vermelho ou roxo, apresentando coloração vermelha na maioria dos cacaveiros. As folhas da planta adulta possuem bordas lisas, são acuminadas, peninérveas

e apresentam coloração verde-escuro. O tamanho varia de acordo com a intensidade luminosa (Silva Neto *et al.*, 2001; Aguilar *et al.*, 2016a).

É uma planta monóica e cauliflora, pois suas flores surgem ao longo do tronco ou dos ramos lenhosos, em ramificações secundárias e terciárias mais desenvolvidas, em estruturas denominadas “almofadas florais” (Souza & Dias, 2001; Silva Neto *et al.*, 2001; Aguilar *et al.*, 2016a). A flor é pentâmera e sua polinização é realizada por micromoscas do gênero *Forcipomya*, que vivem nas plantações de cacau (Silva Neto *et al.*, 2001; Aguilar *et al.*, 2016a; Zhang & Motilal, 2016). Um cacauzeiro adulto pode produzir mais de 50 mil flores por ano, das quais menos de 5% são polinizadas e somente 0,5% a 2% resultam na produção de frutos. O estame e o pistilo encontram-se isolados na flor por uma coroa de estaminoides e pelas pétalas que envolvem as anteras (Souza & Dias, 2001), formando o que se chama de cógula (Silva Neto *et al.*, 2001), o que favorece a polinização cruzada.

Os frutos são indeiscentes, do tipo bacoide drupissarcídeo e pentalocular (cinco lóculos). O tamanho varia de 10 a 32 cm de comprimento, apresentando grande variação na forma, espessura da casca, cerosidade, coloração e rugosidade, dependendo do grupo e do cultivar a que pertence. Seu peso pode variar de 100 a 2000 g. Conforme os frutos se desenvolvem a cor varia de verde a vermelho quando imaturos, e amarelo a alaranjado quando maduros (Aguilar *et al.*, 2016a). O período compreendido entre a polinização e o amadurecimento do fruto varia de 140 dias a 205 dias, com média de 167 dias (Silva Neto *et al.*, 2001). Cada fruto contém de 40 a 50 sementes (Zhang & Motilal, 2016).

As sementes constituem a parte de maior interesse econômico do cultivo, com peso seco unitário entre 0,5 e 5 g. Dependendo da concentração de antocianina presente, apresentam padrões de coloração que vão do branco ao roxo intenso (Bartley, 2005; Monteiro & Ahnert, 2007). A cor, o formato, o peso e o tamanho variam segundo o grupo racial e o cultivar. Após fermentação e secagem, as sementes são utilizadas na fabricação de chocolate. Delas também se extrai manteiga, muito utilizada na indústria farmacológica e na fabricação de cosméticos. A polpa que envolve as sementes é rica em açúcares, sendo utilizada na fabricação de geleia, vinho, líquor, vinagre e suco (Souza & Dias, 2001; Almeida & Valle, 2007).

Seis meses antes do plantio do cacauzeiro implanta-se o sombreamento provisório, com plantas de menor porte, geralmente bananeiras, para proteger

as mudas de cacau do excesso de luz e de vento. O sombreamento definitivo é feito com árvores de maior porte que protegem o cacauzeiro durante toda fase produtiva (Souza & Dias, 2001). A velocidade do vento também deve ser considerada, e quando superior a 2,5 m/s é recomendável a instalação de quebra-ventos. Além de injúrias mecânicas, o vento pode favorecer o ataque e a disseminação de doenças no cacauzeiro (Gramacho *et al.*, 1992; Souza & Dias, 2001; Silva Neto, 2001; Valle, 2012). Para cacauzeiros adultos, o sombreamento deve permitir a passagem de 50 a 60% de luz (Gramacho *et al.*, 1992).

Alguns autores consideram o cacauzeiro como tolerante à sombra e não especificamente de sombra (Almeida & Valle, 2007). Segundo Cuatrecasas (1964), a constituição das folhas do cacauzeiro fornece clara evidência de que a planta é típica de sombra. A produtividade do cultivo a pleno sol é, normalmente, maior do que em condições de sombreamento (Deheuvels *et al.*, 2012), desde que adotadas práticas de manejo adequadas (Almeida & Valle, 2007; 2010). No Brasil, o cultivo a pleno sol nas regiões secas tem reduzido as perdas na produção provocadas pelo fungo *Moniliophthora perniciosa*, causador da doença vassoura-de-bruxa, já que essas regiões apresentam umidade relativa menor que as regiões tradicionais (Leite & Valle, 2000). O ciclo produtivo da cultura pode ultrapassar os 100 anos, porém, uma plantação comercial tem ciclo de 35 anos, com início da produção econômica a partir de 3 a 5 anos após o plantio (Zhang & Motilal, 2016).

Cacauzeiros desenvolvem-se bem em solos com níveis de fertilidade e características pedológicas variados, bem drenados e com profundidade mínima ideal de 1,5 m (Gramacho *et al.*, 1992; Silva Neto *et al.*, 2001; Sánchez, 2011; Valle, 2012). O pH deve estar na faixa de 6,0 a 6,5, para que ocorra disponibilidade máxima de nutrientes (Silva Neto *et al.*, 2001). A calagem é prática indispensável para corrigir a acidez do solo, fornecer cálcio e magnésio, insolubilizar manganês tóxico, elevar a troca de cátions, aumentar o aproveitamento dos micronutrientes e acelerar a taxa de decomposição da matéria orgânica (Souza & Dias, 2001).

A adubação do cacauzeiro deve ser recomendada considerando-se a análise de solo, a exportação de nutrientes pela produção, a análise foliar, o nível de sombreamento do cultivo e a produtividade a ser alcançada (Souza & Dias, 2001).

As pragas e as doenças são grandes limitações e podem causar grandes danos à cultura. Dentre as principais pragas estão: tripes, vaquinhas, lagartas, formigas, percevejos, cochonilha, ácaros, cupins e broca-do-fruto-do-cacaueiro (Sánchez, 2011). Dentre as doenças destacam-se: vassoura-de-bruxa (a mais danosa), podridões, cancro, murchas, monilíase e antracnose. (Aguilar *et al.*, 2016b).

2.2. IMPORTÂNCIA

Os principais produtores mundiais de cacau são Costa do Marfim, Gana, Indonésia, Nigéria, Brasil, Equador, Camarões e Papua nova Guiné. A produção mundial de cacau na safra de 2013/2014 ultrapassou 4,2 milhões de toneladas de sementes fermentadas e secas (ICCO, 2015). O Brasil é o quinto produtor mundial, com seis estados produtores: Bahia, Pará, Rondônia, Espírito Santo, Amazonas e Mato Grosso. A produção brasileira em 2013 foi de 256 mil toneladas, em 692 mil hectares cultivados e produtividade de 372 kg/ha, gerando receita de 1,2 bilhão de reais (IBGE, 2013).

A cadeia produtiva envolve 60 bilhões de dólares anuais (Rosenblum, 2006) e três milhões de agricultores no mundo, em uma área superior a nove milhões de hectares. No Brasil, a cadeia produtiva do cacau e do chocolate geram anualmente 12 bilhões de reais. São 60 mil cacauicultores diretamente envolvidos em uma área cultivada de aproximadamente 700 mil hectares, nos seis estados produtores (CEPLAC, 2016b). O cultivo é realizado principalmente em propriedades de pequeno porte nos países da África, Ásia e América Latina. Mais de 40 milhões de pessoas no mundo dependem do cacau para a sua subsistência (WCF, 2012).

No Brasil o cacau é cultivado em dois biomas: Amazônia e Mata Atlântica, em cultivos agroflorestais (May *et al.*, 1993), associados a eritrina (*Erythrina sp*), ingazeira (*Inga spp*), gliricídia (*Gliricidia sepium*), abacateiro (*Persea americana*), pupunheira (*Bactris gasipaes*), cobi (*Cassia sp*), etc. (Souza & Dias, 2001) e em cultivos do tipo cabruca, no sul da Bahia e norte do Espírito Santo, em que a mata é raleada para o plantio do cacaueiro sob as árvores nativas (Almeida & Valle, 2007; Souza *et al.*, 2016).

Os benefícios desses cultivos são muitos: menor custo de implantação, mais receitas geradas anualmente, maior sustentabilidade, maior proteção do solo, maior conservação da água, maior sequestro de carbono (5 t/ha/ano),

otimização da captura de energia solar, eficiente ciclagem de nutrientes (Silva Neto *et al.*, 2001), alta biodiversidade (Harvey *et al.*, 2006) e menor incidência de plantas espontâneas (Siebert, 2002). Permitem também a formação de corredores ecológicos conectando fragmentos florestais, a regeneração de espécies florestais nativas (Rolim & Chiarello, 2004) e a inserção de agricultores familiares, desempenhando importante papel social e econômico para os pequenos agricultores (Zapfack *et al.*, 2002; Souza *et al.*, 2016).

As sementes fermentadas e secas e constituem a matéria-prima para a produção de chocolate e representam 10% do peso do fruto. Pesquisas buscam o melhor proveito dos 90% restantes para a produção de outros produtos e subprodutos: cacau seco, semente fresca, polpa, mel de cacau, vinhos, vinagre, licores, suco, destilados finos, geleia, geleiado, xaropes para confeito, néctares, sorvetes, doces e iogurtes. A casca do fruto ainda pode ser utilizada como adubo; como alimento para animais; para a produção de álcool, biogás e biofertilizante; na obtenção de proteína microbiana ou unicelular e na extração de pectina para uso culinário (CEPLAC, 2016a; Souza *et al.*, 2016). O aproveitamento integral dos subprodutos e resíduos da pós-colheita contribui para diversificar a receita e incrementar a renda líquida do cacauicultor, tornando-o menos dependente das flutuações do mercado externo, que regula o preço do cacau (CEPLAC, 2016a).

O chocolate, principal produto do cacau, é conhecido pelo seu grande poder energético e suas propriedades funcionais. A principal delas é a redução de riscos de doenças cardiovasculares, devido a presença dos flavonoides em sua composição. Esses polifenóis combatem os radicais livres que são responsáveis pela obstrução das artérias e funcionam como filtros sanguíneos reduzindo a formação de placas de gordura e do colesterol ruim, o LDL. O chocolate contém, ainda, substâncias responsáveis pela produção de serotonina que causa sensação de bem-estar. Contém também a substância teobromina que estimula a atividade cerebral e mantém a mente desperta. O consumo moderado de chocolate amargo pode prevenir infarto (Holden, 2000) e garantir vida longa e saudável (Souza *et al.*, 2016).

O Brasil é referência mundial na produção de cacau. Entretanto, ao longo dos anos, vem enfrentado diversas crises, necessitando da intervenção governamental na atividade. A crise que se iniciou no final de 1980 perdura até hoje e compromete a produção brasileira, obrigando as empresas processadoras

a importar cacau de outros países produtores para continuar operando adequadamente. Discute-se que as causas dessa crise foram e ainda são a ocorrência de vassoura-de-bruxa, doença de grande importância para cultura (Souza & Dias, 2001); a monocultura; o baixo valor agregado; a baixa eficiência tecnológica e a qualidade inferior do cacau produzido (Souza *et al.*, 2016).

2.3. ORIGEM E DISPERSÃO

Segundo Dias (2001) existem três hipóteses para a origem e a dispersão das populações de *T. cacao*. A primeira é a sul-norte, proposta por Hunter & Leake (1993), formalizada por Cheesman (1944) e corroborada por outros autores (Coe & Coe, 1996). De acordo com essa hipótese o cacau seria nativo exclusivamente da América do Sul, estando o suposto centro de origem da planta nas cabeceiras da bacia amazônica, no sopé dos Andes, na fronteira do Equador com a Colômbia. A segunda é a norte-sul, proposta por Vavilov (1951), formalizada por Mora Urpi (1958) e Patiño (1963) e corroborada por outros autores (Sánchez & Jaffé, 1992). Essa hipótese propõe que os crioulos centro-americanos tiveram origem local, bem ao sul do lago Nicarágua, sendo levados, posteriormente, para a América do Sul por índios. A terceira é a dispersão geográfica natural ampla, proposta por Nava (1953) formalizada por Cuatrecasas (1964) e corroborada por León (1987). Em tempos remotos, uma grande população de *T. cacao* encontrava-se dispersa desde a região central da Amazônia até o sul do México. O isolamento geográfico de duas subpopulações, a partir dessa população ancestral, devido ao istmo do Panamá, causou o surgimento de duas subespécies: Crioulos (*T. cacao* subsp. *Cacao*) na Mesoamérica e Forasteiros (*T. cacao* subsp. *Sphaerocarpum*) na América do Sul.

Dias (2001) considerando evidências antropológicas, históricas, paleogeológicas, biogeográficas e estudos de genética de população, formulou um novo cenário para a origem e dispersão do cacau considerando as três hipóteses anteriores. Segundo essa nova hipótese, os cacauzeiros da população ancestral teriam se diferenciado em Crioulos e Forasteiros Amazônicos na região andina. Em meio a população formada por cacauzeiros de sementes púrpuras, surgiram mutantes de sementes brancas que se multiplicaram no lado ocidental dos Andes. Por isolamento geográfico, causado pela elevação dos Andes, no início do terciário, tais mutantes originaram os Crioulos, diferenciando-se então

dos Forasteiros Amazônicos. Eventos geoclimáticos como o aparecimento recorrente do lago Amazonas e a glaciação, ocorridos no Pleistoceno, promoveram a diferenciação dos Forasteiros amazônicos em Forasteiro Alto e Baixo Amazônicos na região do Alto Amazonas. Na sequência, Crioulos e Forasteiros foram ambos transportados pelo homem em direção a Mesoamérica e ao México.

Motamayor *et al.* (2002), por meio de marcadores moleculares, e Lima (2012), de estudos morfológicos, comprovaram a hipótese proposta por Cheesman (1944), de que o cacau é originário da América do Sul e mais tarde foi introduzido pelo homem na América Central, corroborando também a nova hipótese de Dias (2001). Thomas *et al.* (2012) analisando a diversidade intraespecífica de acessos de cacau da América Latina, observaram altos níveis de diversidade genética no Alto Amazonas, do sul do Peru à Amazônia equatorial e nas zonas de fronteira entre Colômbia, Peru e Brasil. Segundo esses autores o isolamento causado pela glaciação, ocorrida no pleistoceno, causou impacto sobre a distribuição e diversidade de populações cacau, distribuídas inicialmente na Amazônia ocidental. Solorzano *et al.* (2012), estudando populações de cacau amazônicos, relataram que a evolução e a extensão das populações de cacau da parte oriental da América do Sul até regiões da Guiana Francesa, poderia ter começado a partir da região do Alto Amazonas.

