



REJANE RODRIGUES DA COSTA E CARVALHO

**EPIDEMIOLOGIA DA RESINOSE DO
COQUEIRO E SENSIBILIDADE DE
THIELAVIOPSIS PARADOXA A ÓLEOS
ESSENCIAIS**

LAVRAS-MG

2011

REJANE RODRIGUES DA COSTA E CARVALHO

**EPIDEMIOLOGIA DA RESINOSE DO COQUEIRO E SENSIBILIDADE
DE *THIELAVIOPSIS PARADOXA* A ÓLEOS ESSENCIAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dr. Paulo Estevão de Souza

Coorientadora

PhD. Dulce Regina Nunes Warwick

LAVRAS-MG

2011

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Carvalho, Rejane Rodrigues da Costa e.
Epidemiologia da resinose do coqueiro e sensibilidade de
Thielaviopsis paradoxa a óleos essenciais / Rejane Rodrigues da
Costa e Carvalho. – Lavras : UFLA, 2011.
82 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.
Orientador: Paulo Estevão de Souza.
Bibliografia.

1. Controle alternativo. 2. Padrão espacial. 3. Análise temporal.
I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 634.619952

REJANE RODRIGUES DA COSTA E CARVALHO

**EPIDEMIOLOGIA DA RESINOSE DO COQUEIRO E SENSIBILIDADE
DE *THIELAVIOPSIS PARADOXA* A ÓLEOS ESSENCIAIS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitopatologia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 02 de junho de 2011

Dr. Eduardo Alves	UFLA
Dr. Edson Ampélio Pozza	UFLA
Dr. José da Cruz Machado	UFLA
PhD. Dulce Regina Nunes Warwick	EMBRAPA

Dr. Paulo Estevão de Souza
Orientador

**LAVRAS – MG
2011**

Ao meu esposo José Luiz Sandes pelos conselhos, apoio e amor incondicional.

Aos meus pais, Robson e Maria Auxiliadora pelo exemplo de vida e de amor.

As minhas irmãs Ronelza e Rosane pela amizade

*A minha coorientadora Dulce Regina, pelos ensinamentos e principalmente pela
sincera amizade*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Fitopatologia (DFP) pela oportunidade concedida para realização do doutorado.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa de estudos.

À Embrapa Tabuleiros Costeiros, pelo Laboratório de Fitopatologia e da Casa de Vegetação, essenciais para a realização dos experimentos.

À Fazenda União Fruticultura Ltda. pelo apoio nos experimentos em sua área experimental.

Aos professores do Departamento de Fitopatologia da UFLA, pelos ensinamentos transmitidos.

Ao professor Dr. Paulo Estevão de Souza pela orientação, amizade, dedicação e seus ensinamentos os quais foram de grande relevância para a realização deste trabalho e meu crescimento profissional.

À PhD. Dulce Regina Nunes Warwick pela amizade, ensinamentos e pela ajuda na condução dos experimentos.

Aos professores da Universidade Federal de Sergipe, Arie Fitzgerald Blanck e Péricles Barreto Alves pelo fornecimento dos óleos essenciais e pela análise dos componentes químicos respectivamente.

A todos meus amigos, que de alguma forma estiveram perto de mim, mesmo de longe.

RESUMO

A resinose do coqueiro causada pelo fungo *Thielaviopsis paradoxa* constitui uma importante doença do coqueiro no estado de Sergipe. O objetivo do presente trabalho foi: estudar o papel do coleóptero *Rhynchophorus palmarum* na transmissibilidade de *T. paradoxa* e avaliar a sobrevivência do patógeno no vetor na ausência de novas fontes de infecção; caracterizar o progresso temporal e a distribuição espacial da resinose no campo; avaliar o uso de óleos essenciais e suas principais subfrações no controle *in vitro* do patógeno. Foram coletados 80 coleópteros adultos, 40 machos e 40 fêmeas em dois cultivos de coco do Estado de Sergipe: Neópolis (continha focos de resinose) e Itaporanga D'Ajuda (sem focos de resinose), que foram divididos em dois lotes iguais. Primeiramente foi realizado um estudo microbiológico da superfície e do tubo digestivo de *R. palmarum* coletados em duas regiões produtoras de coco do Estado de Sergipe: uma com resinose e outra sem focos da doença, além do estudo da sobrevivência de *T. paradoxa* em *R. palmarum*. Houve crescimento micelial de *T. paradoxa* em 96,3% e 77,5% dos isolamentos realizados a partir do tubo digestivo e da parte externa respectivamente dos insetos coletados na região com focos da doença. Os isolamentos realizados a partir dos insetos coletados na região sem resinose não apresentaram crescimento micelial. Houve uma perda na sobrevivência do patógeno dentro do besouro após 7 dias, na ausência de nova fonte de infecção. Os estudos epidemiológicos foram realizados em um pomar comercial no município de Neópolis, Sergipe, onde foram selecionados 3 talhões com 729 plantas cada. As plantas foram avaliadas a cada dois meses quanto à incidência da doença. Na análise temporal, o modelo Linear foi o que melhor se ajustou aos dados de incidência da resinose, representando bem a dinâmica temporal da doença durante o período experimental. O padrão espacial da resinose no campo é agregado. Foi avaliado o efeito dos óleos essenciais de *Lippia sidoides*, *Lippia gracilis* e de seus principais componentes químicos no controle *in vitro* de *T. paradoxa*, sendo que o crescimento micelial e o número de conídios dos patógenos foram inibidos pelo óleo essencial de *L. sidoides* em todas as concentrações utilizadas (0,2; 0,5; 1,0 e 3,0 $\mu\text{L m}^{-1}$). O crescimento micelial e a produção de conídios de *T. paradoxa* foram totalmente inibidos quando da utilização do timol nas concentrações de 0,3 e 0,5 $\mu\text{L m}^{-1}$. Os resultados sugerem que o timol, componente majoritário do óleo extraído de *L. sidoides*, poderia ser utilizado como um potencial fungicida natural no controle da resinose do coqueiro.

Palavras-chave: Controle alternativo. Padrão espacial. Análise temporal

ABSTRACT

The stem bleeding caused by fungus *Thielaviopsis paradoxa* is an important disease of coconut-tree in the State of Sergipe. The objective of this study was: to study the role of coleopterous *Rhynchophorus palmarum* on transmissibility of *T. paradoxa* and evaluate the survival of the pathogen in the vector in the absence of new sources of infection; characterize the temporal progress and spatial distribution of stem bleeding in the field; evaluate the use of essential oils and their major subfractions in control of the pathogen *in vitro*. Eighty adults coleopterous were collected, 40 males and 40 females in two crops of coconut's of the State of Sergipe: Neópolis (contained foci of stem bleeding) and Itaporanga D'Ajuda (without foci of stem bleeding), which were divided into two equal lots. First was realized a microbiological study of the surface and the alimentary canal of *R. palmarum* collected in two coconut-producing regions of the State of Sergipe: one with and one without stem bleeding outbreaks, beyond the study of the survival of *T. paradoxa* in *R. palmarum*. There was mycelial growth of *T. paradoxa* in 96.3% and 77.5% of the isolations made from the alimentary canal and outside respectively of the insects collected in the region with outbreaks. Isolations made from insects collected in the region without stem bleeding showed no mycelial growth. There was a loss on the survival of the pathogen within 7 days after the beetle, in the absence of a new source of infection. Studies epidemiological were conducted in a commercial orchard in the city of Neópolis, Sergipe, where it was selected three plots of 729 plants each. The plants were evaluated every two months for incidence of the disease. In temporal analysis, Linear model was the best fit to the data of incidence of stem bleeding, representing well the dynamics of the disease during the experimental period. The spatial pattern of stem bleeding in the field is added. The effect of essential oils from *Lippia sidoides*, *Lippia gracilis* and its main chemical components *in vitro* control of *T. paradoxa*, and the mycelial growth and number of conidia of the pathogens were inhibited by the essential oil of *Lippia sidoides* at all concentrations used (0.2, 0.5, 1.0 and 3.0 $\mu\text{L m}^{-1}$). The mycelial growth and conidial production of *T. paradoxa* were completely inhibited when the use of thymol at concentrations of 0.3 and 0.5 $\mu\text{L m}^{-1}$. The results suggest that thymol, the major component of the oil extracted from *L. sidoides*, could potentially be used as a natural fungicide to control stem bleeding of the coconut-tree.

Keywords: Alternative control. Spatial pattern. Temporal analysis

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 Introdução geral.....	10
1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	11
2.1	A cultura do coqueiro	11
2.2	Resinose do coqueiro	13
2.3	Epidemiologia de doenças de plantas	16
2.4	Óleos essenciais no controle de doenças de plantas	17
	REFERÊNCIAS	22
	CAPÍTULO 2 Transmissibilidade e sobrevivência de <i>Thielaviopsis paradoxa</i> em <i>Rhynchophorus palmarum</i>	26
1	INTRODUÇÃO	28
2	MATERIAL E MÉTODOS	29
2.1	Área estudada e coleta dos besouros	29
2.2	Transporte e condicionamento	30
2.3	Avaliação da presença de <i>T. paradoxa</i> externamente e no tubo digestivo de <i>R. palmarum</i>	30
2.4	Avaliação da sobrevivência de <i>T. paradoxa</i> em <i>R. palmarum</i>	31
2.5	Verificação da patogenicidade de <i>T. paradoxa</i>	31
2.6	Análise dos dados	32
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4	CONCLUSÕES	38
	REFERÊNCIAS	39
	CAPÍTULO 3 Análise espaço-temporal da resinose do coqueiro em Sergipe.....	41
1	INTRODUÇÃO	43
2	MATERIAL E MÉTODOS	44
2.1	Avaliação da doença	45
2.2	Curvas de progresso das doenças	45
2.3	Arranjo espacial da doença	46
2.3.1	Análise de <i>doublet</i>	46
2.3.2	Análise de dinâmica e estrutura de focos (ADEF)	46
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
3.1	Curvas de progresso das doenças	48
3.2	Arranjo espacial da doença	51
3.2.1	Análise de <i>doublet</i>	51