Os cacauzeiros cultivados foram inicialmente divididos em dois grupos: Crioulo (*Theobroma cacao var. cacao*) e Forasteiro (*Theobroma cacao var. sphaerocarpum*) (Sindoni, 2006). As populações crioulas foram originalmente cultivadas na América Central, desde o México até o sul da Costa Rica. Os Forasteiros Amazônicos existem em estado silvestre na América do Sul, na região da bacia amazônica. Os dois grupos se diferenciam pela produção, resistência a pragas e doenças, adaptação a diferentes ambientes, pelo tipo de fruto e pelas características das sementes (Dias, 2001; Dias *et al.*, 2003a).

Um terceiro grupo, denominado Trinitário, teria surgido da hibridação natural entre os grupos Crioulo e Forasteiro, com genótipos inicialmente identificados em Trinidad (Beckett, 2009), após a devastação das plantações de Crioulo por doenças em meados do século XVIII (Cheesman, 1944). Outros autores sugerem que o Trinitário resultou da hibridação entre Crioulos e

Forasteiro das regiões das Guianas ou do Baixo Amazonas (Pound, 1938; Cheesman, 1944).

Motamayor *et al.* (2008) analisaram germoplasma de cacau amazônico, por meio de marcadores moleculares, e propuseram dez novos grupos: Marañon, Curaray, Crioulo, Iquitos, Nanay, Contamana, Amenolado, Purus, Nacional e Guiana. Esta classificação mantém os termos utilizados para identificar os cultivares tradicionais Amelonado, Crioulo e Nacional e diferencia populações dentro do grupo chamado anteriormente de Forasteiro. Diversos estudos genéticos comprovam que o grupo Forasteiro apresenta elevada diversidade incluindo muitas outras populações de todas as regiões da Amazônia e Orinoco (Lerceteau *et al.*, 1997; Sereno *et al.*, 2006; Lachenaud & Zhang, 2008).

O conhecimento sobre a origem, a dispersão e a evolução de *T. cacao* têm impactos importantes na conservação e no melhoramento genético da espécie, principalmente no que tange a coleta de germoplasma que deve ser realizada nas áreas onde o cacauero é nativo e exibe maior variabilidade. Nesse caso, a coleta deve priorizar as bacias dos rios Amazonas e Orinoco, que constituem o maior centro de diversidade da espécie, mas, deve-se estender a outros centros de diversidade como sudeste da Guiana Francesa, o norte do Equador e as florestas do Chiapas no México, de modo a ampliar a representatividade da diversidade da espécie (Dias, 2001; Dias *et al.*, 2003a).

A coleta, avaliação e caracterização de germoplasma permitem, através de processos e métodos, obter informações sobre os recursos genéticos reunidos no banco. Tais informações podem ser utilizadas por melhoristas e geneticistas e funcionam como guia para a utilização dos recursos genéticos em programas de melhoramento da espécie (Almeida & Dias, 2001)

2.4. DIVERSIDADE GENÉTICA

T. cacao é uma espécie alógama, diploide ($2n = 2x = 20$) (Dias, 2001; Dias *et al.*, 2003a) e a maior parte dos acessos apresenta incompatibilidade (Cope, 1962). No entanto, algumas variedades, domesticadas há pouco tempo, são auto-compatíveis (Laliberté *et al.*, 2012). A domesticação das espécies é um processo de grande importância, contudo reduz a diversidade genética, em relação aos progenitores silvestres, por dois fatores: envolve populações de pequeno tamanho e estreita diversidade genética, em relação aos ancestrais

silvestres. A seleção em favor de características agrônômicas desejáveis distinguem as culturas de seus ancestrais (Solorzano *et al.*, 2012). A redução da diversidade genética de cacau é um problema sério que aumenta a vulnerabilidade da espécie e a erosão genética (Laliberté *et al.*, 2012).

Devido à importância sócio-econômica e ambiental do cacau se faz necessária a conservação genética da espécie, pois os recursos genéticos naturais constituem o repositório de variabilidade genética potencial para programas de melhoramento. Esses recursos não são renováveis e constituem a matéria-prima necessária para a criação de novas cultivares mais produtivas, mais adaptadas às regiões de cultivo e mais resistentes a pragas e doenças de importância econômica (Almeida & Dias, 2001).

A variabilidade de cacau coletada e estudada representa apenas uma pequena fração da diversidade genética existente, principalmente na Amazônia (Lanaud *et al.*, 2009). Esse bioma detém a maior biodiversidade do planeta e constitui um dos maiores centros de diversidade de *T. cacao* (Cheesman, 1944; Cuatrecasas, 1964; Dias 2001; Dias *et al.*, 2003a). Na região amazônica, encontra-se variabilidade expressiva sobre o vigor das plantas, produção e seus componentes de resistência a vassoura-de-bruxa, tamanho e coloração das folhas e características de frutos e sementes (Almeida *et al.*, 1987; Almeida & Almeida, 1987; Almeida & Dias, 2001).

Os riscos de erosão genética de cacau são preocupantes e devem-se: a implantação de megaprojetos de desenvolvimento regional, a expansão da fronteira agrícola, as atividades agropecuárias, a construção de usinas hidrelétricas, a abertura de rodovias, a exploração petrolífera e mineral (Almeida & Dias 2001; Dias *et al.*, 2003a), a destruição das florestas tropicais amazônicas, a perda de variedades tradicionais, as ameaças de desastres naturais e as variações das condições climáticas (Laliberté *et al.*, 2012). Dessa forma, o cacau é considerado como cultura com prioridade de conservação, sendo necessário o resgate de amostras geneticamente representativas dessas populações (Almeida & Almeida, 1987; Almeida *et al.*, 1995).

A utilização de recursos genéticos provenientes de populações naturais de cacau, em programas de melhoramento da espécie, despertou o interesse da comunidade científica internacional após as coletas exploratórias realizadas por Pound (1938; 1943) no Alto Amazonas, no Peru e no Equador, com o objetivo de identificar cacauzeiros resistentes à vassoura-de-bruxa (Almeida & Dias, 2001;

Bartley, 2005; Zhang *et al.* 2009). A expressiva variabilidade genética encontrada nessas populações, seu potencial para utilização em programas de melhoramento e a necessidade de ampliação da base genética dos programas de melhoramento em desenvolvimento, em diversos países, motivaram a realização de várias missões de coleta nas últimas cinco décadas (Laliberté *et al.*, 2012), no Brasil, Equador, Guiana Francesa, Peru, entre outros países (Zhang & Motilal, 2016).

A CEPLAC, instituição responsável pelas pesquisas de cacau no Brasil, tem recolhido e incorporado em seus bancos de germoplasma mais de 2000 acessos desde 1965 (Vello & Medeiros, 1965), para preservar os recursos genéticos e para ampliar a base genética da cultura (Almeida *et al.*, 1987; Almeida & Almeida, 1987; Almeida *et al.*, 1995). Almeida *et al.* (1995) apresentam um relato histórico e minucioso de 29 anos de missões de coleta de germoplasma realizadas em 36 bacias hidrográficas da Amazônia brasileira. A coleta de recursos genéticos de *T. cacao* visa o resgate das populações naturais ou silvestres, das populações cultivadas ou semicultivadas, das espécies silvestres aparentadas e das cultivares primitivas (Almeida & Dias, 2001).

O futuro da economia mundial do cacau depende da disponibilidade de diversidade genética e do uso sustentável desta nos programas de melhoramento (Laliberté *et al.*, 2012). As populações silvestres constituem fonte de genes/alelos (Lanaud *et al.*, 2009; Zhang & Motilal, 2016) e podem ser utilizadas em cruzamentos com espécies cultivadas e na introgressão de germoplasma exótico que tem sido recomendada para resistência a doenças, maior produção, maior adaptabilidade a região de cultivo, entre outros propósitos (Almeida & Dias, 2001; Eskes, 2011). Pequena parte da variabilidade genética disponível da espécie tem sido utilizada em programas de melhoramento desenvolvidos nos diferentes países produtores. Esses programas baseiam-se, em sua maioria, no uso de poucos genótipos de base genética estreita, na expectativa de ganhos elevados no curto prazo, o que agrava a vulnerabilidade genética do cultivo (Almeida & Dias, 2001; Bartley, 2005).

O conhecimento sobre o nível e a distribuição espacial da variabilidade fornece uma base científica para a coleta e conservação de germoplasma de cacau (Dias *et al.*, 2003a). A diversidade genética das populações naturais de cacau parece ser estratificada por sistemas fluviais na Amazônia (Pound, 1938; Almeida, 2001; Dias *et al.*, 2003a; Bartley, 2005). Dentro das bacias

hidrográficas, populações silvestres de cacau estão agrupadas em fragmentos, separados por grandes distâncias espaciais (Zhang & Motilal, 2016). Supõe-se que o fluxo gênico seja limitado e os cruzamentos provavelmente estejam confinados dentro desses fragmentos (Chapman & Soria, 1983).

Pound (1938) e Almeida *et al.* (1987) através de coletas na região Amazônica, propuseram que a diferenciação de populações de cacau se dá por bacias hidrográficas. Dias *et al.*, (2003a) estudando 64 progênies de cacau originárias de quatro bacias da Amazônia, comprovaram essa hipótese e, ainda, que a variabilidade dentro das populações das bacias era maior que a variabilidade entre elas. Esta informação pode ser utilizada para otimizar a coleta de germoplasma de cacau para programas de conservação genética e de melhoramento, o que permite economia de recursos e pessoal.

3. OBJETIVOS

Os objetivos deste estudo foram os seguintes:

- i) Avaliar a diversidade e o padrão de distribuição da mesma, entre e dentro de populações de cacau de diferentes bacias hidrográficas;
- ii) Avaliar a hipótese de diferenciação das populações por bacia;
- iii) Avaliar o potencial dos acessos clonais de cacau para o melhoramento.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE CACAU COM FOCO EM CONSERVAÇÃO GENÉTICA

4.1.1. Local

Para a realização deste estudo foi utilizado o Banco Ativo de germoplasma de cacau (BAG Cacau) da Estação Experimental Ouro Preto - Estex-OP, pertencente a Comissão Executiva do Plano da Lavoura cacaueira (CEPLAC), localizada no município de Ouro Preto do Oeste (latitude 10° 44' 30" S, longitude 62° 13' 30" W, a cerca de 280m de altitude), a 340 km de Porto Velho, Rondônia, Brasil. Pela classificação de Köppen, Rondônia apresenta clima do tipo Aw - tropical chuvoso, com temperatura no mês mais frio de 18 °C e um período seco bem definido.

A região de Ouro Preto do Oeste apresenta precipitação média anual de 1940 mm, sendo mais intensa de novembro a abril, com 80,3% do total

concentrados nesse período. A temperatura média mais elevada ocorre durante outubro (25,7 °C) e a mais baixa em julho (22,9 °C). A temperatura média anual é de 24,6 °C. A umidade relativa do ar anual é 81%, com valores mais baixos de julho a setembro. A insolação é mais intensa em julho e a maior taxa de evaporação se dá em agosto. O solo predominante do BAG Cacau da Estex-OP é Argissolo Vermelho-Amarelo, de fertilidade natural média (Barbosa & Neves, 1983) e apresenta déficit hídrico de junho a setembro (Scerne *et al.*, 2000).

4.1.2. Material vegetal

O BAG Cacau da Estex-OP contém 615 acessos de diversas origens, predominantemente de populações silvestres de Rondônia. Para o presente estudo foram selecionados 145 acessos baseando-se em: maturidade fisiológica (acessos com mais de dez anos de campo); presença mínima de três plantas por acesso de mesma idade de campo; plantas em boas condições agrônômicas para avaliação, considerando-se porte e arquitetura de copa; melhor controle da produção e melhor condição de competitividade entre plantas da parcela, avaliada como menor número de plantas mortas na vizinhança.

A implantação dos clones estudados foi realizada de 1977 a 1984, com mudas clonais. Todos os acessos foram estabelecidos no espaçamento de 3,0 x 3,0 m e plantados em covas de 40 x 40 x 40 cm, em associação com bananeiras (*Musa sp.*) como sombreamento provisório, no mesmo espaçamento dos cacauzeiros. Nas primeiras quadras de implantação utilizou-se como sombreamento definitivo a palheteira ou sombreiro mexicano (*Clitoria racemosa*), leguminosa que se destacava na época entre as melhores alternativas regionais para essa função. Posteriormente, foi realizada a mescla de espécies arbóreas regionais para sombreamento definitivo, adotando-se espaçamentos diferenciados desde 12,0 x 12,0 m até 24,0 x 24,0 m, com uma planta na diagonal.

Todos os acessos clonais, do BAG da Estex-OP, foram implantados em parcelas de tamanhos variados de 10 a 14 plantas, dispostas em duas fileiras contíguas ou em parcelas de cinco ou seis plantas, dispostas em fileira única; parcelas de quatro, cinco ou seis plantas dispostas em fileira única e parcelas de 14 a 36 plantas dispostas em uma ou duas fileiras. Os clones foram formados a partir de enxertia por borbúlia, em portas-enxertos de diferentes origens genéticas, com idade variando de 4 a 6 meses. A manutenção desse acervo

genético foi realizada de acordo com as informações tecnológicas para o cultivo na Amazônia Brasileira, disponíveis em diferentes períodos no decurso de quase quatro décadas (Silva Neto *et al.*, 2001; Silva Neto *et al.*, 2013), as quais compreendem basicamente: controle de plantas daninhas, poda e desbrota, adubação química e manejo dos cacaueiros.