3.2.2	Análise de dinâmica e estrutura de focos (ADEF).....	53
4	CONCLUSÕES.....	58
	REFERÊNCIAS.....	59
	CAPÍTULO 4 Atividade antifúngica <i>in vitro</i> dos óleos essenciais de <i>Lippia sidoides</i> e <i>Lippia gracilis</i> e de suas principais subfrações no controle de <i>Thielaviopsis paradoxa</i>, agente causal da resinose do coqueiro.....	60
1	INTRODUÇÃO.....	62
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	64
2.1	Isolamento e manutenção do patógeno.....	64
2.2	Obtenção dos óleos essenciais.....	65
2.3	Potencial antifúngico dos óleos essenciais.....	65
2.4	Produção de conídios.....	66
2.5	Cromatografia Gasosa- Espectrometria de Massas (CG-EM)....	66
2.6	Cromatografia Gasosa- Ionização de chamas (CG-DIC).....	67
2.7	Identificação dos constituintes do óleo.....	68
2.8	Potencial antifúngico das principais subfrações do óleo essencial.....	68
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	68
4	CONCLUSÃO.....	75
	REFERÊNCIAS.....	76
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	79

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO

A cultura do coqueiro pode ser infectada por diversos patógenos causadores de inúmeras doenças, sendo que atualmente, a resinose do coqueiro ou “*stem bleeding*”, cujo agente etiológico é o fungo *Thielaviopsis paradoxa* (De Seyn) Höhl (Teleomorfo: *Ceratocystis paradoxa* (Dade) C., tem-se tornado o principal motivo de preocupação dentre produtores, pesquisadores e órgãos de pesquisa e fiscalização, devido a sua rápida disseminação e por ainda não existir nenhum método de controle da doença. A doença foi descrita pela primeira vez no Brasil em 2004 no município de Neópolis, no estado de Sergipe. Nesta região é cultivada a variedade anão-verde, que tem se mostrado bastante suscetível ao patógeno.

Dentre os principais sintomas da doença, pode-se destacar o aparecimento de um líquido marrom-avermelhado que escorre através do estipe, que ao secar pode adquirir uma coloração avermelhada ou enegrecida (WARWICK; PASSOS, 2009), sendo letal à planta nos estágios mais avançados da doença.

As medidas de controle atualmente empregadas não têm logrado êxito e com isso, a resinose tem se disseminado de forma rápida e progressiva por todas as regiões produtoras de coco do Brasil, principalmente no Norte e Nordeste, sendo dessa forma considerada uma das mais importantes doenças da cultura do coqueiro do país.

Estudos epidemiológicos, objetivando um maior conhecimento do patossistema tornam-se necessários para que táticas e estratégias de controle sejam tomadas de maneira eficiente, econômica e sustentável. A análise temporal permite a construção das curvas de progresso de doenças, que é a melhor representação de uma epidemia. Interpretar o formato dessas curvas e determinar seus componentes, como quantidade inicial de doença, taxa de progresso, quantidade final, bem como a área abaixo da curva de progresso, são fundamentais para se efetuar o manejo de epidemias (BERGAMIN FILHO, 1995). O padrão espacial caracterizado pela distribuição de plantas doentes, umas em relação às outras, tem auxiliado no esclarecimento da etiologia e do papel dos agentes de disseminação da doença como vetores, além de possibilitar o entendimento da dinâmica de epidemias com relação ao padrão do inóculo inicial e o efeito de fatores ambientais na quantidade da doença no campo.

Dada a importância da cultura do coqueiro para a região Nordeste do Brasil, o presente trabalho objetivou avaliar o progresso espacial e temporal da resinose no estado de Sergipe, estudar a correlação da resinose com a presença de vetores e testar óleos essenciais e suas principais subfrações no controle *in vitro* de *T. paradoxa*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura do coqueiro

Na descoberta do Brasil pelos portugueses em 1500, ainda não existia coqueiro no Brasil, e as primeiras referências aparecem no “Tratado Descritivo do Brasil”, escrito por Gabriel Soares de Souza em 1587, que diz: “as palmeiras que dão os cocos se dão bem na Bahia, melhor que na Índia, porque metendo um

coco debaixo da terra, a palmeira que dele nasce dá coco em cinco e seis anos, e na Índia não dão, estas plantas, frutos em vinte anos” (SIQUEIRA; ARAGÃO; TUPINAMBÁ, 2002). A introdução do coqueiro no Brasil e sua adaptação aos solos arenosos da costa brasileira, permitiu o surgimento de uma classe produtora, ocupando um ecossistema com poucas possibilidades de outras explorações comerciais, cuja cadeia produtiva é muito diversificada e de grande significado social (SIQUEIRA; ARAGÃO; TUPINAMBÁ, 2002).

O coqueiro é considerado uma das árvores mais importantes do mundo, devido à geração de emprego e renda em vários países do globo, onde seus frutos podem ser consumidos *in natura* ou industrializados na forma de mais de 100 produtos e subprodutos. Além disso, a raiz, o estipe, a inflorescência e as folhas geram diversos subprodutos ou derivados de interesse econômico, sendo também utilizado como planta paisagística embelezando praças, canteiros públicos, chácaras e fazendas (FERREIRA et al., 1998).

As condições climáticas das regiões litorâneas são favoráveis ao desenvolvimento do coqueiro, com a predominância de temperaturas médias elevadas (27°C), umidade relativa do ar em torno de 80%, ventos constantes e moderados e alta luminosidade, onde embora seja registrado na região um índice pluviométrico em torno de 1.500 mm anuais, constata-se uma má distribuição de chuvas que são concentradas durante quatro a cinco meses e com déficit hídrico no restante do ano. Os solos são arenosos (Neossolos Quartzarênicos), que embora apresentem baixa fertilidade, são favoráveis ao desenvolvimento das raízes dos coqueiros, uma vez que apresentam lençol freático entre 1 e 3 m de profundidade e dessa forma desempenhando importante função no suprimento de água da planta (FONTES; WANDERLEY, 2006).

A valorização do preço da terra na região litorânea, atribuída principalmente à especulação imobiliária, fez com que a expansão das áreas de

cultivo migrasse do litoral para os Tabuleiros Costeiros, onde predominam solos do tipo Argissolo e Latossolo Amarelo. Entretanto, apesar dessa região apresentar um lençol freático profundo e solos com eventuais camadas coesas, o plantio da variedade anão-verde para a produção de água tem sido realizada com a utilização de um sistema de irrigação localizada por microaspersão e adotando sistemas intensivos de produção (FONTES; WANDERLEY, 2006). A variedade coqueiro anão-verde foi escolhida para produção nessas áreas, por apresentar maior precocidade de produção e produtividade e qualidades sensoriais superiores da água de coco em relação às demais cultivares.

As doenças e pragas do coqueiro, no entanto, podem comprometer o potencial de rendimento desta cultura, principalmente da variedade anão-verde, devido a sua uniformidade genética, ao espaçamento utilizado (menor do que o coqueiro-gigante) e por ser explorado intensivamente (colheita dos frutos verdes a cada 20 dias).

2.2 Resinose do coqueiro

A resinose do coqueiro, cujo agente etiológico é o fungo *Thielaviopsis paradoxa* foi registrada pela primeira vez no Estado de Sergipe em fevereiro de 2004 no Brasil, infectando mais de 50 coqueiros, que apresentavam uma sintomatologia até então não registrada no Brasil, e desde então, tem-se disseminado gradualmente, aumentando o número de plantas infectadas e de focos a cada ano.

As plantas apresentavam encurtamento das folhas novas e a presença de resina no estipe, e através da dissecação do tecido vegetal foi verificada a presença de extensas manchas amarronzadas na região interna do tronco. As amostras do tecido caulinar, examinadas no Laboratório de Fitopatologia da

Embrapa Tabuleiros Costeiros apresentaram crescimento micelial abundante, e de acordo com as características morfológicas apresentadas, o microrganismo foi identificado como *Thielaviopsis paradoxa*. Plantas sadias quando inoculadas com o fungo tiveram desenvolvimento de lesões na ráquis foliar, que demonstra a patogenicidade do fungo isolado (WARWICK; PASSOS, 2009).

Thielaviopsis paradoxa (De Seynes) Höhn é a fase imperfeita ou assexual do patógeno, sendo responsável pela produção de dois tipos de esporos, os endoconídios e os clamidósporos. Em sua fase sexual ou perfeita é denominado *Ceratocystis paradoxa* (Dade) C. Moreau (1952) (Ascomycetes, Microascales, família Ophiostomatacea), fase esta raramente encontrada na natureza e até o momento não verificado nas condições nacionais.

Na Índia, plantas apresentando esses mesmos sintomas, após inoculação artificial, apresentaram dentro de 2-8 semanas, uma casca de tonalidade amarronzada, seguida da liberação de um líquido marrom (resinose), sendo deste re-isolado o fungo *Thielaviopsis paradoxa* (NAMBIAR et al., 1986). A resinose do coqueiro é uma doença conhecida por ocorrer em quase todos os países produtores de coco (OHLER, 1964).

Em levantamento realizado no estado de Sergipe, foi evidenciada a presença da resinose em quase metade das propriedades na região do Platô de Neópolis, onde na grande maioria dos casos, as plantas atingidas já se encontravam em estágio avançado da doença. A situação na região é preocupante pela forma como a doença se estabeleceu e como vem se disseminando, não existindo relatos na literatura de produtos químicos capazes de curar uma planta em estágio avançado da doença ou de conter a sua disseminação.

A variedade de coqueiro anão-verde vem se mostrando bastante suscetível à doença, favorecendo o aumento da fonte de inóculo. Situação essa

agravada em função do manejo, da adubação orgânica e o sistema de irrigação utilizado na área. Para agravar ainda mais o quadro, a região é propícia à atividade da broca-do-olho (*Rhynchophorus palmarum*), inseto este envolvido tanto na disseminação da resinose como do “anel-vermelho do coqueiro”.