Os 145 acessos de cacau avaliados, pertencem a nove bacias hidrográficas (Tabela 1): dois acessos da bacia 1, 44 da bacia 2, seis da bacia 3, 63 da bacia 4, dois da bacia 5, quatro da bacia 6, quatro da bacia 7, um da bacia 8 e 19 acessos da bacia 9. O número de plantas avaliadas variou de 4 a 14 plantas/acesso.

As avaliações foram realizadas de 2002 a 2005, por ocasião das colheitas. Foram feitas sete colheitas em 2002, 11 em 2003, 10 em 2004 e nove em 2005. Durante os quatro anos de estudos (2002 a 2005) foram medidas e avaliadas oito características de fruto, por planta (Tabela 2). São elas: número total de frutos sadios (NTFS); massa de sementes úmidas dos frutos sadios (MSUFS); massa média de sementes úmidas por fruto sadio (MMSUFS); percentagem de frutos com vassoura de bruxa (PFVB); percentagem de frutos com broca (PFBR); percentual de frutos com sementes germinadas (PFSGE); número de ramos com vassoura-de-bruxa (NRVB); número de almofadas florais com vassoura-de-bruxa (NAFVB).

Tabela 1. Identificação dos 145 clones de cacau, de nove bacias hidrográficas, avaliados em Ouro Preto do Oeste, RO, de 2002 a 2005

Bacias	Clones	Significado	Local ou região de origem/coleta	Nº de Clones avaliados
1	BE 9 e 10	Belém	Arredores de Belém-PA	2
2	CAB 008 a 013 CAB 417 a 474	Cacau da Amazônia	Região de Presidente Médici-RO Regiões de Ouro Preto do Oeste, Jarú, Mirante da Serra e Ji-Paraná-RO	44
3	CAB 035 a 042	brasileira	Região de Santarém-PA	6
4	CAB 218 a 414		Região de Ariquemes-RO	63
5	ICS 9 e 100	Imperial College Selection	Fazendas em Trinidad e Tobago	2
6	IMC 67 PA 150 POUND 7 e 12	Iquitos mixed calabacillo Parinari JF Pound	Região de Iquitos, Peru Região de Parinari, Peru Rio Nanay, Loreto, Peru	4
7	MA 11 a 15	Manaus	Ilha do Careiro, nas proximidades de Manaus-AM	4
8	RB 39	Rio Branco	Arredores de Rio Branco-AC	1
9	SA 002 a 020 SA 046 e 046	Seleção Amazônica	Plantações comerciais-RO Plantações comerciais-RO	19

Tabela 2. Características avaliadas nos 145 clones de cacau, avaliados em Ouro Preto do Oeste, RO, de 2002 a 2005

NTFC	Contagem direta
NTFS	Contagem direta (frutos colhidos menos aqueles atacados por doença, praga e animais silvestres)
MSUFS	Pesagem direta
MMSUFS	MSUFS/NTFS
MSSF	MSUFS*0,4 (após a secagem das sementes de cacau, estima-se que a umidade caia para 60%)
MMSSF	MSSF/NTFS
PFVB	NFVB/NTFC
PFBR	NFBR/NTFC
PFSGE	NFSGE/NTFC
NRVB	Contagem direta
NAFVB	Contagem direta

4.1.3. Bacias hidrográficas

Visando a coleta de germoplasma de cacau, Almeida *et al.* (1987) dividiram a região amazônica brasileira em 186 bacias, classificadas da seguinte forma: quatro de primeira ordem, 60 de segunda e 122 de terceira ordem. Neste estudo, nove bacias amostradas foram parcialmente avaliadas (Tabela 3), sendo três de primeira ordem (Bacia do Delta/Estuário-PA, do Solimões/Amazonas-PA e do Solimões/Amazonas-AM) três de terceira ordem (Bacia de Ji-Paraná-RO, de Jamari-RO e do Acre-AC), clones alienígenas de Trinidad e Tobago-TTO, clones alienígenas do Peru-PER e clones de plantações comerciais de Rondônia-RO.

Tabela 3. Bacias hidrográficas onde foram coletados os 145 clones de cacau avaliados em Ouro Preto do Oeste, RO, de 2002 a 2005

Bacias hidrográficas	
1	Bacia do Delta/Estuário, constituída pelas bacias secundárias e terciárias do arquipélago de Marajó-PA
2	Ji-Paraná-RO
3	Bacia do Solimões/Amazonas-PA
4	Jamari-RO
5	Clones alienígenas-TTO
6	Clones alienígenas-PER
7	Bacia do Solimões/Amazonas-AM
8	Acre-AC
9	Clones procedentes de plantações comerciais formadas a partir de sementes melhoradas-RO

4.1.4. Métodos estatísticos

Os dados foram totalizados por ano e por características e, a seguir calculados os valores médios correspondentes dos quatro anos. Na sequência foram submetidos a análise exploratória para teste de normalidade. Todas as características apresentaram apenas ligeiros desvios de normalidade pelo teste Shapiro-Wilks (Shapiro & Wilk, 1965), e por essa razão as análises de variância foram processadas utilizando-se os dados originais. Os dados referentes as características número de ramos com vassoura-de-bruxa (NRVB) e número de almofadas florais com vassoura-de-bruxa (NAFVB), expressos em percentagem, apresentaram grandes desvios de normalidade, e dessa forma, procedeu-se sua transformação deles através da seguinte função:

$$Y = \sqrt{x + 0,5}$$

Procedeu-se à análise de variância univariada (Anava), em esquema hierárquico (Dias *et al.*, 2003a; Dias & Barros, 2009), para estimação dos componentes de variância em cada um dos três níveis de subdivisão populacional: entre bacias [B_i], entre progênies dentro de bacias [$P_{j(i)}$] e entre árvores dentro de progênies dentro de bacias [$T_{k(ij)}$]. Os efeitos aleatórios B_i , $P_{j(i)}$, $T_{k(ij)}$ foram assumidos independentes, com médias 0 e variâncias iguais a σ_b^2 , σ_{pb}^2 ,

σ_a^2 , respectivamente. A variância total estimada σ_T^2 foi dividida como se segue:
 $\sigma_T^2 = \sigma_b^2 + \sigma_p^2 + \sigma_a^2$. O seguinte modelo foi utilizado:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + P_{j(i)} + T_{k(ij)}$$

Onde:

Y_{ijk} = valor médio dos quatro anos das características Y medidas na k^{th} planta da j^{th} progênie da i^{th} bacia;

m = média geral;

B_i = efeito da i^{th} bacia; $i = 1, 2, \dots, 9$;

$P_{j(i)}$ = efeito da j^{th} progênie na i^{th} bacia; $J = 1, 2, \dots, 145$;

$T_{k(ij)}$ = erro aleatório definido pelo efeito da k^{th} planta sobre j^{th} progênie da i^{th} bacia;
 $k = 1, 2, \dots, 14$.

Processou-se ainda a análise da distância de Mahalanobis (1936), por meio da estatística D^2 , para quantificar a diversidade genética entre acessos das bacias. A estatística D^2 é uma medida robusta de distância, com a propriedade de ser uma escala invariante e adimensional (Dias & Kageyama, 1998). A distância D_2 entre duas bacias i e i' em p características é definida como:

$$D^2 = d'W^{-1}d$$

Onde d é um vetor de diferença entre as médias de bacias i e i' para todos os caracteres p e d' é a sua transposta. W é a matriz de covariância $p \times p$ dentro de bacia, obtida da Anava. Aplicou-se o teste F para estudar os níveis dos valores de significância D^2 .

As análises univariadas de variância e a distância D^2 de Mahalanobis foram processadas usando procedimentos NESTED e CANDISC, respectivamente, do SAS (Sas Institute Inc, 1989).

4.2. AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE CACAU COM FOCO EM MELHORAMENTO

Os mesmos dados empregados na avaliação de germoplasma de cacau com foco em conservação genética (item 4.1) foram também utilizados no presente item. Todavia, outras três características foram avaliadas: número total de frutos colhidos (NTFC); massa de sementes secas dos frutos sadios (MSSFS); massa média de sementes secas por fruto sadio (MMSSFS). Totalizando 11 características (Tabela 2).

4.2.1. Métodos estatísticos

As análises de variância com dados médios de quatro anos, foram processadas conforme o modelo matemático a seguir:

$$Y_{ij} = \mu + C_i + \varepsilon_{ij}$$

Onde:

Y_{ij} = refere-se a observação no clone i na planta j ;

μ = média geral;

C_i = efeito do clone i , com $i = 1, 2, \dots, C$;

ε_{ij} = erro amostral associado a observação Y_{ij} .

Processou-se também análise de correlação de Pearson (1892) (r) que mensura a associação entre duas variáveis. Este coeficiente é adimensional e varia de -1 a 1. Se “ r ” for um valor próximo de 1 significa que as duas variáveis são correlacionadas positivamente; se próximo de -1, significa que são correlacionadas inversamente. Valores de “ r ” próximos de zero correspondem a uma dispersão de pontos que não mostra nem uma tendência crescente, nem decrescente, indicando ausência de correlação entre as variáveis (Dias & Barros, 2009). O coeficiente de correlação de Pearson pode ser obtido por:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \cdot \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}}$$

Onde X_i e Y_i , sendo $i=1, 2, 3, \dots, n$, são os valores médios medidos em ambas as variáveis, e:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i \quad \bar{y} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n y_i$$

São as médias aritméticas de ambas as variáveis

Todas as análises estatísticas foram processadas no software SAS (Sas Institute Inc, 1989).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE CACAU COM FOCO EM CONSERVAÇÃO GENÉTICA

Oito características foram avaliadas. O NTFC (Número total de frutos colhidos), a MSSFS (Massa de sementes secas dos frutos sadios, em g) e a MMSSFS (Massa média de sementes secas por frutos sadios, em g), foram

eliminados por apresentarem alta correlção com outras características, o que dificultaria as análises realizadas.

5.1.1. Variabilidade genética entre e dentro de populações de cacau

De acordo com as análises univariadas (ANAVAs) houve diferenças significativas para todas as características morfológicas avaliadas, entre e dentro de populações das bacias hidrográficas (Tabela 4). Para duas das características, massa média de sementes úmidas por fruto sadio (MMSUFS) e percentagem de frutos com sementes germinadas (PFSG), o componente de variância de bacia foi maior. Para as demais características, número total de frutos sadios (NTFS), massa de sementes úmidas dos frutos sadios (MSUFS), percentagem de frutos com vassoura-de-bruxa (PFVB), percentagem de frutos com broca (PFBR), número de ramos com vassoura-de-bruxa (NRVB) e número de almofadas florais com vassoura-de-bruxa (NAFVB), o componente de variância de clone foi maior.

Tabela 4 - Resumo da análise univariada de variância e componentes de variância (CV, em %) para cada fonte de variação

Caracteres	Fontes de variação					
	Bacias (B)		Clones/Bacias (C/B)		Erro (P/C/B)	
	QM	CV (%)	QM	CV (%)	QM	CV (%)
NTFS⁽¹⁾	3878,22*	16,28	797,16*	34,68	164,10	49,03
MSUFS⁽²⁾	2820111,8*	1,62	3583698,8*	34,54	904634,0	63,83
MMSUFS⁽³⁾	57143,50*	77,00	966,60*	17,58	55,24	5,40
PFVB⁽⁴⁾	958,78*	13,56	275,21*	45,26	37,89	41,17
PFBR⁽⁵⁾	356,30*	5,44	165,67*	37,12	37,30	57,43
PFSGE⁽⁶⁾	44,54*	17,02	4,82*	14,27	2,22	68,69
NRVB⁽⁷⁾	7,43*	11,22	2,43*	50,48	0,28	38,29
NAFVB⁽⁸⁾	3,12*	5,91	1,06*	48,24	0,16	45,84
gl	8		136		618	
CV médio (%)	18,51		35,27		46,21	

⁽¹⁾Número total de frutos sadios; ⁽²⁾massa de sementes úmidas dos frutos sadios, em g; ⁽³⁾massa média de sementes úmidas por frutos sadios, em g; ⁽⁴⁾percentagem de frutos com vassoura-de-bruxa; ⁽⁵⁾percentagem de frutos com broca; ⁽⁶⁾percentagem de frutos com sementes germinadas; ⁽⁷⁾número de ramos com vassoura-de-bruxa; ⁽⁸⁾número de almofadas florais com vassoura-de-bruxa. * Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Em geral, a divisão de variação entre e dentro populações, revelou que a maior parte (em média 35,27%) da variabilidade foi detectada dentro das populações. Estes resultados corroboram com os obtidos em outros estudos envolvendo características morfológicas (Dias *et al.*, 2003a; Lachenaud & Oliver, 2005; Lachenaud, 2007), izoenzimas (Ronning & Schnell, 1994; Souningo *et al.*, 1997), marcadores RAPD e RFLP (Russell *et al.*, 1993; Lerceteau *et al.*, 1997), microssatélites (Sereno, 2001; Mota, 2003; Sereno *et al.*, 2006) e marcadores SSR (Zhang *et al.*, 2006; Lachenaud & Zhang, 2008; Thomas *et al.*, 2012; Santos *et al.*, 2015). Outras espécies tropicais apresentaram o mesmo padrão de distribuição de variabilidade (Dias & Kageyama, 1991).

A diferenciação genética entre e dentro de populações de cacau das bacias hidrográficas, em uma dada escala espacial, depende da seleção natural, da deriva genética e da distância e magnitude do fluxo gênico. *T. cacao* apresenta modo de polinização que contribui para a deposição da mistura de pólen da própria planta sobre o seu estigma (Voelcker, 1940), porém a ocorrência de alta taxa de fecundação cruzada é característica dessa espécie (Toxopeus, 1972). A polinização é realizada por espécies de micromoscas do gênero *Forcipomya* spp., embora insetos como tripes, formigas e afídeos possam promover polinização acidental (Chapman & Soria, 1983). A fecundação cruzada em *T. cacao* é favorecida por um exclusivo mecanismo de incompatibilidade. Durante a microsporogênese, a planta apresenta fatores gametofíticos e esporofíticos que controlam o fenótipo de incompatibilidade do pólen (Cope, 1962).

Esse sistema de incompatibilidade pode limitar a fecundação natural, restringir o fluxo gênico e o rendimento de plantas auto-incompatíveis. Dentro de uma mesma população, algumas plantas podem exibir auto-compatibilidade para situações variadas (Cope, 1962; Almeida, 2001). A presença de diferentes níveis de incompatibilidade em indivíduos auto-incompatíveis tem sido documentada no cacau (Cope, 1962; Mota, 2003; Efombagn *et al.*, 2009).