De acordo com Nambiar et al. (1986) o fungo *T. paradoxa* pode sobreviver por longos períodos no solo, nos restos de cultura em decomposição e pode causar infecção através de ferimentos e das fissuras naturais de crescimento do tronco, disseminando-se principalmente através de insetos vetores e do contato entre raízes. Esta doença tem como hospedeiros primários a bananeira, a cana-de-açúcar e o abacaxi (GARAFALO; MCMILLAN, 2004). As palmeiras, de um modo geral, são suscetíveis a *T. paradoxa* e sujeitas a grandes perdas.

Dentre os principais sintomas da doença, pode-se destacar o aparecimento de um líquido marrom-avermelhado que escorre através de rachaduras no tronco, que ao secar pode adquirir uma coloração avermelhada ou enegrecida; redução na frequência de emissão de folhas e no tamanho das mais novas; afinamento do tronco na região próxima à copa, sintoma observado com o progresso da doença; folhas amarelo-pardacentas frágeis e sujeitas à quebra, levando a morte da planta nos estágios mais avançados da doença (WARWICK; PASSOS, 2009).

As medidas de controle atualmente empregadas não têm logrado êxito e com isso, a resinose tem se disseminado de forma rápida e progressiva por todas as regiões produtoras de coco do Brasil, principalmente no Norte e Nordeste, sendo dessa forma considerada uma das mais importantes doenças da cultura do coqueiro do país. Os principais métodos de controle utilizados são: raspagem e pincelamento com piche ou alcatrão vegetal da região lesionada do estipe de plantas infectadas, juntamente com o fungicida tiofanato metílico; erradicação e

queima das plantas severamente infectadas; monitoramento e controle do *Rhynchophorus palmarum*, principal inseto transmissor da resinose, através do uso de armadilhas atrativas (isca vegetal atrativa + feromônio). A adoção de algumas práticas de manejo também pode ser capaz de minimizar o avanço da doença, como a desinfestação das ferramentas agrícolas, manutenção dos resíduos vegetais afastados de seu tronco, além de se evitar ferimentos nas plantas (WARWICK; PASSOS, 2009).

2.3 Epidemiologia de doenças de plantas

Estudos epidemiológicos, objetivando maior conhecimento do patossistema tornam-se necessários para que táticas e estratégias de controle sejam tomadas de maneira eficiente, econômica e sustentável. O entendimento da epidemiologia permite o estabelecimento de padrões espacial e temporal de determinada doença (WAGGONER; AYLOR, 2000).

A análise temporal permite a construção das curvas de progresso de doenças, a melhor representação de uma epidemia. Interpretar o formato dessas curvas e determinar seus componentes, como quantidade inicial de doença, taxa de progresso, quantidade final, bem como a área abaixo da curva de progresso, são fundamentais para se efetuar o manejo de epidemias (BERGAMIN FILHO, 1995).

O padrão espacial caracteriza-se pela distribuição de plantas doentes umas em relação às outras, fornece dados e podem ser utilizados para auxiliar o esclarecimento da etiologia e do papel dos agentes de disseminação da doença como vetores, o vento e a chuva. A análise do arranjo espacial também tem possibilitado o entendimento da dinâmica de epidemias com relação ao padrão

do inóculo inicial, o efeito de práticas biológicas e culturais, e o efeito de fatores ambientais na quantidade da doença no campo (JEGER, 1990).

A análise temporal de patossistemas recebeu mais atenção por muitos anos, não por ser mais relevante e sim por ser mais simples e de fácil aplicação (BERGAMIN FILHO et al., 2002). Porém, nas duas últimas décadas, o estudo da dinâmica espacial, que consiste na caracterização de padrões espaciais de doenças em plantas, tem-se destacado. O padrão espacial de uma determinada doença é o reflexo do processo de dispersão dos patógenos e, portanto, sua caracterização é importante em estudos epidemiológicos (HUGHES; MADDEN; MUNKVOLD, 1996).

Na literatura não existem trabalhos científicos analisando o padrão espacial e temporal da resinose do coqueiro nas condições nacionais e internacionais.

2.4 Óleos essenciais no controle de doenças de plantas

Com o crescimento da população mundial e conseqüente aumento da necessidade de produção de alimentos, os agricultores começaram a se especializar, os monocultivos foram ficando cada vez mais frequentes e em maiores áreas, originando um desequilíbrio ambiental cada vez maior e dessa forma favorecendo o aumento e surgimento de pragas e doenças (BETTIOL; GHINI, 2003). A indústria química evoluiu e a diversidade de defensivos agrícolas ficou cada vez maior, embora suas conseqüências para a natureza e para o homem não tenham sido levadas em consideração no início, a cada ano se tornavam mais frequentes e diversificadas (ABREU JÚNIOR, 1998).

Nos últimos anos, a retomada dos conceitos de saúde, buscando uma alimentação mais saudável aliada à preocupação correta e crescente com o meio

ambiente, reativou a agricultura ecologicamente correta, com o não uso de defensivos químicos sintéticos, iniciando-se uma nova era na agricultura, com a aplicação pelos agricultores de tecnologias, visando não só a maior produtividade, mas também a qualidade do produto e a preservação do meio ambiente (BETTIOL; GHINI, 2003). A utilização de métodos alternativos de controle que possam ser utilizados de forma integrada para reduzir o impacto ambiental deixado pelos produtos químicos (KNAAK; FIÚZA, 2010), beneficia tanto os produtores orgânicos, os quais não possuem muitas alternativas de produtos a serem utilizados, quanto a uma grande parcela de consumidores, que estão dispostos a pagar mais por alimentos livres de agrotóxicos.

Pesquisas desenvolvidas utilizando-se extratos brutos ou óleos essenciais obtidos de plantas medicinais têm mostrado um grande potencial no controle de fitopatógenos, tanto pela ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos com características elicitoras (BASTOS; ALBUQUERQUE, 2004; BONALDO et al., 2004; CUNICO et al., 2002; KNAAK; FIÚZA, 2010; SALGADO, 2003; SCHWAN-ESTRADA et al., 2000; SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN, 2005; STANGARLIN et al., 1999).

A literatura tem registrado a eficiência de óleos essenciais obtidos de uma enorme gama de espécies botânicas em promover a inibição do desenvolvimento de vários fitopatógenos de natureza fúngica (BARRERA-NECHA; GARDUNO-PIZANA; GARCIA-BARREIRA, 2009; KNAAK; FIÚZA, 2010; KORDALI et al., 2005; LEE et al., 2008; PITAROKILI et al., 2002). A atividade antimicrobiana desenvolvida por estes óleos tem sido atribuída a pequenos terpenoides e compostos fenólicos como timol, carvona, carvacrol, mentol e muroleno, que também na forma pura exibem atividade

antifúngica (CONNER, 1993; KNAAK; FIÚZA, 2010; SMID; KOEKEN; GORRIS, 1996).

Apesar dos mecanismos de ação estar pouco caracterizados, parecem estar associados ao caráter lipofílico dos compostos, havendo um acúmulo em membranas e perda de energia pelas células microbianas (CONNER, 1993; KNAAK; FIÚZA, 2010; SIKKEMA; BONT; POOLMAN, 1995), uma vez que determinados terpenos presentes nos óleos essenciais são capazes de tornar a membrana celular do fungo permeável, causando o vazamento de seu conteúdo (KNAAK; FIÚZA, 2010; PIPER et al., 2001).

As fitoalexinas são metabólitos secundários, antimicrobianos, de baixo peso molecular produzidos pelas plantas em resposta a estresses físicos, químicos ou biológicos, para impedir a atividade de agentes patogênicos (PURKAYASTHA, 1995). O crescente interesse nesse composto pode ser devido à vasta gama de novos sítios de ação nos organismos-alvo, indicando caminhos para a síntese de novos produtos (DUKE; DAYAN; RIMANDO, 2000). De forma geral, o modo de ação das fitoalexinas sobre fungos inclui granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas. Esses efeitos refletem-se na inibição da germinação e alongação do tubo germinativo e na redução ou inibição do crescimento micelial dos fungos (LO et al., 1996). Dessa forma, é de fundamental importância pesquisas na procura de novos grupos químicos com efeito fungicida, uma vez que os fungos têm desenvolvido resistência aos produtos químicos utilizados.

Segundo Maciel et al. (2002), a utilização de óleos essenciais no controle de fitopatógenos apresenta algumas limitações que constituem obstáculos à comercialização de novos produtos: escolha da espécie vegetal, disponibilidade de matéria-prima, condições de cultivo, padronização química

dos óleos essenciais, além do controle de qualidade do óleo. Devido a esses entraves, tornam-se necessárias pesquisas criteriosas quanto à composição química das substâncias oriundas das plantas e os seus efeitos toxicológicos aos organismos-alvo e não alvo, além de se avaliar as técnicas de aplicação a campo.

O nordeste brasileiro é um celeiro de biodiversidade, com várias espécies espalhadas em vários ecossistemas. O gênero *Lippia* é composto por cerca de 200 espécies de ervas, arbustos e pequenas árvores pertencentes à família Verbenaceae. Entre as principais espécies deste gênero estão: *L. gracillis* H.B.K., *L. sidoides* Cham., *L. alba* Mill N.E. Brown, *L. mycrophylla* Cham., *L. gravelous*, *L. alnifolia*, *L. aristata*, *L. grata*, *L. triphylla*, *L. thymoides*, *L. citiodora*, *L. adoensis* e *L. schimperi* (TERBLANCHÉ; KORNELIUS, 1996), sendo caracterizadas pela presença de óleos essenciais com atividade antimicrobiana e pela presença de compostos como timol e carvacrol.

Lippia sidoides Cham. é uma planta que ocorre na região Nordeste do Brasil, principalmente, na área abrangida pelos municípios de Mossoró-RN e Tabuleiro do Norte-CE, onde é conhecida popularmente por alecrim-pimenta, alecrim-do-nordeste, alecrim-bravo (INNECCO; MATTOS; CRUZ, 2000) e estrepa-cavalo (INNECCO; MATTOS; CRUZ, 2000; MATOS, 2002). É um arbusto caducifólio, ereto, muito ramificado e quebradiço, podendo chegar a 2-3 m de altura. Suas folhas são pecioladas e simples, de dois a três centímetros, muito aromáticas e picantes, as flores são pequenas, esbranquiçadas, reunidas em espigas de eixo curto nas axilas das folhas. Sua propagação é assexuada, através do processo de estaquia, usando os ramos mais finos (LORENZI; MATOS, 2002) ou estacas herbáceas com folhas (MENDONÇA, 1997).