O fluxo gênico consiste na migração de alelos de uma população a outra. Seu entendimento é importante para compreender a formação da estrutura genética das populações (Martins, 1987) e o processo de dispersão e adaptação das espécies (Zhang *et al.*, 2006). A polinização cruzada em cacau ocorre geralmente entre plantas vizinhas (Voelcker, 1940; Posnette, 1950). Contudo

existe registro de fluxo gênico, via pólen, entre plantas distanciadas a mais de 45 m (Cope, 1939).

Dentro de espécies com fluxo gênico restrito, um padrão de isolamento por distância é esperado, pois a distância genética entre indivíduos parece ser positivamente correlacionada com a distância geográfica (Rousset, 1997). Zhang *et al.* (2006), estudando acessos de cacau dos vales peruanos, encontraram indícios da influência do isolamento por distância geográfica sobre o fluxo gênico. Dentro das bacias hidrográficas, as populações de cacau silvestres aparentam estar agrupadas em fragmentos com fluxo gênico limitado (Chapman & Soria 1983; Lachenaud & Zhang, 2008), devido à curta distância de dispersão de sementes por animais (Allen, 1988) e de pólen por insetos, principalmente por micromoscas do gênero *Forcipomya* spp. (Zhang *et al.*, 2006; Zhang & Motilal, 2016). O vôo a curtas distâncias desses polinizadores, que raramente excede 60 m (Posnette, 1950), pode resultar na maior variação genética entre populações de espécies tropicais (Loveless & Hamrick, 1984). Essa proposição pode ser aplicada a diferenciação de germoplasma de cacau nas bacias hidrográficas.

Fluxo gênico restrito e diferenciação genética dentro das bacias hidrográficas devido a pressão de seleção, aumentam a formação de vizinhanças e reduzem o tamanho efetivo da população (Dias *et al.*, 2003a; Zhang, *et al.*, 2006; Zhang e Motilal, 2016). Resultam no aumento da deriva genética e da endogamia, devido ao acasalamento entre parentes (Loveless & Hamrick, 1984; Dias *et al.*, 2003a). Além disso, alguns cacauzeiros silvestres podem formar touceiras com vários troncos em diferentes estágios de desenvolvimento. Essa aparente sobreposição de gerações, dentro dos fragmentos, pode contribuir para o acasalamento entre parentes, aumentando assim o nível de endogamia (Allen, 1988; Zhang & Motilal, 2016).

Silva *et al.* (2011) observaram que populações de *T. cacao* do Pará, apresentavam estrutura genética espacial agregada, devido a dispersão de sementes e de pólen a curtas distâncias. A análise do sistema de acasalamento indicou evidência de autopolinização e acasalamento entre parentes, devido ao alto nível de endogamia. Um estudo semelhante nas planícies do nordeste da Bolívia revelou taxas de 7% a 14% de autopolinização em populações silvestres. O pólen foi transportado até 3 km, com uma média de 922 m, sugerindo polinização a distâncias maiores do que aquelas comumente relatadas (Schawe *et al.*, 2013). Lachenaud & Zhang (2008) encontraram genótipos totalmente

homozigotos e um significativo desvio em relação ao equilíbrio de Hardy-Weinberg nas populações silvestres de cacau da Guiana Francesa.

5.1.2. Variabilidade genética entre populações de cacau de diferentes bacias hidrográficas

A estatística D^2 de distância de Mahalanobis é frequentemente utilizada para estudos de divergência genética entre populações de cacau (Dias & Kageyama, 1998; Dias *et al.*, 2003b). Neste estudo os valores das distâncias de Mahalanobis, computados para a diferenciação entre as bacias hidrográficas, variaram de 0,66 a 27,69 (Tabela 5). As bacias de Ji-Paraná e de Solimões/Amazônia-PA mostraram-se mais divergentes, enquanto as bacias de Ji-Paraná e de Jamari foram as mais semelhantes, em termos das populações de cacau.

Tabela 5 – Distância de Mahalanobis entre bacias hidrográficas

Bacias	2	3	4	5	6	7	8	9
1	17,65*	4,47*	12,01*	5,19*	0,90	0,83	11,53*	2,62*
2		27,69*	1,38*	26,12*	18,25*	17,06*	7,50*	15,46*
3			22,52*	1,61	5,72*	3,76*	17,00*	5,99*
4				21,91*	12,71*	11,72*	4,83*	10,24*
5					6,93*	5,02*	18,65*	5,42*
6						0,66	13,03*	2,07*
7							10,04*	1,54*
8								10,54*

1-Delta/estuário-PA, 2-Ji-Paraná-RO, 3-Solimões/Amazonas-PA, 4-Jamari-RO, 5-Clones alienígenas-TTO, 6-Clones alienígenas-PER, 7-Solimões/Amazonas-AM, 8-Acre-AC, 9-Clones de plantações de sementes melhoradas-RO. *Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

As populações das bacias de Ji-Paraná e de Jamari foram as mais divergentes em relação às demais. O mesmo foi observado por Mota (2003) ao caracterizar clones de 16 bacias hidrográficas da Amazônia brasileira e por Almeida *et al.* (2005), ao avaliar 270 acessos de cacau do mesmo BAG utilizado neste estudo. Segundo esses autores, barreiras naturais podem ter isolado geográfica e ecologicamente subpopulações dessas bacias.

Almeida & Almeida (1987), coletando acessos de cacau silvestres de Rondônia, presumiram que o intercâmbio de genes promovido por agentes naturais de dispersão, tais como água, aves, macacos, roedores, etc., ao longo da história evolutiva de *T. cacao*, é a razão da similaridade entre as populações. Para isso consideraram a inexistência de barreiras naturais entre as populações exploradas, a distância entre elas (cerca de 40 km), a presença de populações menores ou de plantas isoladas entre as mesmas, constituindo, possivelmente elementos de conexão gênica e a semelhança de tais populações com referência a caracteres morfológicos, fisiológicos e biométricos de fruto e semente. Dessa forma, acredita-se que as populações de cacau silvestres das Bacias de Jamari e de Ji-Paraná estejam geneticamente relacionadas e que pertençam a um mesmo grupo gênico (Almeida *et al.*, 1995; Almeida, 2001). O mesmo não foi verificado por Mota (2003), que encontrou divergência entre as populações das duas bacias devido a processos recentes de intervenção humana, através de cultivo e seleção, como verificado por Almeida (1982) e Almeida (2001).

Quando submetidos à estatística F, a maioria dos valores de D^2 foram significativos, concordando com os resultados encontrados pelo teste univariado. A distinção existente entre as populações das bacias hidrográficas estudadas parece confirmar que a diferenciação das populações silvestres de cacau da Amazônia, evoluiu de acordo com cada sistema de bacias hidrográficas. Como verificado por Dias *et al.* (2003a), Mota *et al.* (2012) e Silva *et al.* (2012).

A diferenciação entre as populações das bacias hidrográficas estudadas pode estar relacionada com a distância geográfica entre elas. (Dias *et al.*, 2003a). As bacias de Ji-Paraná e de Solimões/Amazônia-PA distanciam-se a mais de 800 Km. O isolamento geográfico pode ter reduzido o fluxo gênico e influenciado na maior distância genética entre as populações destas bacias.

Outra explicação para a diferenciação entre populações das bacias pode ser a ação de processos evolutivos passados, como relatado em estudos com marcadores moleculares (Mota, 2003; Lachenaud & Zhang, 2008; Motamayor, 2008; Thomas *et al.*, 2012). Neste trabalho utilizou-se a combinação de três hipóteses: barreiras fluviais (Patton *et al.*, 1994), refúgios (Haffer, 1969) e lagoa amazônica (Klammer, 1984). Essa combinação também foi utilizada por Dias *et al.* (2003a) para discutir e explicar a variabilidade entre as populações de quatro bacias hidrográficas da Amazônia brasileira. Todavia, esses autores avaliaram dados de 64 progênies, 16 em cada bacia, em apenas um ano. Neste estudo

foram avaliados maior número de acessos de mais bacias, durante quatro anos. Porém, o número de acessos por bacia variou de 1 a 63.

Segundo a hipótese dos refúgios, alterações climáticas impostas pela glaciação, ocorrida durante o Pleistoceno e Pós-Pleistoceno, resultaram na fragmentação da floresta amazônica em períodos secos, formando refúgios de florestas em setores mais úmidos da bacia. Durante os períodos úmidos, esses fragmentos se reconectavam. O processo de recuo e expansão se repetiu por várias vezes durante o quaternário, levando a uma rápida diferenciação das populações da floresta amazônica. O isolamento provavelmente limitou o fluxo gênico entre as populações de cacau, que evoluíram alopaticamente sob seleção natural e deriva genética, conforme sugerido por outros autores (Young, 1994; Dias *et al.*, 2003a; Mota, 2003). A mesma teoria foi confirmada por Lachenaud (1997), em estudos de evolução de populações de cacau nativos da Guiana Francesa. Em algumas extensões, as bacias hidrográficas avaliadas correspondem a áreas de refúgio, propostas inicialmente por Haffer (1969) e posteriormente por Prance (1973). As bacias de Delta/estuário, de Ji-Paraná, de Solimões/Amazonas-AM e as bacias Peruanas, correspondendo aos refúgios de Xingu, Aripuanã, Manaus e East Peru, respectivamente.

A hipótese das barreiras fluviais foi aventada por Alfred Russel Wallace (1852), em seu estudo com primatas da região amazônica. Segundo Wallace as barreiras formadas pelos grandes rios da floresta amazônica influenciaram no desenvolvimento da biodiversidade local. Darwin (1859) também destacou a importância dessas barreiras na restrição da migração, na geração de novas espécies e no confinamento de táxons em determinadas regiões. Essa hipótese foi corroborada posteriormente por Patton *et al.* (1994). As populações da floresta Amazônica, que distribuíam-se continuamente, foram isoladas geograficamente quando a rede dos grandes rios amazônicos se formou no final do Terciário e início do Quaternário. Essas barreiras podem ter impedido o fluxo gênico entre as populações e levado a especiação em margens opostas dos rios (Nelson & Platnick, 1981). Como consequência, as espécies evoluíram por seleção natural e deriva genética. A distribuição descontínua de pequenas populações ao longo de curso d'água parece reforçar o papel dos rios na divergência alopátrica das populações naturais da Amazônia (Pound, 1938; Almeida *et al.*, 1987; Young, 1994; Sereno, 2001; Dias *et al.*, 2003a; Mota, 2003).

Esse padrão de diversificação tem sido frequentemente associado também à teoria dos refúgios (Haffer, 1969; Dias *et al.*, 2003a).

A capacidade de um rio separar populações varia ao longo do seu curso, sendo mais estreito nas cabeceiras do que na foz. Essa variação pode permitir o contato entre populações e a transposição de uma margem para outra (Menin, 2007). Acredita-se que o fluxo gênico seja mais restrito em grandes rios e suas cabeceiras do que em pequenos rios e suas cabeceiras (Dias *et al.*, 2003a). Assim a divergência entre bacias é maior que entre as populações dentro bacias. O fato de que na maioria dos casos as populações das bacias foram geneticamente distantes, como revelado pela estatística- D^2 , mostra que o fluxo gênico entre elas pode ter sido realmente reduzido.

De acordo com a hipótese do lago Amazônico, nos últimos quatro milhões de anos, no Plio-pleistoceno, o aumento do nível do mar tornou-se uma barreira para a descarga do sistema de águas do Rio Amazonas. Esse processo resultou na formação da lagoa amazônica que cobria a maior parte da Amazônia, no fim do Terciário (Plioceno). Presume-se que porções menores da floresta foram cobertas durante uma série de alternâncias do nível do mar durante o Quaternário. A inundação empurrou as florestas tropicais para regiões periféricas da Bacia Amazônica, as atuais fronteiras das terras altas. A diferenciação que ocorreu nas bordas da bacia aumentou o efeito de isolamento dos rios alargados, separando populações de animais e plantas em “ilhas” florestais, como parece estar evidenciado pelos correspondentes níveis de terraços no vale do Baixo Amazonas (Klammer, 1984; Marroig & Cerqueira, 1997). Contudo, de acordo com Clapperton (1993), os níveis dos terraços teriam sido levantados tectonicamente a sua altura atual.

Segundo Mota (2003) a ocorrência de alelos privados nas Bacias do Solimões/Amazonas e do Acre apontam maior diversidade nas regiões mais periféricas da Amazônia. Esse resultado reforça as hipóteses de que a diferenciação das populações de cacau resulta do isolamento imposto pelas barreiras fluviais ou pelo suposto lago amazônico. Fundamentadas em evidências geológicas e biológicas essas hipóteses poderiam explicar a maior diversidade na periferia (terras altas) do que na região central da Amazônia (Bush, 1994), isto sugere maior fluxo gênico convergindo das bordas para o centro da Bacia Amazônica (Marroig & Cerqueira, 1997).

5.2. AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE CACAU COM FOCO EM MELHORAMENTO

De acordo com a análise de variância (ANAVA) houve diferenças significativas ($P < 0,05$) entre clones para todas as características (Tabela 6), indicando que há variabilidade entre os mesmos. Resultado semelhante foi obtido por Okabe *et al.* (2004), Almeida *et al.* (2005) e Almeida *et al.* (2009), avaliando acessos do BAG da Estex-OP. Diversidade genética entre populações silvestres de cacauzeiros foi verificada por outros autores (Lachenaud & Oliver, 2005; Lachenaud *et al.*, 2007) em avaliações de características morfológicas e em estudos com marcadores moleculares (Motamayor *et al.*, 2008, Boza *et al.*, 2013). Esse resultado é de grande relevância já que a existência de variabilidade é condição precípua para o melhoramento do cacauzeiro, assim como para a possibilidade de ganhos genéticos (Almeida & Dias, 2001).