A espécie *Lippia gracillis* Shauer é natural da região semiárida do nordeste brasileiro, de terrenos bem drenados, sendo comum sua presença nos estados de Piauí, Bahia, Ceará, Paraíba e Pernambuco, podendo atingir até 2

metros de altura, bem ramificada, de caule quebradiço, com folhas pequenas, aromáticas e picantes, simples, cartáceas, com nervação impressa bem visível, de pouco mais que um centímetro de comprimento. As flores são miúdas e amarelo-esbranquiçadas, reunidas em espigas de eixo curto. Os frutos do tipo aquênio extremamente pequenos, cujas sementes raramente germinam.

Oliveira et al. (2008), ao avaliarem o controle do crescimento micelial de alguns fungos contaminantes de laboratório utilizando óleos essenciais de *L. sidoides*, *L. gracilis* e do fungicida Carbendazin, concluíram que o óleo de *L. sidoides* e o Carbendazin mostraram-se eficientes na inibição do crescimento micelial de todos os fungos avaliados.

REFERÊNCIAS

ABREU JÚNIOR, H. J. **Práticas alternativas de controle de pragas e doenças na agricultura**: coletânea de receitas. Campinas: EMOPI, 1998. 115 p.

BARRERA-NECHA L. L.; GARDUNO-PIZANA, C.; GARCIA-BARRERA, L. J. *In vitro* antifungal activity of essential oils and their compounds on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Gladioli* (Massey) snyder and hansen. **Plant Pathology Journal**, Pakistan, v. 8, n. 1, p. 17-21, Jan. 2009.

BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pos-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 555-557, set./out. 2004.

BERGAMIN FILHO, A. Curvas de progresso da doença. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de Fitopatologia**: princípios e conceitos. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 602-626.

BERGAMIN FILHO, A. et al. Análise espacial de epidemias. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 10, p.155-218, 2002.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In: CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. (Ed.). **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2003. p. 79-96.

BONALDO, S. M. et al. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 128-134, mar./abr. 2004.

CONNER, D. E. Naturally occurring compounds. In: DAVIDSON, P. M.; BRANEM, A. L. **Antimicrobials and foods**. New York: M. Dekker, 1993. p. 441-468.

CUNICO, M. M. et al. Contribuição ao estudo da atividade antifúngica de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., Celastraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Maringá, v. 12, n. 2, p. 69-73, abr./maio 2002.

DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.; RIMANDO, A. M. Natural products and herbicide discovery. In: COBB, A. H.; KIRKWOOD, R. C. **Herbicides and their mechanisms of action**. Sheffield: Academic, 2000. p. 105-133.

FERREIRA, J. M. S. et al. Pragas do coqueiro. In: WARWICK, D. R. N.; SIQUEIRA, L. A. (Ed.). **Cultura do coqueiro no Brasil**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 1998. p. 205-280.

FONTES, H. R.; WANDERLEY, M. **Situação atual e perspectivas para a cultura do coqueiro no Brasil**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2006. 94 p. Documentos.

HUGHES, G.; MADDEN, L. V.; MUNKVOLD, G. P. Cluster sampling for disease incidence data. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 86, n. 1, p. 132-137, Jan.1996.

INNECCO, R.; MATTOS, S. H.; CRUZ, G. F. Determinação da altura de corte do alecrim-pimenta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 992-993, out. 2000. Supl.

JEGER, M. J. Mathematical analysis and modeling of spatial aspects of plant disease epidemics. In: KRANZ, J. (Ed.). **Epidemics of plant diseases: mathematical analysis and modeling**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1990. p. 53-95.

KNAAK, N.; FIUZA, L. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**, São Leopoldo, v. 5, n. 2, p. 120-132, maio/ago. 2010.

KORDALI, S. et al. Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential oils from three Turkish *Artemisia* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 5, p. 1408-1416, Mar. 2005.

LEE, Y. S. et al. Antifungal activity of Myrtaceae essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 23, n. 1, p. 23-28, Jan. 2008.

LO, L. C. et al. Phytoalexin accumulation in sorghum: identification of a methyl ether of luteolinidin. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Amsterdam, v. 49, n. 1 p. 21-31, Jan. 1996.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 512 p.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 429-438, maio 2002.

MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas: Sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades**. 4. ed. Fortaleza: UFC, 2002. 267 p.

MENDONÇA, C. S. **Efeito do ácido indol butírico no enraizamento de estacas de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.)**. 1997. 43 p Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1997.

NAMBIAR, K. K. N. et al. Stem bleeding disease of coconut: reproduction of symptoms by inoculation with *Thielaviopsis paradoxa*. **Journal of Plantation Crops**, Kerala, v. 14, n. 2, p. 130-133, Feb.1986.

OHLER, J. G. **Coconut, tree of life**. Rome: FAO, 1964. 446 p.

OLIVEIRA, O. R. et al. Efeito de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 39, n. 1, p. 94-100, jan./mar. 2008.

PIPER, P. et al. Weak acid adaptation: the stress response that confers resistance to organic acid food preservatives. **Microbiology**, Washington, v. 147, n. 10, p. 2635-2642, Oct. 2001.

PITAROKILI, D. et al. Composition and antifungal activity on soil-borne pathogens of the essential oil of *Salvia sclarea* from Greece. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 23, p. 6688-6691, Apr. 2002.

PURKAYASTHA, R. P. Progress in phytoalexin research during the past 50 years. In: DANIEL, M.; PURKAYASTHA, R. P. **Handbook of phytoalexin metabolism and action**. New York: M. Dekker, 1995. p. 1-39.

SALGADO, A. P. S. P. et al. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 249-254, mar./abr. 2003.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 30, n. 2, p. 129-137, mar. 2000.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S. et al. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 125-132.

SIKKEMA, J.; BONT, J. A. M.; POOLMAN, B. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Amsterdam, v. 59, n. 2, p. 201-222, Feb. 1995.

SIQUEIRA, L. A.; ARAGÃO, W. M.; TUPINAMBÁ, E. A. **A introdução do coqueiro no Brasil, importância histórica e agrônômica**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2002. 24 p. Documentos.

STANGARLIN, J. R. et al. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia & Desenvolvimento**, Brasília, v. 2, n. 11, p. 16-21, nov. 1999.

TERBLANCHÉ, F. C.; KORNELIUS, G. Essential oil constituents of the genus *Lippia* (Verbenaceae): a literature review. **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 8, n. 2, p. 471-485, Mar./Abr. 1996.

WAGGONER, P. E.; AYLOR, D. E. Epidemiology: a science of patterns. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 38, n.1, p.71-94. Jan./Mar. 2000.

WARWICK, D. R. N.; PASSOS, E. E. M. Ataque de resinose do coqueiro causada por *Thielavopsis paradoxa* em Sergipe, Brasil. **Tropical Plant Pathology**, Lavras, v. 34, n. 3, p. 175-177, jul./set. 2009.

CAPÍTULO 2

Transmissibilidade e sobrevivência de *Thielaviopsis paradoxa* em *Rhynchophorus palmarum*

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar o papel do *Rhynchophorus palmarum* na transmissão de *Thielaviopsis paradoxa*, agente etiológico da resinose do coqueiro e discutir a sobrevivência do mesmo no coleóptero na ausência de novas fontes de infecção. Foram coletados 80 coleópteros adultos, 40 machos e 40 fêmeas em dois cultivos de coco do Estado de Sergipe: Neópolis (continha focos de resinose) e Itaporanga D'Ajuda (sem focos de resinose), que foram divididos em dois lotes iguais. O primeiro lote foi avaliado imediatamente após a coleta e o segundo após sete dias. Os besouros foram esfregados um a um em placa de Petri contendo meio BDA, desinfetados externamente e dissecados, dividindo com a divisão do tubo digestivo em suas três partes principais: estomodeu, mesêntero e proctodeu, que foram colocadas em meio de cultura BDA e mantidas em BOD a 25 ° C por 5 dias. A patogenicidade dos isolados de *T. paradoxa* em coqueiros foi verificada utilizando-se três métodos de inoculação. Apenas os coleópteros coletados em Neópolis apresentaram crescimento de *T. paradoxa*, com 96,3% infecção externa e 77,5% infecção no tubo digestivo. Não houve diferença significativa entre o número de indivíduos infectados e não infectados em relação às partes do tubo digestivo. A patogenicidade dos isolados foi comprovada, sendo que todas as plantas morreram após 40 dias da realização das inoculações. O coleóptero *R. palmarum* atua como vetor do fungo *T. paradoxa* na cultura do coqueiro, podendo ser observada uma redução na sobrevivência do patógeno dentro do coleóptero após 7 dias, na ausência de novas fontes de infecção.

Palavras-chave: resinose. Coqueiro. Vetor

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the role of *Rhynchophorus palmarum* in the transmission of *Thielaviopsis paradoxa*, etiologic agent of stem bleeding of the coconut-tree and discuss the survival of the coleopterous even in the absence of new sources of infection. Eighty adults coleopterous were collected, 40 males and 40 females in two crops of coconut's of the State of Sergipe: Neópolis (contained foci of stem bleeding) and Itaporanga D'Ajuda (without foci of stem bleeding), which were divided into two equal lots. The first batch was evaluated immediately after collect and the second after seven days. The beetles were scrubbed one by one into a Petri dish containing PDA medium, externally disinfected and dissected by dividing with the division of the alimentary canal in its three main parts: stomodeum, mesenteric, and proctodeum, which were placed on PDA culture medium and kept in BOD at 25 ° C for 5 days. The pathogenicity of isolates of *T. paradoxa* in coconut-trees was performed using three methods of inoculation. Only coleopterous collected in Neópolis grew *T. paradoxa*, with 96.3% external infection and 77.5% infection in the alimentary canal. There was no significant difference between the number of infected and uninfected individuals in relation to parts of the alimentary canal. The pathogenicity of the isolates was confirmed, and all plants died after 40 days of the realization of inoculations. The coleopterous *R. palmarum* acts as a vector of the fungus *T. paradoxa* in the culture of coconut-tree, which can be observed a reduction in the survival of the pathogen within the coleopterous after 7 days in the absence of new sources of infection.