Quanto aos componentes de produção, os valores dos coeficientes de variação amostrais (CV%) variaram de 9,25% para massa média de sementes úmidas por fruto sadio (MMSUFS) a 99,31% para percentagem de frutos com sementes germinadas (PFSGE). Quanto aos componentes de resistência em campo, os CVs variaram de 28,84% para número de ramos com vassoura-de-bruxa (NRVB) a 41,24% para número de almofadas florais com vassoura-de-bruxa (NAFVB). Em razão da expressiva variação natural de *T. cacao* e de os dados terem sido obtidos em condições não experimentais, os valores de CV encontrados podem ser considerados aceitáveis (Okabe, 2004).

Tabela 6. Resumo das análises de variância (ANAVAs), relativas a 11 caracteres avaliadas em 145 acessos de cacau, em Ouro Preto do Oeste, RO, com base na média de quatro anos

Caracteres	Fontes de variação		Média	CV (%)
	Clone	Erro		
	Quadrados médios			
NTFC⁽¹⁾	1.753,60*	371,29	41,57	46,35
NTFS⁽²⁾	996,34*	164,08	25,66	49,92
MSUFS⁽³⁾	3.571.906,60*	904.634	1.869,98	50,86
MMSUF⁽⁴⁾	4.202,90*	55,24	80,31	9,25
MSSFS⁽⁵⁾	571.502,28*	144.740,50	747,98	50,86
MMSSFS⁽⁶⁾	672,42*	8,84	32,12	9,26
PFVB⁽⁷⁾	307,72*	37,89	19,39	31,75
PFBR⁽⁸⁾	178,42*	37,30	14,16	43,12
PFSGE⁽⁹⁾	6,90*	2,22	1,50	99,31
NRVB⁽¹⁰⁾	2,63*	0,29	1,86	28,84
NAFVB⁽¹¹⁾	1,18*	0,17	0,99	41,24
gl	144	618		

⁽¹⁾Número total de frutos colhidos; ⁽²⁾número total de frutos sadios; ⁽³⁾massa de sementes úmidas dos frutos sadios, em g; ⁽⁴⁾massa média de sementes úmidas por frutos sadios, em g; ⁽⁵⁾massa de sementes secas dos frutos sadios, em g; ⁽⁶⁾massa média de sementes secas por frutos sadios, em g; ⁽⁷⁾percentagem de frutos com vassoura-de-bruxa; ⁽⁸⁾Percentagem de frutos com broca; ⁽⁹⁾percentagem de frutos com sementes germinadas; ⁽¹⁰⁾número de ramos com vassoura-de-bruxa; ⁽¹¹⁾número de almofadas florais com vassoura-de-bruxa. * Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Mesmo em experimentos com repetições, outros autores relataram valores de CV de alta magnitude. Dias *et al.* (2000) em experimentos implantados em blocos casualizados e avaliados durante três anos, relataram variação de 28,6% para percentagem de frutos doentes a 35,2% para número total de frutos sadios. Em um estudo semelhante Dias & Kageyama (1995) obtiveram CVs de 6,79% para massa de sementes úmidas por fruto sadio a 34,07% para percentagem de frutos doentes.

Nos programas de melhoramento genético do cacau, busca-se obter genótipos superiores com alta qualidade e alta produção de sementes (Dias & Resende, 2001). Vários caracteres, quando considerados isoladamente ou em

combinação com outros, têm sido valorosos na seleção de genótipos superiores para rendimento (Carvalho *et al.*, 2001). As correlações fenotípicas permitem quantificar, aos pares, a associação entre componentes sem, no entanto, considerar suas causas (Dias & Resende, 2001).

Através da análise do coeficiente de Pearson (Tabela 7) pode-se observar que as maiores associações lineares significativas foram entre número total de frutos colhidos (NTFC) e número total de frutos sadios (NTFS) (0,94), número total de frutos colhidos (NTFC) e massa de sementes úmidas dos frutos sadios (MSUFS) (0,84), número total de frutos sadios (NTFS) e massa de sementes úmidas dos frutos sadios (MSUFS) (0,86) e entre número de ramos com vassoura-de-bruxa (NRVB) e número de almofadas florais com vassoura-de-bruxa (NAFVB) (0,54).

Tabela 7. Correlações lineares relativas a onze caracteres avaliados em 145 acessos de cacau, em Ouro Preto do Oeste, RO, com base na média de quatro anos

Variáveis	NTFS	MSUFS	MMSUFS	MSSFS	MMSSFS	PFVB	PFBR	PFSGE	NRVB	NAFVB
NTFC	0,94*	0,84*	-0,33*	0,84*	-0,33*	-0,04	-0,26*	0,04	0,37*	0,26*
NTFS		0,86*	-0,36*	0,86*	-0,36*	-0,26*	-0,38*	0,04	0,28*	0,15*
MSUFS			0,05	1,00*	0,05	-0,18*	-0,36*	-0,04	0,30*	0,22*
MMSUFS				0,05	1,00*	0,18*	0,07*	-0,13*	-0,01	0,04
MSSFS					0,05	-0,18*	-0,36*	-0,04	0,30*	0,22*
MMSSFS						0,18*	0,07*	-0,13*	-0,01	0,04
PFVB							0,04	0,02	0,26*	0,26*
PFBR								-0,14*	-0,24*	-0,13*
PFSGE									0,14*	0,04
NRVB										0,54*

NTFC (Número total de frutos colhidos), NTFS (Número total de frutos sadios), MSUFS (Massa de sementes úmidas dos frutos sadios, em g), MMUSFS (Massa média de sementes úmidas por fruto sadio, em g), MSSFS (Massa de sementes secas dos frutos sadios, em g), MMSSFS (Massa média de sementes secas por frutos sadios, em g), PFVB (Percentagem de frutos com vassoura-de-bruxa), PFBR (Percentagem de frutos com broca), PFGE (Percentagem de frutos com sementes germinadas), NRVB (Número de ramos com vassoura-de-bruxa), NAFVB (Número de almofadas florais com vassoura-de-bruxa). * Significativo a 5% de probabilidade pelo teste F.

Estudos revelam que o número de frutos por planta, o número de sementes por frutos, a massa de sementes úmidas ou secas por fruto e por

planta e a massa média das sementes, constituem os principais componentes da produção (Soria, 1977; 1978). A produção propriamente dita refere-se à massa de sementes fermentadas e secas produzidas por hectare, um componente complexo e de difícil avaliação (Ruinard, 1961; Are & Atanda, 1972). O desenvolvimento de cultivares com alta produtividade é tarefa árdua, pois a produção e seus componentes sofrem grande influência ambiental (Dias & Resende, 2001).

A produção de frutos é considerada um critério confiável para estimar o potencial produtivo de dada cultivar (Esquivel & Soria, 1967; Atanda, 1972) e pode ser facilmente mensurável em cacauzeiros aptos à seleção. O número total de frutos colhidos (NTFC), incluindo os sadios e os doentes, representa a produção potencial da planta, enquanto o número total de frutos sadios (NTFS) representa a produção real, ambos componentes de produção muito utilizados (Dias & Kageyama, 1995). A seleção de genótipos, no entanto, é melhor realizada considerando-se o NTFS, pois é dos frutos sadios que se extraem as sementes, fermentadas e secas, para a comercialização. Além disso, a importância desse caráter aumenta em decorrência de haver correlação positiva e significativa entre o mesmo e a massa de sementes úmidas (Esquivel & Soria, 1967; Almeida, 1991), como observado no presente estudo ($r = 0,86$). Resultado semelhante foi obtido por Carvalho *et al.* (2001) ($r = 0,95$) e Almeida *et al.* (2009) ($r = 0,83$).

A alta correlação fenotípica significativa entre NTFS e NTFC ($r = 0,94$) observada é de grande interesse em programas de melhoramento, pois a eliminação de frutos inviáveis, a partir dos frutos colhidos, é um processo moroso. Valores de correlação altamente significativos entre esses dois caracteres foram obtidos também por Almeida *et al.* (2009), avaliando acessos do mesmo BAG ($r = 0,93$). Todavia, a utilização desses componentes deve ser comedida, pois o aumento na produção de frutos pode implicar na redução do número de sementes, da massa das sementes fermentadas e secas, por fruto e da massa dos frutos (Almeida, 1991; Dias & Resende, 2001).

A seleção direta para o número total de frutos sadios pode maximizar a seleção para a produção, pois o número de frutos sadios por planta está geneticamente correlacionado à massa das sementes fermentadas e secas por planta, ou seja, à produção (Dias & Resende, 2001). São observadas altas correlações fenotípicas positivas entre o número de frutos produzidos e a massa

de sementes fermentadas e secas (Esquivel & Soria, 1967) e entre o número de frutos produzidos e a massa de sementes úmidas (Esquivel & Soria, 1967; Atanda, 1972). No presente estudo, altas correlações foram encontradas entre o número total de frutos colhidos (NTFC) e a massa de sementes secas dos frutos sadios (MSSFS) (0,84), entre o NTFC e a massa de sementes úmidas dos frutos sadios (MSUFS) (0,84) e entre o número total de frutos sadios (NTFS) e a MSSFS (0,86). A massa de sementes secas dos frutos sadios foi calculada através da utilização de um fator de correção (0,4). É uma prática usual utilizar o fator de conversão médio de 40% para converter a massa de sementes úmidas em massa de sementes secas (Are & Atanda, 1972), pois, após a secagem das sementes de cacau, estima-se que a umidade caia para 60%. Contudo, muitos autores alertam que a taxa de conversão pode variar de acordo com o genótipo e com os fatores ambientais (Are & Atanda, 1972; Atanda, 1972; Carletto *et al.*, 1983).

As sementes são o produto de maior comercialização do cacau, portanto devem atender aos quesitos de qualidade exigidos pelas indústrias (Benjamin, 2012). Para o agricultor esse caráter é importante, pois quanto maior a sua magnitude, menor o trabalho para a colheita e quebra de frutos (Dias & Resende, 2001). A massa de sementes úmidas por fruto também é caráter de grande interesse ao produtor, pois após o beneficiamento dessas sementes ele irá dispor da matéria-prima (sementes fermentadas e secas) para a comercialização (Almeida *et al.*, 2009). Deve-se considerar que a correlação entre massa de sementes úmidas e massa de sementes secas é, geralmente, positiva e altamente significativa (Castro & Bartley, 1983). No presente trabalho, a correlação entre a massa de sementes úmidas dos frutos sadios (MSUFS) e a massa de sementes secas por fruto sadio (MSSFS) foi de 100% ($r = 1$), pelo fato da segunda característica ter sido mensurada através da multiplicação da primeira pelo fator de correção (0,4).

Outro caráter que deve ser levado em consideração no melhoramento genético do cacau é a massa média de sementes úmidas por fruto sadio (MMSUFS), frequentemente empregado na avaliação indireta da produção (Esquivel & Soria, 1967; Dias & Kageyama, 1995). Acréscimo neste componente provém do aumento da massa média de sementes secas e do número de sementes por fruto (Ruinard, 1961). Isso resulta em menores custos com a colheita e com a quebra dos frutos, além da maior valorização do produto

comercial já que a indústria chocolateira exige sementes com peso médio seco acima de 1 g (Ruinard, 1961; Dias & Resende, 2001). Contudo, a MMSUFS é um componente altamente influenciado pelo ambiente (Bartley, 1969), além disso, a umidade das sementes pode variar de acordo com o genótipo (Bartley, 1967). Correlação significativa entre massa média de sementes úmidas e massa média de sementes secas foi observada por Mariano *et al.* (1988) e Benjamin (2012). A baixa magnitude das correlações encontradas neste estudo, entre o NTFC, o NTFS, a MSUFS, a MSSFS e a MMSUFS ($r = <0,052$) indica a dificuldade de se selecionar acessos clonais de cacau para elevada produtividade com uso do componente de MMSUFS, como verificado por Almeida *et al.* (2009) e Carvalho *et al.* (2001).

A percentagem de frutos com sementes germinadas (PFSGE), a percentagem de frutos com broca (PFBR), a percentagem de frutos com vassoura-de-bruxa (PFVB), o número de ramos com vassoura-de-bruxa (NRVB) e o número de almofadas florais com vassoura-de-bruxa (NAFVB), representam os problemas que podem afetar a produção de cacau. São componentes passíveis de forte influência ambiental (Dias & Kageyama, 1998), no entanto podem ser importantes na discriminação de genótipos tolerantes e mais adaptados. A média geral de frutos sadios por planta, considerando os quatro anos de cultivo, foi de 25,66. Houve uma queda de 38,27% da produção por ocorrência de vassoura-de-bruxa (*Moniliophthora perniciosa*), colebroca-dos-frutos (*Conotrachelus humeropictus*), atrasos na colheita (mumificados e germinados) e ação de animais predadores.

A vassoura-de-bruxa é uma doença de grande incidência na região cacaeira de Rondônia, onde as condições climáticas são favoráveis ao seu desenvolvimento (Sánchez, 2011). As infecções em campo dependem do vigor das plantas, das diferentes respostas de cada genótipo (Rios-Ruiz, 2001) e do patótipo do fungo (Wheeler & Mepsted, 1982). A ausência ou a reduzida manifestação de sintomas pode resultar em baixa atividade dos tecidos meristemáticos, os mais suscetíveis ao ataque da doença (Cronshaw & Evans, 1978), por fatores ambientais ou pela presença de fatores genéticos para resistência. O local em que os acessos analisados foram cultivados tem elevada concentração de inóculo do patógeno, em razão de plantação adjacente de variedades híbridas sem controle cultural da doença (Almeida *et al.*, 2009).

A principal forma de disseminação da doença é pelo ar e pelas chuvas (Andebrhan, 1988). A produção de basidiocarpos ocorre após alternâncias de períodos secos e úmidos (Rocha & Wheeler, 1982) e a liberação dos mesmos se dá, preferencialmente, durante a noite (Lawrence *et al.*, 1991), com umidade relativa do ar entre 80% e 85% e temperatura entre 20 °C e 25 °C (Rocha & Wheeler, 1985). A precipitação anual no estado de Rondônia, considerando os quatro anos de estudo, oscilou entre 1810 mm e 1980 mm. Os valores de umidade relativa do ar variaram de 84% a 87% e a temperatura média de 24,8 °C a 25,9 °C (SEDAM, 2002; 2003; 2004; 2005). Esses fatores podem ter favorecido a maior produção de basidiocarpos e a infecção de frutos, ramos e almofadas florais. Podem ter afetado, também, a infestação de coleobrocas que se desenvolvem na temperatura de 27 °C e UR do ar de 80% (Mendes *et al.*, 1997). Em períodos com altas precipitações parece ocorrer maior infestação (Thomazini, 2002). A manifestação da praga depende dos tratos culturais, da idade e densidade de plantas e do sistema de plantio. A incidência de coleobrocas em frutos de cacauzeiros em Ouro Preto do Oeste, RO foi estimada em até 52% nas épocas mais favoráveis ao inseto (Trevisan, 1989).

A associação entre PFVB e NRVB ($r = 0,26$) e entre PFVB e NAFVB ($r = 0,26$) NRVB e NAFVB ($r = 0,54$) indica certa contribuição das vassouras da copa para a infecção das almofadas florais (Almeida *et al.*, 2009). No início da epidemia, o inóculo proveniente da copa dos cacauzeiros é o mais importante para a infecção (Andebrhan *et al.*, 1998). A baixa correlação entre PFBR, PFVB, NRVB e NAFVB ($r = <0,37$) e os demais caracteres avaliados evidencia a dificuldade em se proceder à seleção que vise, simultaneamente, os componentes de resistência em campo e os componentes de produção, como verificado por Almeida *et al.* (2009).

6. CONCLUSÕES

Este estudo fornece novas compreensões sobre a estrutura genética e distribuição das populações de cacau, visando a coleta, a gestão, a conservação e o melhoramento. A coleta de germoplasma deve levar em consideração a distribuição espacial da variação genética. Uma vez que a maior parte da variação concentrou-se entre cacauzeiros dentro de bacias e entre bacias, para aperfeiçoar o processo de coleta deve-se priorizar maior número de plantas de poucas populações das bacias mais divergentes. As bacias hidrográficas

parecem ser um fator de variação na estruturação das populações silvestres. No entanto é necessário se ter cautela, já que o número de acessos caracterizados por bacia não foi o mesmo. Os acessos avaliados apresentaram variabilidade em relação a todos os caracteres, o que sugere a possibilidade de ganhos com a seleção em programas de melhoramento.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILAR, M.A.G.; SOUZA, C.A.S.; DIAS, L.A.S.; MARINATO, C.S. Botânica e Morfologia. In: SOUZA, C.A.S.; DIAS, L.A.S.; AGUILAR, M.A.G.; BORÉM, A. (Eds.) **Cacau: do plantio à colheita**. Viçosa: Editora UFV, 2016a. p.111-122.

AGUILAR, M.A.G.; SOUZA, C.A.S.; MARINATO, C.S.; DIAS, L.A.S. Identificação e manejo integrado de doenças. In: SOUZA, C.A.S.; DIAS, L.A.S.; AGUILAR, M.A.G.; BORÉM, A. (Eds.) **Cacau: do plantio à colheita**. Viçosa: Editora UFV, 2016b. p.230-255.

ALLEN, J.B. **Geographical variation and population biology in wild *Theobroma cacao* L.** 1988. 218f. Thesis (Ph.D. MPhil, D. Clin. Psychol.) - University of Edinburgh, Edinburgh, 1988.

ALMEIDA, C.M.V.C. **Relatório da expedição botânica para coleta de cacau nativo na região de Ariquemes, Rondônia, 1982**. Belém: CEPLAC/DEPEA, 1982. 21p.

ALMEIDA, C.M.V.C.; ALMEIDA, C.F.G. Coleta de cacau silvestre no Estado de Rondônia. **Rev. Theobroma**, Itabuna, v.17, n.2, p.65-92, 1987.

ALMEIDA, C.M.V.C.; BARRIGA, J.P.; MACHADO, P.F.R.; BARTLEY, B.G.D. **Evolução do programa de conservação dos recursos genéticos de cacau na Amazônia brasileira**. In: BOLETIM TÉCNICO, 51987. Belém: CEPLAC/DEPEA, 1987. 108p.

ALMEIDA, C.M.V.C. **Correlações entre caracteres no estágio adulto e possibilidade de seleção precoce em híbridos biclonais de cacau (*Theobroma cacao* L.)**. 1991. 215f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1991.

ALMEIDA, C.M.V.C.; MACHADO, P.F.R.; BARRIGA, J.P.; SILVA, F.C.O. **Coleta de cacau (*Theobroma cacao* L.) da Amazônia brasileira: uma abordagem histórica e analítica**. Porto Velho: CEPLAC/SUPOC, 1995. 92p.

ALMEIDA, C.M.V.C. Ecologia de populações naturais. In: Dias L. A. S. (Ed.) **Melhoramento genético do cacaueiro**. Viçosa, MG: FUNAPE/UFG, 2001. p.129-162.

ALMEIDA, C.M.V.C.; DIAS, L.A.S. Recursos genéticos. In: DIAS, L.A.S. (Ed.) **Melhoramento genético do cacaueiro**. Viçosa, MG: FUNAPE/UFG, 2001. p.163-216.

ALMEIDA C.M.V.C.; DIAS, L.A.S.; OKABE, E.T.; MEDEIROS, J.R.P. Variability in genetic resources of cacao in Rondônia, Brazil. **Crop Breed. Appl. Biotechnol**, Viçosa, v.5, n.3, p.317-323, 2005.

ALMEIDA, A.A.F.; VALLE, R.R. Ecophysiology of the cacao tree. **Braz. J. Plant. Physiol.**, Rio de Janeiro, v.19, n.4, p.425-448, 2007.

ALMEIDA, C.M.V.C.; DIAS, L.A.S.; SILVA, A.P. Caracterização agrônômica de acessos de cacau. **Pesqui. Agropec. Bras.**, Brasília, v.44, n.4, p.368-373, 2009.

ALMEIDA, A.A.F.; VALLE, R.R. Cacao: Ecophysiology of Growth and Production. In: DaMATTA, F.M. (Ed.). **Ecophysiology of Tropical Tree Crops**. Hauppauge: Nova Science Publishers Inc., 2010, p.37-70.

ANDEBRHAN, T. Rain water as a factor in the dissemination of basidiospores of *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer within cacao tree. In: INTERNATIONAL COCOA RESEARCH CONFERENCE, 10, 1987, Lagos. **Proceedings...** Lagos: Cocoa Producers' Alliance, 1988. p.363-366.

ANDEBRHAN, T.; ALMEIDA, L.C.; NAKAYAMA, L.H.I. Resistência de *Theobroma cacao* L. a *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer: a experiência na Amazônia brasileira. **Rev. Agrotrópica**, Ilhéus, v.10, n.2, p.49-60, 1998.

ARE, L.A.; ATANDA, O.A. Seasonal influences on some yield factors in four varieties of *Theobroma cacao* L. **J. Trop. Agric.**, Trinidad y Tobago, v.49, n.2, p.161-170, 1972.

ATANDA, O.A. Correlation studies in *Theobroma cacao* L. **Turrialba**, Costa Rica, v.22, n.1, p.81-89, 1972.

BARTLEY, B.G.D. Progress in cacao breeding and genetics. In: PROCEEDINGS OF THE FIRST INTERNATIONAL COCOA RESEARCH CONFERENCE, 1967, Abidjan. **Proceedings...** Abidjan, 1967, p.228-232.

BARTLEY, B.G.D. Twenty years of cacao breeding at the Imperial College of Tropical Agriculture, Trinidad. In: INTERNATIONAL COCOA RESEARCH CONFERENCE, 2, 1969, Salvador/Itabuna. **Proceedings...** Salvador/Itabuna: CEPLAC, 1969. p.29-34.

BARTLEY, B.G.D. **The genetic diversity of Cacao and its utilization.** Massachusetts: CABI Publishing, 2005. 341p.

BARBOSA, R.C.M.; NEVES, A.D.N. **Levantamento semidetalhado dos solos da Estação Experimental de Ouro Preto, RO.** In: BOLETIM TÉCNICO n° 105, 1983. Ilhéus: CEPLAC/CEPEC, 1983. 24p.

BECKETT, S.T. **Industrial chocolate manufacture and use.** London: Chapman and Hall, 2009. 720p.

BENJAMIN, C.S. **Seleção de genótipos de cacaueteiro para resistência a *Moniliophthora perniciosa* e produtividade.** 2012. 84f. Dissertação (Mestrado em produção vegetal) – Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2012.

BOZA, E.J.; IRISH, B.M.; MEEROW, A. W.; TONDO, C.L.; RODRÍGUEZ, O.A.; VENTURA-LÓPEZ, M; GÓMEZ, J.A.; MOORE, J.M.; ZHANG, D.; MOTAMAYOR, J.C.; SCHNELL, R.J. Genetic diversity, conservation, and utilization of *Theobroma cacao* L.: genetic resources in the Dominican Republic. **Genet. Resour. Crop Evol.**, Dordrecht, v.60, n.2, p.605-619, 2013.

BUSH, M.B. Amazonian speciation: a necessarily complex model. **J. Biogeogr.**, v.21, n.1, p.5-17, 1994.

CARLETTO, G.A.; MONTEIRO, W.R.; BARTLEY, B.G.D. Critérios para seleção de híbridos com cacaueteiros. **Rev. Theobroma**, Itabuna, v.13, n.3, p.315-320, 1983.

CARVALHO, C.G.P.; ALMEIDA, C.M.V.C.; CRUZ, C.D.; MACHADO, P.F.R. Avaliação e seleção de híbridos de cacauero em Rondônia. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v. 36, n. 8, p.1043-1051, 2001.

CASTRO, G.C.T.; BARTLEY, B.G.D. Caracterização dos recursos genéticos do cacauero: 1. Folha, fruto e semente de seleções da Bahia das séries SIC e SIAL. **Rev. Theobroma**, Itabuna, v.13, n.3, p. 263-273, 1983.

CEPLAC (COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA). **Cacau: história e evolução.** Disponível em: <<http://www.ceplac.gov.br/radar/cacau.htm>>. Acesso em: 21 jun. 2016a.

CEPLAC (COMISSÃO EXECUTIVA DO PLANO DA LAVOURA CACAUEIRA). **Cacau: história e evolução.** Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Cacau/19RO/A_pp_CEPLAC.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2016b.

CHAPMAN, R.K.; SORIA, S.J. Comparative Forcipomyia (Diptera, Ceratopogonidae) pollination of cacao in Central America and Southern Mexico. **Rev. Theobroma**, Itabuna, v.13, n.3, p. 129-139, 1983.

CHEESMAN, E.E. Notes on the nomenclature, classification and possible relationships of cacao populations. **Trop. Agric.**, St Augustine, v.21, p.144-159, 1944.

CLAPPERTON, C.M. Nature of environmental changes in South America at the last glacial maximum. **Palaeogeogr., Palaeoclimatol., Palaeoecol.**, Amsterdam, vol.101, n.3-4, p.189-208, 1993.

COE, S.D.; COE, M.D. **The true history of chocolate.** London: Thames and Hudson, 1996. 280p.

COPE, F.W. Compatibility and fruit setting in cacao. In: ANNUAL REPORT ON CACAO RESEARCH 1939. Trinidad: ICTA, 1939. v.8, p.17-20.

COPE, F.W. The mechanism of pollen incompatibility in *Theobroma cacao* L. **Heredity**, Reino Unido, v.17, n.2, p.157-182, 1962.

CRONSHAW, D.K.; EVANS, H.C. Witches broom disease of cocoa (*Crinipellis pernicioso*) in Ecuador. **Ann. Appl. Biol.**, Warwickshire, v.89, n.2, p.193-200, 1978.

CUATRECASAS, J. **Cacao and its Allies**: A taxonomic revision of the genus *Theobroma*. Washington: Smithsonian Institution, 1964. 236p.

DARWIN, C. **On the origin of species (by means of natural selection)**. London: John Murray, 1859, 247p.

DEHEUVELS, O.; AVELIN O.J.; SOMARRIBA, E.; MALEZIEUX, E. Vegetation structure and productivity in cocoa-based agroforestry systems in Talamanca, Costa Rica. **Agric., Ecosyst. & Environ.**, Netherlands, v.149, p.181-188, 2012.

DIAS, L.A.S.; KAGEYAMA, P.Y. Variação genética em espécies arbóreas e conseqüências para o melhoramento florestal. **Rev. Agrotrópica**, Ilhéus, v.3, n.3, p.119-127, 1991.

DIAS, L.A.S.; KAGEYAMA, P.Y. Combining-ability for cacao (*Theobroma cacao* L.) Yield components under southern Bahia conditions. **Theor. Appl. Genet.**, Germany, v.90, n.3-4, p.534-54, 1995.

DIAS, L.A.S.; KAGEYAMA, P.Y. Comparison between multivariate methods applied for the evaluation of genetic divergence in cacao (*Theobroma cacao* L.). **Braz. Arch. Biol. Technol.**, Curitiba, v.41, n.2, p.199-206, 1998.

DIAS, L.A.S.; SOUZA, C.A.S.; AUGUSTO, S.G.; SIGUEIRA, P.R.; MÜLLER, M. W. Performance and temporal stability analyses of cacao cultivars in Linhares, Brasil. **Plantations, Recherche, Développement**, Montpellier, v.50, n.5, p.343-350, 1998.

DIAS, L.A.S.; SANTOS, M.M.; SANTOS, A.O.S.; ALMEIDA, C.M.V.C.; CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P.C.S. Effect of planting density on yield and incidence of witches's broom disease in a Young plantation of hybrid cacao trees. **Expl. Agric.**, Cambridge, n.4, v.36, p.501-508, 2000.

DIAS, L.A.S. Origem e dispersão de *Theobroma cacao* L: novo cenário. In: DIAS L.A.S. (Ed.) **Melhoramento genético do cacauero**. Viçosa, MG: FUNAPE/UFV, 2001. p. 81-127.

DIAS, L.A.S.; RESENDE, M.D.V. Estratégias e métodos de seleção. In: DIAS L.A.S. (Ed.) **Melhoramento genético do cacau**. Viçosa, MG: FUNAPE/UFG, 2001. p. 81-127.