Keywords: Stem bleeding. Coconut-tree. Vector.

1 INTRODUÇÃO

Nas condições do nordeste brasileiro a cultura do coqueiro pode ser infectada por diversos patógenos causadores de várias doenças. Dentre estas, a resinose do coqueiro ou “*stem bleeding*”, cujo agente etiológico é o fungo *Thielaviopsis paradoxa* (De Seynes) Höhn, caracteriza-se pelo aparecimento de um líquido marrom-avermelhado que escorre através de rachaduras no tronco, que ao secar pode adquirir uma coloração avermelhada ou enegrecida; redução na frequência de emissão de folhas e no tamanho das mais novas; afinamento do tronco na região próxima à copa, sintoma este observado com progresso da doença; folhas amarelo-pardacentas frágeis e sujeitas à quebra (WARWICK; PASSOS, 2009), podendo ser letal com o aumento da severidade da doença.

O besouro *Rhynchophorus palmarum* Linnaeus (1758), agente causal da broca-do-olho do coqueiro, também é o principal vetor do nematoide *Bursaphelenchus cocophilus* (Cobb) Baujard (GERBER; GIBLIN, 1990), organismo este, causador do anel vermelho do coqueiro e possível vetor da resinose do coqueiro. O *R. palmarum* quando no estágio adulto apresentam coloração preta-opaca, tamanho variado podendo medir de 40 a 60 mm de comprimento; rostro recurvado; élitros com oito sulcos longitudinais e de aspecto aveludado, não cobrindo totalmente a extremidade do abdômen; dimorfismo sexual, onde somente os machos apresentam pelos no dorso do rostro. Podem viver até 60 dias e, durante esse período a fêmea pode colocar até 700 ovos e de uma maneira geral o *R. palmarum* localiza sua planta hospedeira a longas distâncias através do olfato, devido a liberação pela planta de voláteis químicos (LACERDA, 2001). Isso ocorre quando a planta apresenta ferimento ou outro tipo de *stress*. Uma vez localizada, a planta desce para a base axilar da

palmeira e ao encontrar as partes mais tenras do meristema, tanto se alimenta quanto ovíparos.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o papel do coleóptero *R. palmarum* na transmissão de *T. paradoxa* e discutir a sobrevivência do fungo no inseto na ausência de novas fontes de infecção.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área estudada e coleta dos besouros

A coleta dos coleópteros foi realizada em duas regiões do estado de Sergipe: Fazenda H-Dantas, no Município de Neópolis, onde continha diversos focos da resinose e no Povoado Nova Descoberta no Município de Itaporanga D'Ajuda onde não havia focos da doença. Foram coletados em cada região 80 insetos adultos de *R. palmarum* (40 machos e 40 fêmeas), com o uso de armadilhas do tipo balde (MOURA et al., 1990), que são armadilhas contendo iscas atrativas, como toletes de cana-de-açúcar.

2.2 Transporte e condicionamento

Os insetos foram transportados para o laboratório de Fitopatologia da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju - SE, em câmaras térmicas, onde foram divididos em dois lotes de 40 insetos (20 machos e 20 fêmeas) para cada região. O primeiro lote foi dessecado e avaliado assim que chegou ao laboratório, enquanto o segundo lote foi avaliado 7 dias após a coleta para que pudesse avaliar a longevidade do fungo dentro dos insetos. Os coleópteros foram

alimentados com cana autoclavada. Os dois lotes foram mantidos à temperatura de 25°C e em jejum por 24 horas antes do processo de dissecação.

2.3 Avaliação da presença de *T. paradoxa* externamente e no tubo digestivo de *R. palmarum*

Os coleópteros foram esfregados um a um em placas de Petri contendo meio BDA (batata-dextrose-ágar), no número de um besouro por placa com o objetivo de verificar a presença de *T. paradoxa* externamente ao seu corpo.

Na avaliação da presença de *T. paradoxa* no tubo digestivo dos coleópteros, os insetos foram desinfetados externamente através da imersão dos mesmos por cinco minutos em uma solução de hipoclorito de sódio (NaClO), seguindo-se da dissecação dos mesmos com o auxílio de uma lupa binocular com um aumento entre 10 e 40x. Cada inseto foi introduzido em um recipiente com água destilada esterilizada para afrouxar os élitros e as asas membranosas, e posteriormente foram realizados cortes dorsolaterais no tórax e abdômen, e um corte da região cefálica, separando a cabeça (PARRA et al., 2003). O tubo digestivo foi removido e posteriormente dividido em suas três partes principais: estomodeu, mesêntero e proctodeu (LACERDA, 2001; PARRA et al., 2003). Cada uma das três partes do tubo digestivo foi seccionada em três outras partes que foram inseridas em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) e mantidas em BOD a 25 ° C.

A avaliação foi realizada após um período de 5 dias. As amostras foram observadas em microscópio óptico, onde as estruturas do fungo foram caracterizadas, chegando-se a sua identificação taxonômica. A presença de estruturas do fungo em qualquer uma das partes do seu tubo digestivo caracterizava o inseto como infectado.

2.4 Avaliação da sobrevivência de *T. paradoxa* em *R. palmarum*

Foi utilizada a metodologia descrita anteriormente, porém utilizando-se o segundo lote de insetos, que foram dessecados 7 dias após a coleta.

2.5 Verificação da patogenicidade de *T. paradoxa*

Foram selecionadas colônias de *T. paradoxa* com 7 dias de idade obtidos do tubo digestivo dos insetos para inoculação em plantas de coco com um ano de idade, mantidos em sacos de polietileno negro em casa de vegetação. Foram utilizados três métodos de inoculação: 1) inoculação de um disco de cultivo artificial de *T. paradoxa* - através de um extrator de casca especial foi retirado um cilindro do estirpe do coqueiro, onde foi inserido o disco de micélio fúngico; 2) injeção de 10 ml de uma suspensão de 100 esporos/ml de *T. paradoxa* - o estirpe do coqueiro foi cortado transversalmente para posterior injeção da seringa contendo a suspensão de esporos e 3) inoculação artificial de *T. paradoxa* por *R. palmarum* - foi realizado um furo no estirpe do coqueiro onde foi introduzido um besouro previamente infectado pelo patógeno. O besouro foi mantido no estirpe por 24 horas. Cinco plantas foram inoculadas por cada um dos 3 métodos descritos e pelos isolados das duas localidades (Neópolis e Itaporanga D'Ajuda).

O controle foi constituído de 15 plantas, sendo que 5 plantas foram inoculadas por discos de meio BDA sem o fungo, 5 foram injetadas com 10 ml de água destilada esterilizada e mais 5 foram somente furadas no estirpe sem a introdução do besouro. Em todos os métodos de inoculação, a região inoculada foi recoberta por uma fita adesiva a fim de oferecer condições de câmara úmida

e posteriormente foi realizado um novo isolamento das plantas inoculadas que apresentaram os sintomas da resinose.

2.6 Análise dos dados

Os dados relativos ao número de indivíduos infectados e não infectados com *T. paradoxa* aos 0 e 7 dias; o número de indivíduos infectados à região do tubo digestivo e número de indivíduos infectados com relação ao sexo nas duas regiões foram submetidos ao teste de qui-quadrado (χ^2) a 5% de probabilidade utilizando os procedimentos estatísticos do *software* SAS – Statistical Analysis System (1985).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi encontrado *T. paradoxa* tanto externamente quanto no tubo digestivo dos besouros isolados do Povoado Nova Descoberta no Município de Itaporanga D’Ajuda onde não havia focos da doença (Tabela 1).

Tabela 1 Número total de indivíduos de *Rhynchophorus palmarum* nos municípios de Neópolis e de Itaporanga D’Ajuda com a presença de *Thielaviopsis paradoxa* externamente e em seu tubo digestivo

	Municípios		Total
	Neópolis	Itaporanga D’Ajuda	
Externamente			
Infectados	77	0	77
Não infectados	3	80	83
Total	80	80	160
Internamente			
Infectados	62	0	62
Não infectados	18	80	58
Total	80	80	120

Os isolamentos realizados a partir da parte externa dos insetos coletados em Neópolis evidenciaram 96,3% de crescimento micelial de *T. paradoxa*. Resultado semelhante foi obtido na avaliação das diferentes partes do tubo digestivo do inseto, com 77,5% de infecção. As colônias apresentaram crescimento radial uniforme, inicialmente hialino, tornando-se totalmente cinza aos 4 dias. Microscopicamente, o fungo apresentou conidióforos hialinos a marrom-pálido de até 250 µm de comprimento. Os conídios hialinos a marrom-pálido foram produzidos endogenamente em cadeias, de forma cilíndrica a elipsoidal (7-14 x 2,7-6 mm). Os clamidósporos lisos e de parede dupla, localizados nas cadeias de terminais apresentavam coloração que variava de marrom-pálido a marrom-escuro (25/09 x 15/06 mm). Esses caracteres permitiram identificar o fungo como *T. paradoxa*, anamorfo do fungo *Ceratocystis paradoxa* (Dade) Moreau (MORGAN-JONES, 1967; SULEMAN; AL-MURALLAN; MENEZEZ, 2001; WARWICK; PASSOS, 2009).

Não houve diferença significativa entre os sexos aos 0 e 7 dias após coleta em relação a presença do fungo na superfície do corpo (Tabela 2). Entretanto, os machos apresentaram maior registro de *T. paradoxa* no tubo digestivo dos insetos (80%) em relação às fêmeas (75%), havendo diferença significativa tanto ao 0 quanto aos 7 dias (Tabela 2).