DIAS, L.A.S.; BARRIGA, J.P.; KAGEYAMA, P.Y.; ALMEIDA, C.M.V.C. Variation and its distribution in wild cacao populations from the Brazilian Amazon. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, Curitiba, v.46, n.4, p.507-514, 2003a.

DIAS, L.A.S.; MARITA, J.; CRUZ, C.D.; BARROS, E.G.; SALOMÃO, T.M.F. Genetic distance and its association with heterosis in cacao. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, Curitiba, v.46, n.3, p.339-347, 2003b.

DIAS, L.A.S.; BARROS, W.S. **Biometria experimental**. Viçosa: Suprema, 2009. 408p.

EFOMBAGN, M.I.B.; SOUNINGO, O.; ESKES, A.B.; MOTAMAYOR, J.C.; MANZANARES-DAULEUX, M.J.; SCHENELL, R.; NYASSÉ, S. Parentage analysis and outcrossing patterns in cacao (*Theobroma cacao* L.) farms in Cameroon. **Heredity**, Reino Unido, v.103, n.1, p.46–53, 2009.

ESKES, A.B. Collaborative and participatory approaches to cocoa variety improvement. Final report of the CFC/ICCO/Biodiversity project on Cocoa productivity and quality improvement: A participatory approach (2004–2010). CFC, Amsterdam, The Netherlands/ICCO, London, UK/Biodiversity International, Rome, Italy, 2011.

ESQUIVEL, O.; SORIA, J. Algunos datos sobre a variabilidad de algunos componentes del rendimiento em poblaciones de híbridos interclonales de cacao. **Cacao**, Costa Rica, v.12, n.4, p.1-7, 1967.

GRAMACHO, I.C.P.; MAGNO, A.E.S.; MANDARINO, E.P.; MATOS, A. **Cultivo e beneficiamento do cacau na Bahia**. Ilhéus: CEPLAC/CEDEX, 1992. 194p.

HAFFER, J. Speciation in Amazonian forest birds. **Science**, Washington, v.165, n.3889, p.131-137, 1969.

HARVEY, C.A.; GONZALEZ, J.; SOMARRIBA, E. Dung beetle and terrestrial mammal diversity in forests, indigenous agroforestry systems and plantain

monocultures in Talamanca, Costa Rica. **Biodiversity and Conservation**, California, v.15, n.2, p.555–585, 2006.

HOLDEN, C. Cheers for chocolate. **Science**, Washington, v.284, n.5411, p.39, 2000.

HUNTER, H.; Leake, H.M. **Recent advances in agricultural plant breeding**. Philadelphia: Blakiston, 1933. 361p.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção agrícola municipal – culturas temporárias e permanentes**. Rio de Janeiro: IBGE. v.40, 102p, 2013.

ICCO – International Cocoa Organization. **Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics**. Cocoa year 2014/2015. London: ICCO, v.41, n.1, 10p., 2015.

KLAMMER, G. The relief of the extra-Andean Amazon basin. In: SIOLI, H.; JUNK, W. (Eds.). **The Amazon: Limnology and landscape ecology of a mighty tropical river and its basin**. Califórnia: W. Junk, 1984. p.47-83.

LACHENAUD, P. Genetic/taxonomic structuring of the *Theobroma cacao* L. species – fresh hypotheses. **Ingenic Newsletter**, v.3, p.10-11, 1997.

LACHENAUD, P.; OLIVER, G. Variability and selection for morphological bean traits in wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from French Guiana. **Genet. Resour. Crop Evol.**, Dordrecht, v.52, n.3, p.225–231, 2005.

LACHENAUD, P. Fruit trait variability in wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from the Camopi and Tanpok basins in French Guiana. **Acta Bot. Gallica**, Paris, v.154, n.1, p.117-128, 2007.

LACHENAUD, P.; PAULIN, D.; DUCAMP, M.; THEVENIN, J-M. Twenty years of agronomic evaluation of wild cocoa trees (*Theobroma cacao* L.) from French Guiana. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v.113, n.4, p.313-321, 2007.

LACHENAUD, P.; ZHANG, D. Genetic diversity and population structure in wild stands of cacao trees (*Theobroma cacao* L.) in French Guiana. **Ann. For. Sci., France**, v.65, n.3, 2008.

LALIBERTÉ, B.; CRYER, N.C.; DAYMOND, A.J.; END, M.J.; ENGELS, J.; ESKES, B.; GILMOUR, M.; LACHENAUD, P.; PHILIPS-MORA, W.; TURNBULL, C.J.; UMAHARAN, P.; ZHANG, D.; WEISE, S. A Global Strategy for the Conservation and Use of Cacao Genetic Resources. As the Foundation for a Sustainable Cocoa Economy. In: 17th INTERNATIONAL COCOA RESEARCH CONFERENCE, 15-20, 2012, Yaoundé. **Proceedings...** Yaoundé, 2012.

LANAUD, C., FOUET, O., CLÉMENT, D., BOCCARA, M., RISTERUCCI, A.M., SURUJDEO-MAHARAJ, S.S.; LEGAVRE, T.; ARGOUT, X. A meta-QTL analysis of disease resistance traits of *Theobroma cacao* L. **Mol. Breeding**, Paris, v.24, n.4, p.361–374, 2009.

LAWRENCE, J.S., CAMPÊLO, A.M.F.L.; FIGUEIREDO, J.M. Enfermidades do cacau. II - Doenças fúngicas que ocorrem nas folhas, ramos e tronco. **Rev. Agrotrópica**, Ilhéus, v.3, n.1, p.1-14, 1991.

LEITE, J.O.; VALLE, R.R. Relações entre precipitação, lençol freático e a produção do cacau na Bahia. **Rev. Agrotrópica**, Ilhéus, v.12, p.67-74, 2000.

LEÓN, J. **Botánica de los cultivos tropicales**. San José: Agroamerica, 1987. 522p.

LERCETEAU, E.; ROBERT, T.; PETIARD, V.; CROUZILLAT, D. Evaluation of the extent of genetic variability among *Theobroma cacao* accessions using RAPD and RFLP markers. **Theor. Appl. Genet.**, Stuttgart, v.95, n.1-2, p.10–19, 1997.

LIMA, J.P.C. **Estudo da variabilidade genética de cacau nativo em comunidades na região do médio Purus – AM**. Monografia (Bacharelado em Engenharia Florestal) - Centro de Ciências Biológicas e da Natureza, Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2012.

LOVELESS, M.D., HAMRICK, J.L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. **Ann. Rev. Ecol. Syst.**, v.15, p.65-95, 1984.

MAHALANOBIS, P.C. On the generalized distance in statistics. **Proc. Natl. Inst. Sci. India**, Calcutta, v.12, p.49-55, 1936.

MARIANO, A.H.; YAMADA, M.M.; PEREIRA, M.G. Comportamento de híbridos de cacau sob distintas condições de clima e solo. In: CONFERENCIA

INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN EM CACAO, 10., 1988, Santo Domingo. Santo Domingo: Actas. London: Cocoa Producers. Alliance, 1988. p.627-632.

MARROIG, G.; CERQUEIRA, R. Plio-Pleistocene South America history and the Amazonas Lagoon hypothesis: a piece in the puzzle of Amazonian diversification. **J. Comp. Biol.**, v.2, n.2, 103-119, 1997.

MARTINS, P.S. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação “*in situ*”. **Revista Scientia Forestalis**, Piracicaba, n.35, p.71-78, 1987.

MAY, P.; VEGRO, R.; MENEZES, J.A. Coffee and cacao production and processing in Brazil. In: UNITED NATIONS CONFERENCE ON TRADE AND DEVELOPMENT. UNCTAD/COM, Ro. 1993.

MENDES, A.C.B.; MAGALHÃES, B.P.; OHASHI, O.S. Biologia de *Conotrachelus humeropictus*, Fiedler, 1940 (Coleoptera: Curculionidae), praga do cacauero e do cupuaçuzeiro na Amazônia Brasileira. **Acta Amazônica**, Manaus, v.27, n.2, p.135-144, 1997.

MENIN, M. Amazônia: diversidade biológica e história geológica. **Reptilia**, v. 708, p. 273, 2007.

MONTEIRO, W.R.; AHNERT, D. Melhoramento genético do cacauero. In: Valle, R. R. (Ed). **Ciência tecnologia e manejo do cacauero**. Itabuna: Editora Vital, 2007. p.1-16.

MORA URPI, J. Notas sobre El possible origen y Lavabilidad del cacao cultivado em la America tropical. **Turrialba**, Costa Rica, v.8, n.8, p.34-42, 1958.

MOTA, J.W.S. **Análise da diversidade genética de germoplasma de *Theobroma cacao L.* da Amazônia Brasileira por microssatélites**. 2003. 107f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

MOTA, J.W.S.; SILVA, C.R.S.; MOTAMAYOR, J.C. Caracterização da diversidade genética de acessos clonais representativos de subpopulações cacaueras de doze diferentes bacias hidrográficas da Amazônia brasileira. In: II CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 2012, Belém. **Anais...** Belém, 2012. p.1-4.

MOTAMAYOR, J.C.; RISTERUCCI, A.M.; LOPEZ, P.A.; ORTIZ, C.F.; MORENO, A.; LANAUD, C. Cacao domestication I: the origin of the cacao cultivated by the Mayas. **Heredity**, Reino Unido, v.89, n.5, p.380–386, 2002.

MOTAMAYOR, J.C.; LACHENAUD, P.; MOTA, J.W.S.; LOOR, R., KUHN, D. N.; BROWN, J.S.; SCHNELL, R.J. Geographic and genetic population differentiation of the Amazonian chocolate tree. **PLoS ONE**, Chicago, v.3, n.10, p.1-9, 2008.

NAVA, J. N. **El cacao: Cacao, cafe y te**. Barcelona: Salavat, 1953.

NELSON, G.; PLAINICK, N.I. **Systematics and biogeography**: cladistics and vicariance. New York: Columbia University Press, 1981. 567p.

OKABE, E.T.; ALMEIDA, C.M.V.C.; ALMEIDA, L.C.; DIAS, L.A.S. Desempenho de clones de cacauero em Ouro Preto do Oeste, Rondônia, Brasil. **Biosci. J.**, Uberlândia, v.20, n.3, p.133-143, 2004.

PATIÑO, V.M. **Plantas cultivadas y animales domésticos em America equinocial I: Frutales**. Colombia: Cali, Imprensa Departamental, 1963. 66p.

PATTON, J.L.; SILVA, M.N.F.; MALCOLM, J.R. Gene genealogy and differentiation among arboreal spiny rats (*Rodontia: Echimydae*) of the Amazon Basin: a test of the riverine barrier hypothesis. **Evolution**, v.48, n.4, p.1314-1323, 1994.

PEARSON, K. **The grammar of science**. London: J.M. Dent and Company, 1892. 578p.

POSNETTE, A.F. The pollination of cacao in the Gold Coast. **J. Hortic. Sci.**, Warsaw, v.25, n.3, p.155-163, 1950.

POUND, F.J. Cacao and witches broom disease (*Marasmius perniciosus*) of South America. With notes on other species of Theobroma. Report by Dr. F. J. Pound on a visit to Ecuador, the Amazon Valley, and Colombia. April 1937-April 1938.

POUND, F.J. Cacao and witches broom disease (*Marasmius perniciosus*). Report on a recent visit to the Amazon territory of Peru, September, 1942-February, 1943.

POWIS, T.G.; CYPHERS, A.; GAIKWAD, N.W.; GRIVETTI, L.; CHEONG, K. Cacao use and the San Lorenzo Olmec. In: PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES, 2011. USA: 2011. v.108, n.21, p.8595-8600.

PRANCE, G.T. Phytogeographic support for the theory of Pleistocene forest refuges in the Amazon basin, based on evidence from distribution patterns in *Caryocaraceae*, *Chrysobalanaceae*, *Dichapetalaceae* and *Lecythidaceae*. **Acta Amazonica**, Manaus: v.3, n.3, p.5-26, 1973.

RIOS-RUIZ, R.A. Melhoramento para resistência a doenças. In: DIAS, L. A. S. (Ed.). **Melhoramento genético do cacauero**. Viçosa: Funape, 2001. p.289-324.

ROCHA, H.M.; WHEELER, B.E.J. The water balance as an important factor in basidiocarp production by *Crinipellis pernicioso*, the causal fungus of cocoa witches' broom. In: INTERNATIONAL COCOA CONFERENCE, 8, 1982. Cartagena: 1982, p.381-386.

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*). In: **Plant Pathology**, v.34, n.3, p.319-328, 1985.

ROLIM, S.G.; CHIARELLO, A.G. Slow death of Atlantic forest trees in cocoa agroforestry in southeastern Brazil. **Biodiversity & Conservation**, v.13, n.14, p.2679-2694, 2004.

RONNING, C.M.; SCHNELL, R.J. Allozyme diversity in a germplasm collection of *Theobroma cacao* L. **The Journal of Heredity**, Oxford. v.85, n.4, p.291-295, 1994.

ROSENBLUM, M. **Chocolate: Uma saga agridoce preta e branca**. Tradução por Talita M. Rodrigues. Rio de Janeiro: Rocco, 2006. 381 p.

ROUSSET, F. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance. *Genetics*, v.145, n.4, p.1219-1228, 1997.

RUINARD, J. Variability of various pod characters as a factor in cacao selection. **Euphytica**, v.10, n.2, p.134-146, 1961.

RUSSELL, J.R.; HOSEIN, F.; JOHNSON, E.; WAUGH, R.; POWELL, W. Genetic differentiation of cocoa (*Theobroma cacao* L.) populations revealed by RAPD analysis. **Molecular Ecology**, v.2, n.2, p. 89-97, 1993.

SÁNCHEZ, P.; JAFFÉ, K. Rutas de migraciones humanas precolombinas a la Amazonia sugeridas por la distribución del cacao. **Interciencia**, Caracas, v.17, n.1, p.28-34, 1992.

SÁNCHEZ, S.E.M. **Cacau e graviola: descrição e danos das principais pragas-de-insetos**. EDITUS: Ilhéus, 147p., 2011.

SANTOS, E.S.L.; CERQUEIRA-SILVA, C.B.M.; MORI, G.M.; AHNERT, D.; MELLO, D.L.N.; PIRES, J.L.; CORRÊA, R.X.; SOUZA, 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**, v.10, n.12, p.1-18, 2015.

SAS INSTITUTE INC. SAS/STAT user's guide, version 6. 4.ed. Cary: SAS Institute, 1989. v.2.

SCERNE, R.M.C.; SANTOS, A.O.S.; SANTOS, M.M.; ANTÔNIO NETO, F. Aspectos agroclimáticos do município de Ouro Preto D'Oeste – RO: Atualização quinquenal. In: BOLETIM TÉCNICO n° 17. Belém, PA, CEPLAC/SUPOR, 2000. 48p.

SCHAWÉ, C.C.; DURKA, W.; TSCHARNTKE, T.; HENSEN, I.; KESSLER, M. Gene flow and genetic diversity in cultivated and wild cacao (*Theobroma cacao*) in Bolivia. **American Journal of Botany**, v.100, n.11, p.2271-2279, 2013.

SEDAM. Secretaria de Estado do Desenvolvimento Ambiental (SEDAM). Boletim Climatológico de Rondônia, ano 2002 / SEDAM, Porto Velho, Rondônia, 2003.

SEDAM. Secretaria de Estado do Desenvolvimento Ambiental (SEDAM). Boletim Climatológico de Rondônia, ano 2003 / SEDAM, Porto Velho, Rondônia, 2005.

SEDAM. Secretaria de Estado do Desenvolvimento Ambiental (SEDAM). Boletim Climatológico de Rondônia, 26, ano 2004 / SEDAM, Porto Velho, Rondônia, 2005.

SEDAM. Secretaria de Estado do Desenvolvimento Ambiental (SEDAM). Boletim Climatológico de Rondônia, 40, ano 2005 / SEDAM, Porto Velho, Rondônia, 2007.

SERENO, M.L. **Estimación de la diversidad genética de poblaciones silvestres de *Theobroma cacao* L. Amazônico Brasileño, mediante microsatélites**. 2001. 70f. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

SERENO, M.L.; ALBUQUERQUE, P.S.; VENCOSKY, R.; FIGUEIRA, A. Genetic diversity and natural population structure of cacao (*Theobroma cacao* L.) from the Brazilian Amazon evaluated by microsatellite markers. **Conservation Genetics**, Salvador. v.7, n.1, p.13-24, 2006.

SHAPIRO, S.S.; WILK, M.B. An Analysis of Variance Test for Normality. **Biometrika**, Oxford, v.52, n.3/4, p.591-611, 1965.

SIEBERT, S.F. From shade-to sun-grown perennial crops in Sulawesi, Indonesia: implications for biodiversity conservation and soil fertility. **Biodiversity & Conservation**, Netherlands, v. 11, n. 11, p. 1889-1902, 2002.

SILVA, C.R.S.; ALBUQUERQUE, P.S.B.; ERVEDOSA, F.R.; MOTA, J.W.S.; FIGUEIRA, A.; SEBBENN, A.M. Understanding the genetic diversity, spatial genetic structure and mating system at the hierarchical levels of fruits and individuals of a continuous *Theobroma cacao* population from the Brazilian Amazon. **Heredity**, Oxford, v. 106, n. 6, p. 973-985, 2011.

SILVA, C.R.S.; ALBUQUERQUE, P.S.B.; MOTA, J.W.S.; MAFRA, G.S.; BERBERIAN, G.A.; GUSMÃO, M.T.A.; MOTAMAYOR, J.C. Diversidade e estrutura genética em populações naturais de cacauzeiros (*Theobroma cacao* L.) em sete estados da Amazônia Legal. II CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 24 a 28 de setembro de 2012. Belém, Pará, 2012.

SILVA NETO, P.J.; MATOS, P.G.G.; MARTINS, A.C.S.; SILVA, A.P. **Sistema de produção de cacau para a Amazônia Brasileira**. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira, Belém, PA, 2001. 125p.

SILVA NETO, P.J.; MATOS, P.G.G.; MARTINS, A.C.S.; SILVA, A.P. **Manual técnico do cacau para a Amazônia brasileira**. Belém, PA, CEPLAC/SUEPA, 2013. 180p.

SINDONI, N.R. **Beneficio del cacao (*Theobroma cacao L.*)**. Venezuela: Facultad de Agronomía de La Universidad Central de Venezuela. Caracas, 2006. 32p.

SOLORZANO, R.G.L.; FOUET, O.; LEMAINQUE, A.; PAVEK, S.; BOCCARA, M.; ARGOUT, X.; AMORES, F.; COURTOIS, B.; RISTERUCCI, A.M.; LANAUD, C. Insight into the wild origin, migration and domestication history of the fine flavour Nacional *Theobroma cacao L.* variety from Ecuador. **PloS one**, v.7, n.11, p.43-48, 2012.

SORIA, J. The genetic and breeding of cocoa. In: INTERNATIONAL COCOA RESEARCH CONFERENCE, 5, Proceedings. Cocoa Research Institute of Nigeria, Ibadan, p.18-24, 1977.

SORIA, V. The breeding of cacao (*Theobroma cacao L.*). **Tropical Agriculture Research Series**. Japón, n.11, p.161-168, 1978.

SOUNINGO, O.; UMAHARAN, R.; CHRISTOPHER, Y.; SANKAR, A.; RAMDAHIN, S. Assessing genetic diversity in the International Cocoa Genebank of Trinidad (ICG,T) using isozyme electroforesis. In: INGENIC Newsletter, v.3, p.11-16, 1997.

SOUZA, C.A.S.; DIAS, L.A.S. Melhoramento ambiental e sócio-economia. In: DIAS L.A.S. (Ed.) **Melhoramento genético do cacau**. Viçosa, MG: FUNAPE/UFG, 2001. p.1-48.

SOUZA, C.A.S.; DIAS, L.A.S.; AGUILAR, M.A.G. Importância Econômica e Social. In: SOUZA, C.A.S; DIAS, L.A.S.; AGUILAR, M.A.G.; BORÉM, A. (Eds.) **Cacau: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: UFV, 2016. p. 9-40.

THOMAS, E.; VAN ZONNEVELD, M.; LOO, J.; HODGKIN, T.; GALLUZZI, G.; VAN ETTEN, J. Present spatial diversity patterns of *Theobroma cacao L.* in the neotropics reflect genetic differentiation in *Pleistocene refugia* followed by human-influenced dispersal. **PLoS One**, San Francisco, v.7, n.10, p. 47676, 2012.

THOMAZINI, M.J. Flutuação populacional e intensidade de infestação de broca-dos-frutos em cupuaçu. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.59, n.3, p.463-468, 2002.

TOXOPEUS, H. Cocoa breeding: a consequence of mating system, heterosis and population structure. In: **Conference on Cocoa and Coconuts in Malaysia**. Proceedings. ISP, Kuala Lumpur, p.11-37, 1972.

TREVISAN, O. **Comportamento da broca dos frutos *Conotrachelus humeropictus* Fiedler, (Coleoptera: Curculionidae)**, em Rondônia. 1989, 75f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas, Area de Entomologia). Universidade de São Paulo. Piracicaba: Escola de Agricultura Luiz de Queiroz, 1989.

VALLE, R.R.M. **Ciência, tecnologia e manejo do cacauero**. Brasília, DF: MAPA, 2012. p.688.

VAVILOV, N.I. Phylogeographic basis of plant breeding. **Chronica Botanica**, n.13. 1951, p.13-54.

VELLO, F.; MEDEIROS, A.G. Expedição botânica à Amazônia brasileira. **Cacau atualidades**, Itabuna, n.2., p.47-51, 1965.

VOELCKER, O.J. The degree of cross pollination in cacao in Nigeria. **Tropical Agriculture**, Niger, v.17, p.184-86, 1940.

WALLACE, A.R. 1852. **On the monkeys of the Amazon**. London. Proc. Zool. Soc., vol.1852, p.107-110.

WHEELER, B.E.J.; MEPSTED, R. Pathogenic races of *Crinipellis pernicios*? In: PROCEEDINGS, CARTAGENA, COLOMBIA, 18-23 OCT., 1981/8 INTERNATIONAL COCOA RESEARCH CONFERENCE. Actes, Cartagena, Colombia, 18-23 oct., 1982. Conference internationale sur la recherche cacaoyere. Lagos, Nigeria: Cocoa Producers' Alliance, 1982, p.365-370.

WCF - WORLD COCOA FOUNDATION. **Cocoa market update**, 2012. Disponível em: <<http://worldcocoafoundation.org/wp-content/uploads/Cocoa-Market-Update-as-of-3.20.2012.pdf>> Acesso em: 05 abr. 2016.

YOUNG, A.M. **The Chocolate Tree: A Natural History of Cacao**. EUA: University of Florida, 1994. 200p.

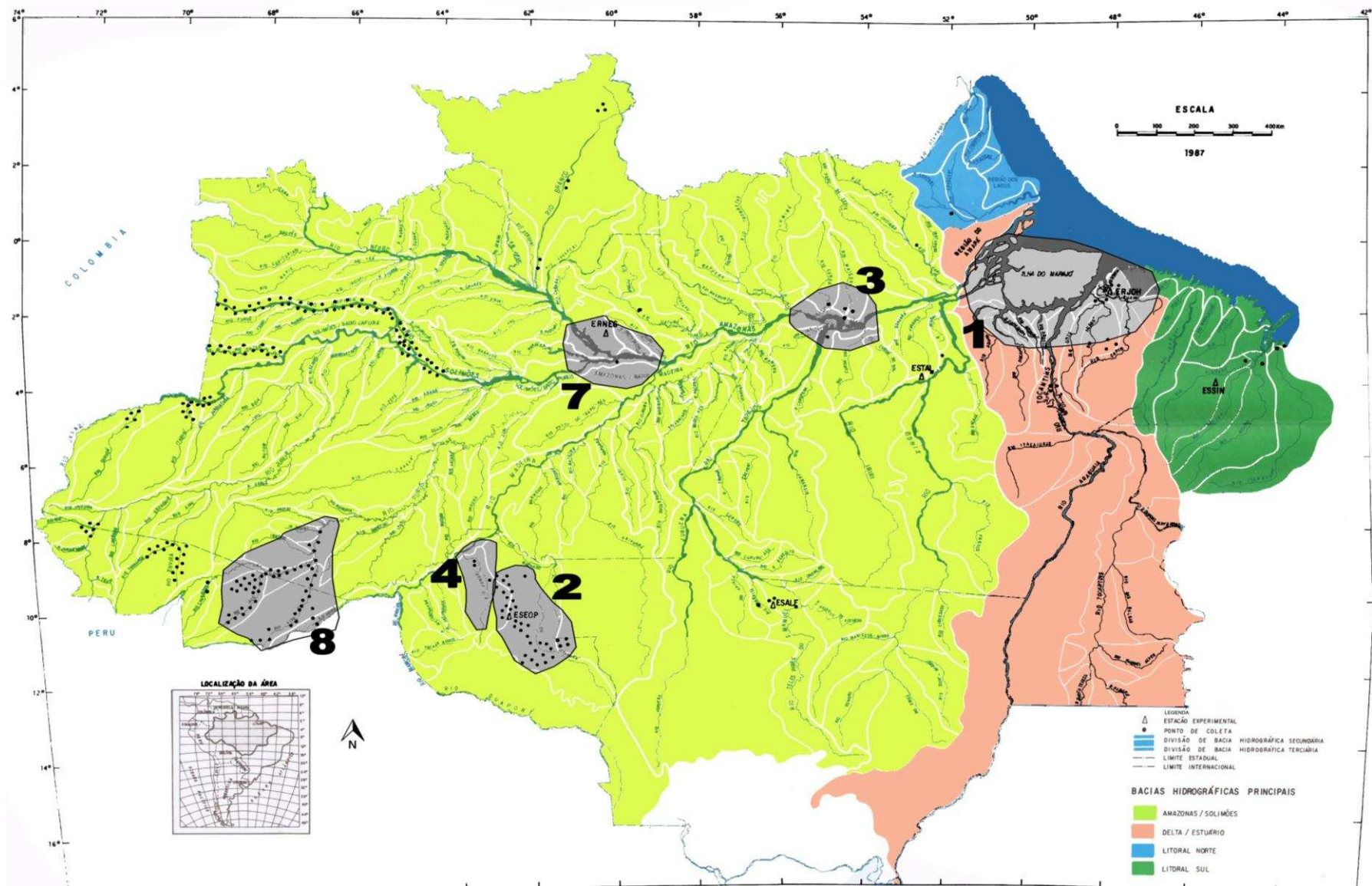
ZAPFACK, L.; ENGWALD, S.; SONKE, B.; ACHOUNDONG, G.; MADONG, B. A. The impact of land conversion on plant biodiversity in the forest zone of Cameroon. **Biodiversity & Conservation**, v.11, n.11, p.2047-2061, 2002.

ZHANG, D.; AREVALO-GARDINI, E.; MISCHKE, S.; ZÚÑIGA-CERNADES, L.; BARRETO-CHAVES, A.; AGUILA, J.A. Genetic diversity and structure of managed and semi-natural populations of cocoa (*Theobroma cacao*) in the Huallaga and Ucayali Valleys of Peru. **Annals of botany**, v.98, n.3, p.647-655, 2006.

ZHANG, D.P.; BOCCARA, M.; MOTILAL, L.; MISCHKE, S.; JOHNSON, E.S.; BUTLER, D.R.; BAILEY, B.; MEIHARDT, L. Molecular characterization of an earliest cacao (*Theobroma cacao* L.) collection from Peruvian Amazon using microsatellite DNA markers. **Tree Genetics & Genomes**, v.5, n.4, p.595-607, 2009.

ZHANG, D.; MOTILAL, L. Origin, dispersal, and current global distribution of cacao genetic diversity. **Cacao Diseases**. Springer International Publishing, 2016. p.3-31.

APÊNDICE



Fonte: Boletim Técnico nº 5, CEPLAC/DEPEA, 1987.

Figura 1 - Mapa da região Amazônica brasileira, destacando seis das bacias hidrográficas avaliadas (1. Delta/Estuário-PA, 2. Ji-Paraná-RO, 3. Amazonas/Solimões-PA, 4. Jamari-RO, 7. Amazonas/Solimões-AM, 8. Acre-AC).