Tabela 2 Número de indivíduos de *Rhynchophorus palmarum* (machos e fêmeas) do município de Neópolis com a presença de *Thielaviopsis paradoxa* externamente e internamente ao seu corpo ao 0 e 7 dias após a coleta

	Sexo		Total	Parâmetros*	
	Fêmea	Macho		χ^2	P
Externamente					
0 dias					
Infectados	20	19	39	1,026	0,314
Não infectados	0	1	1		
Total	20	20	40		
7 dias					
Infectados	18	20	38	2,105	0,157
Não infectados	2	0	2		
Total	20	20	40		
Internamente					
0 dias					
Infectados	16	20	36	4,444	0,032
Não infectados	4	0	4		
Total	20	20	40		
7 dias					
Infectados	16	10	26	3,956	0,048
Não infectados	4	10	14		
Total	20	20	40		

$\alpha = 0,05$; $G.L. = 1$

O trato digestivo dos insetos é constituído de um tubo de células epiteliais que se estende da boca até o ânus, no qual é dividido em três regiões principais baseado na sua origem embrionária e na sua função fisiológica em estomodeu (região anterior), mesêntero (região média) e proctodeu (região posterior) (TERRA; FERREIRA, 1994; WIGGLESWORTH, 1972). Na avaliação da infectividade no tubo digestivo, 77,5% dos besouros apresentaram-se infectados, sendo 68,75% no estomodeu, 60% no mesêntero e 70% no proctodeu. Pode-se observar que não houve diferença significativa entre o

número de indivíduos infectados e não infectados em relação às partes do tubo digestivo (Tabela 3).

Estudos anteriores demonstraram uma menor frequência de *T. paradoxa* no mesêntero de *R. palmarum* (MOURA et al., 1990). Este resultado pode ser explicado pela limitação do acúmulo de esporos de *T. paradoxa* nesta região devido à ação de enzimas (PARRA et al., 2003; TERRA; FERREIRA, 1994) e de bactérias associadas à mesma (PARRA et al., 2003).

Tabela 3 Número de indivíduos de *Rhynchophorus palmarum* do município de Neópolis com a presença de *Thielaviopsis paradoxa* nas diferentes partes de seu tubo digestivo aos 0 e 7 dias após sua coleta

	Parte do tubo digestivo				Parâmetros*	
	Estomodeu	Mesêntero	Proctodeu	Total	χ^2	P
0 dias						
Infectados	30	31	33	94	0,687	0,709
Não Infectados	10	9	7	26		
Total	40	40	40	120		
7 dias						
Infectados	25	17	23	65	3,491	0,180
Não infectados	15	23	17	55		
Total	40	40	40	120		

* $\alpha = 0,05$; G.L. = 2

Houve diferença significativa entre os insetos obtidos no município de Neópolis quanto ao número de besouros infectados com *T. paradoxa* no tubo digestivo em relação ao dia de avaliação, com 90% de infectividade aos 0 dias e à 65% de infectividade aos 7 dias (Tabela 4), evidenciando uma perda na longevidade do fungo dentro do tubo digestivo do inseto após 7 dias. Os fungos, diferentemente de alguns fitovírus não têm a capacidade de alcançar a hemolinfa do inseto e assim percorrer o corpo do mesmo, multiplicando-se. Dessa forma, o coleóptero *R. palmarum* adquire o fungo *T. paradoxa* durante a alimentação,

passando por todo canal digestivo e no processo de excreção elimina-o pelas fezes, o que explica a perda gradual de longevidade do fungo dentro do tubo digestivo do inseto após 7 dias na ausência de nova fonte de infecção.

Tabela 4 Número total de indivíduos de *Rhynchophorus palmarum* no município de Neópolis com a presença de *Thielaviopsis paradoxa* tanto externamente quanto em seu tubo digestivo com 0 e 7 dias após a coleta (longevidade)

	Avaliação		Total	Parâmetros*	
	0 dias	7 dias		χ^2	P
Externamente					
Infectados	39	38	77	0,5263	0,022
Não infectados	1	2	3		
Total	40	40	80		
Internamente					
Infectados	36	26	62	10,9890	< 0,001
Não infectados	4	14	18		
Total	40	40	80		

* $\alpha = 0,05$; G.L. = 1

Na verificação da patogenicidade foram utilizados os indivíduos ou insetos do município de Neópolis. Todas as plantas morreram após 40 dias da realização das inoculações. Isolamentos realizados a partir do tecido doente das plantas sintomáticas confirmaram a patogenicidade por *T. paradoxa*. Inicialmente, as plantas inoculadas apresentaram encurtamento das folhas novas, levando ao aparecimento de resina no estipe e posteriormente à morte das plantas. As testemunhas não apresentaram quaisquer sintomas no decorrer do experimento (Tabela 5).

Tabela 5 Resultado da prova de patogenicidade em mudas de coqueiro de 1 ano de idade, a partir de isolados de *Thielaviopsis paradoxa* obtidos de besouros oriundos do município de Neópolis

Método de inoculação	n^a	Plantas mortas^b
Disco de ágar	5	5
Injeção de suspensão	5	5
Inoculação vetor	5	5
Testemunha ágar	5	0
Testemunha injeção	5	0
Testemunha vetor	5	0

^aTotal de plantas mortas em cada método, ^bNúmero de plantas mortas após 40 dias

O fato de encontrar o fungo no trato digestivo do inseto, após a desinfecção externa do exoesqueleto, indica uma relação de associação entre ambos os organismos (PARRA et al., 2003). Como o *R. palmarum* completa todo seu ciclo de vida dentro do hospedeiro (SÁNCHEZ; CERDA, 1993) e apresenta uma rápida dispersão por ambos os sexos (HAGLEY, 1965) é provável que a transmissão do fungo seja realizada tanto pelos esporos do fungo que são carregados externamente ao seu corpo, quanto pela alimentação do inseto em plantas doentes e, em seguida em plantas saudáveis, liberando dessa forma suas excretas nos tecidos internos da planta (PARRA et al., 2003).

O presente trabalho corrobora os resultados obtidos por Parra et al. (2003), uma vez que agora ficou comprovada a presença também do *T. paradoxa* externamente ao corpo dos coleópteros, bem como redução na sobrevivência do fungo no tubo digestivo do coleóptero.

4 CONCLUSÕES

O coleóptero *Rhynchophorus palmarum* atua como vetor do fungo *Thielaviopsis paradoxa* na cultura do coqueiro.

Ocorre perda gradual da sobrevivência de *Thielaviopsis paradoxa* em *Rhynchophorus palmarum* na ausência de novas fontes de infecção.

REFERÊNCIAS

- GERBER, K.; GIBLIN, R. Association of the red ring nematode and other nematodes species with the palm weevil *Rhynchophorus palmarum* L. **Journal of Nematology**, Illinois, v. 22, n. 2, p. 143-149, Apr. 1990.
- HAGLEY, E. A. C. On the life history and habitats of the palm weevil *Rhynchophorus palmarum* (L.). **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 32, n. 58, p. 22-28, Feb. 1965.
- LACERDA, I. J. Coqueiro sob ataque. **Revista Cultivar - Hortaliças e Frutas**, Pelotas, v. 6, p. 25-28, abr. 2001.
- MORGAN-JONES, C. Descriptions of pathogenic fungi and bacteria. **Bureaux: Commonwealth Agricultural**, London, n. 143, p. 65-69, 1967.
- MOURA, J. I. L. et al. Diferentes tipos de armadilhas e iscas no controle de *Rhynchophorus palmarum* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). **Agrotropica**, Itabuna, v. 2, p. 165-169, set./dez. 1990.
- PARRA, D. et al. Presencia de *Thielaviopsis paradoxa* de Seynes Höhn em el tubo digestivo de *Rhynchophorus palmarum* Linneo (Coleoptera: Curculionidae). **Entomotropica**, Maracay, v. 18, n. 1, p. 49-55, enero/abr. 2003.
- SÁNCHEZ, P. A.; CERDA, H. El complejo *Rhynchophorus palmarum* (L) (Coleoptera: Curculionidae) – *Bursaphelenchus cocophilus* (Cobb) (Tylenchida: Aphelenchoididae), en palmeras. **Boletín de Entomología Venezolana**, Caracas, v. 8, n. 1, p. 1-18, enero 1993.
- SULEMAN, P.; AL-MUSALLAM, A.; MENEZEZ, C. A. A. The effect of solute potential and water stress on black scorch caused by *Chalara paradoxa* and *Chalara raidicicola* on date palms. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 85, n. 1, p. 80-83, Jan. 2001.
- TERRA, W. R.; FERREIRA, C. Insect digestive enzymes: properties, compartmentalization and function. Review. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v. 109, n. 1, p.1-62, Jan.1994.

WARWICK, D. R. N.; PASSOS, E. E. M. Ataque de resinose do coqueiro causada por *Thielavopsis paradoxa* em Sergipe, Brasil. **Tropical Plant Pathology**, Lavras, v. 34, n. 3, p. 175-177, jul./set.2009.

WIGGLESWORTH, V. B. **The principles of insect physiology**. London: Chapman and Hall, 1972. 827 p.

CAPÍTULO 3

Análise espaço-temporal da resinose do coqueiro em Sergipe

RESUMO

A resinose causada por *Thielaviopsis paradoxa*, constitui uma importante doença do coqueiro no estado de Sergipe. A compreensão do comportamento epidemiológico da resinose é fundamental para o estabelecimento de estratégias de controle mais eficientes. Neste contexto o presente trabalho teve como objetivo caracterizar o progresso temporal e a distribuição espacial da resinose em um pomar comercial sob condições naturais de infecção de Neópolis, Sergipe. Foram selecionados 3 talhões com 729 plantas cada, onde as plantas foram avaliadas a cada dois meses quanto à incidência da doença. Na análise temporal, o modelo Gompertz foi o que melhor se ajustou aos dados de incidência da resinose, representando bem a dinâmica temporal da doença durante o período experimental. O padrão espacial da resinose variou no decorrer do tempo, com infecções iniciais apresentando padrão aleatório, evoluindo para agregado no decorrer das avaliações, indicando que a doença pode ter sido originada de estruturas de sobrevivência no patógeno, seguidas de autoinfecções decorrentes da disseminação planta a planta, seja pelo homem, pelo contato entre raízes ou pelo vetor *Rhynchophorus palmarum*.

Palavras-chave: *Thielaviopsis paradoxa*. Análise temporal. Arranjo espacial.

ABSTRACT

The stem bleeding caused by *Thielaviopsis paradoxa*, constitutes an important disease of coconut-tree in the State of Sergipe. Understanding the epidemiological behavior of stem bleeding is essential for the establishment of more efficient control strategies. In this context, this study aimed to characterize the temporal progress and spatial distribution of stem bleeding in a commercial orchard under natural infection of Neópolis, Sergipe. Three plots were selected with 729 plants each, where the plants were evaluated every two months for incidence of the disease. In the temporal analysis, the Gompertz model was the best fit to the data of incidence of stem bleeding, representing well the temporal dynamics of disease during the experimental period. The spatial pattern of stem bleeding varied over time, with initial infections presenting random pattern that is evolving to aggregate during evaluations, indicating that the disease may have originated from the pathogen survival structures, followed by self-infections caused by the dissemination plant-plant, either by man or by contact between the roots or by the vector *Rhynchophorus palmarum*.

Keywords: *Thielaviopsis paradoxa*. Temporal analysis. Spatial arrangement.

1 INTRODUÇÃO

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.) é considerado uma das árvores mais importantes do mundo, devido à geração de emprego e renda em vários países do globo, onde seus frutos podem ser consumidos *in natura* ou industrializados na forma de diversos produtos e subprodutos. A ocorrência da resinose do coqueiro, detectada pela primeira vez no estado de Sergipe no início de 2004 é causada pelo fungo *Thielaviopsis paradoxa* (De Seynes) Höhn. Esta doença tem-se tornado motivo de extrema preocupação, devido a sua rápida disseminação e consequente queda de produção.

O fungo *T. paradoxa* em sua fase imperfeita ou assexual é responsável pela produção de dois tipos de esporos, os endoconídios e os clamidósporos. Em sua fase sexual ou perfeita é denominado *Ceratocystis paradoxa* (Dade) C. Moreau (1952), fase esta raramente encontrada na natureza e até o momento não verificado nas condições nacionais. Dentre os principais sintomas da resinose, destaca-se o aparecimento de um líquido marrom-avermelhado que escorre através de rachaduras no tronco, que ao secar pode adquirir uma coloração avermelhada ou enegrecida; redução na frequência de emissão de folhas e no tamanho das mais novas; afinamento do tronco na região próxima à copa, sintoma este observado com o progresso da doença; folhas amarelo-pardacentas frágeis e sujeitas à quebra (WARWICK; PASSOS, 2009).

Informações sobre a dinâmica espaço-temporal da resinose é de extrema importância para que haja melhor entendimento do patossistema, podendo ser utilizada para descrever e entender o desenvolvimento das doenças, para desenvolver planos de amostragem, planejar experimentos controlados e caracterizar perdas na produção ocasionadas pela doença.

A análise temporal permite a construção das curvas de progresso de doenças, para que haja melhor representação da epidemia. Interpretar o formato dessas curvas e determinar seus componentes, como quantidade inicial de doença, taxa de progresso, quantidade final, bem como a área abaixo da curva de progresso, são fundamentais para se efetuar o manejo de epidemias (BERGAMIN FILHO, 1995).

O estudo de padrões espaciais de doenças de plantas, que são reflexos do processo de dispersão dos patógenos, caracterizado pela distribuição de plantas doentes umas em relação às outras fornecem dados que podem ser utilizados para auxiliar o esclarecimento da etiologia, do papel dos agentes de disseminação da doença como vetores, o vento e a chuva e para se definirem estratégias mais adequadas para o controle da doença. A análise do arranjo espacial também tem possibilitado o entendimento da dinâmica de epidemias com relação ao padrão do inóculo inicial, o efeito de práticas biológicas e culturais, e o efeito de fatores ambientais na quantidade da doença no campo (JEGER, 1990).

O objetivo do presente trabalho foi de caracterizar a dinâmica espaço-temporal da resinose na principal região produtora de coco do Estado de Sergipe, por meio da confecção de curvas de progresso da doença e da caracterização da dinâmica e estrutura de focos da resinose e de análise de “*ordinary runs*”.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju/SE e na Fazenda União Fruticultura Ltda., localizada no Perímetro Irrigado de Neópolis/SE, latitude 10°17'S,

longitude 36°35'W e altitude de 120 m. A escolha da propriedade foi devido ao fato da mesma ter apresentado os primeiros focos da doença em 2009, aproximadamente cinco anos após sua detecção nas demais fazendas produtoras da região.

Os dados de temperatura, umidade relativa do ar e precipitação pluvial total foram obtidos diariamente em estação meteorológica situada a cerca de 5 km das áreas experimentais, na Associação dos Concessionários do Distrito de Irrigação do Platô de Neópolis- ASCONDIR.

2.1 Avaliação da doença

Foram selecionados três talhões homogêneos de cultivo da variedade anão-verde com 13 anos de idade, sendo que cada talhão era constituído de 729 plantas, distribuídas em 27 linhas e 27 colunas, plantadas no sistema de plantio em triângulo equilátero (7,5m de lado). As avaliações da incidência da doença foram realizadas a cada dois meses, por um período de dois anos, de julho de 2009 a maio de 2011, a partir das primeiras plantas encontradas com sintomas da resinose.

Todas as plantas, em todos os talhões, foram observadas, individualmente, em busca dos sintomas típicos da resinose. A presença ou ausência de sintomas e a posição relativa de cada planta foram anotados, obtendo-se assim um mapa de cada talhão para cada data de avaliação. A partir desses mapas foram obtidos mapas de incidência cumulativa, os quais consideram que uma planta doente em uma avaliação permanecerá doente nas posteriores.

2.2 Curvas de progresso da doença

As curvas de progresso da resinose do coqueiro foram plotadas para os três talhões, utilizando-se os valores de incidência em relação ao tempo. A incidência foi determinada pela porcentagem de plantas com sintomas da resinose.

A partir dos valores de incidência da resinose em proporção (y), testaram-se os modelos: Linear ($y=y_0 +r*t$); Exponencial: $\exp(x_0)*\exp(rt)$; Monomolecular: $1-((1-\exp(x_0))/(\exp(x_0)))^*\exp(-rt)$; Logística: $1/(1+((1/\exp(x_0))-1)*\exp(-rt))$; Gompertz: $\exp(-(-\ln(\exp(-\exp(x_0))))^*\exp(-rt))$. Para escolha do modelo que melhor se ajusta aos dados, foi levado em consideração o maior coeficiente de determinação ajustado da análise de regressão (R^2) para reciprocidade entre valores observados (variável independente) e previstos (variável dependente) de incidência da doença, o menor quadrado médio do resíduo (QMR) e ausência de tendências indesejáveis no gráfico de dispersão de resíduo (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

Com base no melhor modelo ajustado aos dados, foi feita a linearização da curva e estimado o início da epidemia em cada talhão e a quantidade de doença aos 660 dias.

2.3 Arranjo espacial da doença

2.3.1 Análise de *doublet*

Foram caracterizados, nas linhas de plantio os números de plantas sadias (\bullet) e doentes (\times). Foi calculado o número esperado de *doublets* sob a hipótese nula de aleatoriedade $E(D)=m(m-1)/N$, onde D : número de *doublet*; m : número de plantas doentes; N : número de plantas na linha. O desvio-padrão de D , sob a

hipótese de nulidade foi calculado por $S(D) = \{m(m-1)[N(N-1) + (2N(m-2) + N(m-2)(m-3) - (N-1)m(m-1)]/N^2(N-1)\}^{0.5}$. Calculou-se o valor estandardizado de $ZD = [(D + 0,5 - E(D))/s(D)]$, com base na distribuição normal, sendo que, quando $ZD > 1,64$ ($P=0,05$), define-se com padrão agregado e, quando $ZD < 1,64$ ($P=0,05$) padrão ao acaso.

2.3.2 Análise da dinâmica e estrutura de focos (ADEF)

A definição de foco foi considerada como sendo uma área de concentração localizada de plantas doentes, quer sejam fontes primárias de infecção ou coincidentes com zonas originalmente favoráveis ao estabelecimento da doença, e que tendem a influenciar no padrão posterior de transmissão da doença (LARANJEIRA; BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1998).

Compartilharam do mesmo foco, somente aquelas plantas doentes imediatamente adjacentes no padrão de proximidade vertical, horizontal ou longitudinal. Para cada talhão foram contados o número de focos (NF), número de plantas por foco (NPF), número de plantas doentes da maior linha de cada foco (If) e o número de plantas doentes na maior coluna (Ic). A partir destes dados calculou-se o número médio de plantas por foco (NMPF), a distribuição da frequência de número de plantas por foco (NPF), o índice de forma de foco (IFF) e o índice de compactação por foco (ICF), utilizando as fórmulas: $IFF = If/Ic$ e $ICF = NPF / If * Ic$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados médios de temperatura, umidade relativa do ar e precipitação total durante a condução dos experimentos foram respectivamente de 26°C e 91 mm e 81,4%. As maiores temperaturas foram verificadas nos meses de março dos dois anos de avaliação (aproximadamente 28°C). Houve grande diferença nos índices de precipitação durante o período experimental, onde os maiores valores obtidos corresponderam aos meses de julho de 2009 e julho de 2010, com 177,3 e 214,4mm, respectivamente. A umidade relativa variou entre 74,8 e 89,6% (Gráfico 1).

Nos dois anos de avaliação, o período de maio a setembro correspondeu aos maiores índices de precipitação e umidade relativa do ar e às menores temperaturas. Entretanto, nota-se que o progresso da doença ocorreu de forma gradual, não sendo influenciado pela época do ano.

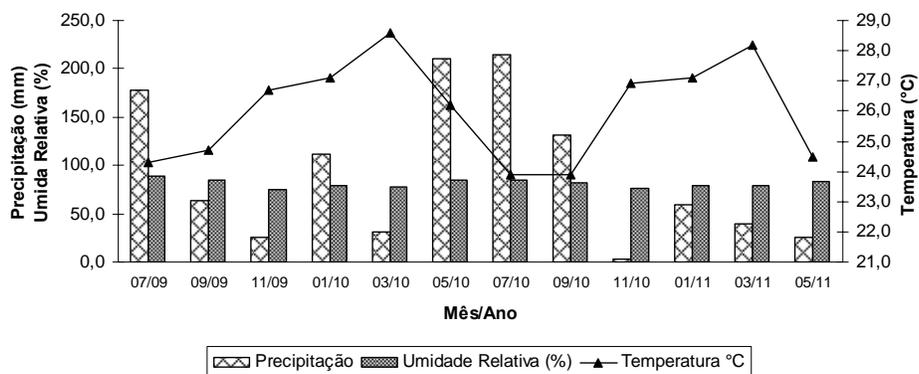


Gráfico 1 Temperatura média, precipitação total e umidade relativa do ar média no Platô de Neópolis-SE, durante o período de julho de 2009 a maio de 2011

3.1 Curvas de progresso da doença

As curvas de progresso da incidência da resinose do coqueiro no Platô de Neópolis, nos três talhões avaliados entre o período de junho de 2009 a maio

de 2011 encontram-se representados no Gráfico 2. O maior valor para incidência foi encontrado no talhão 3, que chegou a 22,77%, seguido do talhão 1, com 20,16% e por último o talhão 2 com 12,89%.

Um dos aspectos mais importantes da análise temporal de epidemias é a seleção de um modelo apropriado para descrever a curva de progresso da doença. Esta seleção tem como objetivo estimar variáveis que são utilizadas na análise estatística para comparação das curvas de progresso de doenças (CAMPBELL; MADDEN, 1990). Levando-se em consideração o coeficiente de determinação ajustado da análise de regressão (R^2), o valor do quadrado médio dos desvios (Tabela 1) e o gráfico dos resíduos, o modelo Linear foi o que melhor se adequou aos dados de incidência da resinose nos três talhões avaliados, apesar dos altos valores de R^2 obtidos pelo modelo monomolecular. Dessa forma, os dados originais representaram bem a dinâmica temporal da doença nos dois anos de estudo.

As taxas de progresso da doença (r) foram estimadas pelo parâmetro b da equação de regressão, geradas pelo modelo Linear, que permitiu o melhor ajuste dos dados. As taxas de progresso da resinose foram de 0,0003 nos talhões 1 e 3 e de 0,0002 no talhão 2 (Gráfico 2).

Vale ressaltar que a escolha de um modelo que represente uma epidemia deve ser realizada com cautela, uma vez que informações estatísticas sobre ajuste de modelos teóricos são baseadas em premissas que nem sempre ocorrem na natureza (BERGAMIN FILHO, 1995; CAMPBELL; MADDEN, 1990). Os modelos em geral são para doenças específicas, o que não ocorre na prática, e sim uma associação de inúmeras doenças durante o ciclo de cultivo.

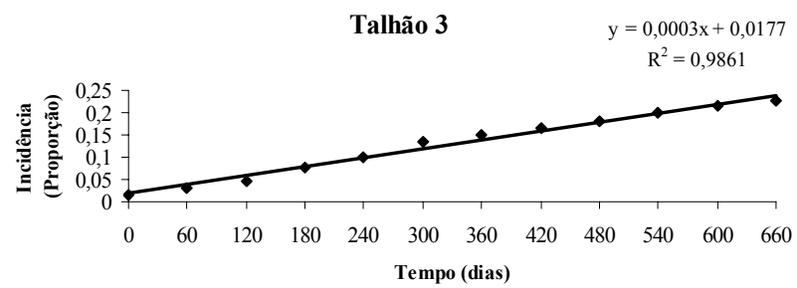
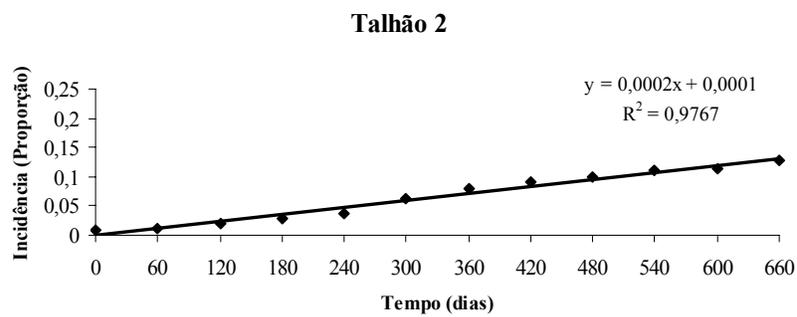
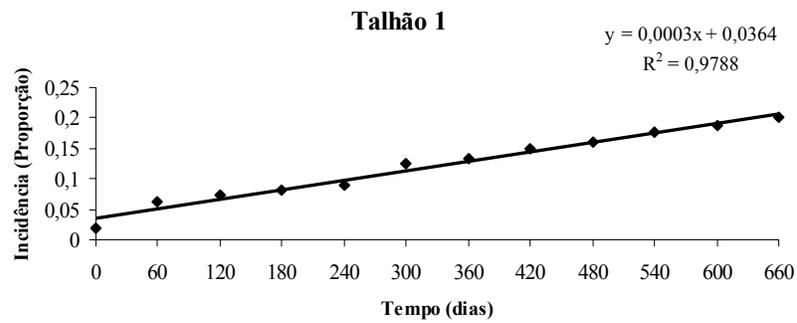


Gráfico 2 Curvas de progresso da incidência da resinose do coqueiro no Platô de Neópolis-SE para os talhões 1, 2 e 3 ajustadas a um modelo linear

Tabela 1 Valores do coeficiente de determinação entre os valores previstos e observados (R^2) e quadrado médio do resíduo (QMR) dos modelos para incidência de resinose do coqueiro no Platô de Neópolis (SE)

Modelos	Talhão 1		Talhão 2		Talhão 3	
	R^2	QMR	R^2	QMR	R^2	QMR
Linear	97,88	$7,42 \times 10^{-5}$	97,67	$4,87 \times 10^{-5}$	98,61	$8,19 \times 10^{-5}$
Monomolecular	98,21	$6,27 \times 10^{-5}$	97,76	$4,93 \times 10^{-5}$	99,08	$5,42 \times 10^{-5}$
Logístico	91,08	$3,12 \times 10^{-4}$	86,29	$2,86 \times 10^{-4}$	87,78	$7,19 \times 10^{-4}$
Exponencial	89,05	$3,83 \times 10^{-4}$	84,01	$3,34 \times 10^{-4}$	84,01	$9,41 \times 10^{-4}$
Gompertz	94,69	$1,86 \times 10^{-4}$	92,84	$1,5 \times 10^{-4}$	93,75	$3,68 \times 10^{-4}$

R^2 : Coeficiente de determinação entre os valores previstos e observados; QMR : Quadrado médio do resíduo

3.2 Arranjo espacial da doença

3.2.1 Análise de *doublet*

Pela análise de *doublet*, foi constatado em 100% das linhas de plantio, um arranjo espacial agregado ($Z \geq 1,64$; $P=0,05$) de plantas doentes a partir da segunda avaliação e nos três talhões (Tabela 2).

Tabela 2 Arranjo espacial da resinose do coqueiro no Platô de Neópolis (SE) entre julho de 2009 a maio de 2011 analisado pelo teste de doublet

Avaliação (mês/ano)	Talhão	D	m	E(D)	S(D)	Z(D)	Padrão espacial
jul/09	1	0	14	0,250	0,241	0,510	Aleatório
	2	0	6	0,041	0,041	2,278	Agregado
	3	0	12	0,181	0,176	0,761	Aleatório
set/09	1	23	45	2,716	2,398	13,422	Agregado
	2	2	9	0,099	0,097	7,726	Agregado
	3	8	22	0,634	0,598	10,175	Agregado
nov/09	1	31	53	3,781	3,260	15,352	Agregado
	2	6	14	0,250	0,241	12,737	Agregado
	3	18	34	1,539	1,403	14,320	Agregado
jan/10	1	39	60	4,856	4,101	17,107	Agregado
	2	12	20	0,521	0,494	17,036	Agregado
	3	37	56	4,225	3,611	17,511	Agregado
mar/10	1	43	65	5,706	4,748	17,345	Agregado
	2	16	27	0,963	0,895	16,419	Agregado
	3	42	74	7,410	5,999	14,326	Agregado
mai/10	1	67	92	11,484	8,794	18,889	Agregado
	2	30	46	2,840	2,500	17,496	Agregado
	3	61	99	13,309	9,969	15,263	Agregado
jul/10	1	68	98	13,040	9,798	17,718	Agregado
	2	33	57	4,379	3,731	15,076	Agregado
	3	68	109	16,148	11,715	15,295	Agregado
set/10	1	77	108	15,852	11,537	18,150	Agregado
	2	37	67	6,066	5,017	14,035	Agregado
	3	74	120	19,588	13,712	14,829	Agregado
nov/10	1	84	117	18,617	13,160	18,161	Agregado
	2	38	73	7,210	5,855	12,931	Agregado
	3	83	131	23,361	15,767	15,145	Agregado
jan/11	1	89	128	22,299	15,202	17,236	Agregado
	2	41	81	8,889	7,044	12,287	Agregado
	3	93	145	28,642	18,438	15,105	Agregado
mar/11	1	92	136	25,185	16,716	16,464	Agregado
	2	45	82	9,111	7,198	13,564	Agregado
	3	100	156	33,169	20,556	14,851	Agregado
mai/11	1	100	147	29,440	18,822	16,379	Agregado
	2	50	94	11,992	9,125	12,748	Agregado
	3	105	166	37,572	22,480	14,327	Agregado

m: número de plantas infectadas; D: número de *doublets*; E(R): *doublets* esperados; S(R): desvio-padrão; Z(R): distribuição normal padrão de *doublet*.

3.2.2 Análise de dinâmica e estrutura de focos (ADEF)

Foram considerados focos, plantas com sintomas da resinose imediatamente adjacente em padrão de proximidade vertical, horizontal ou diagonal (BERGAMIN FILHO et al., 2004).

A porcentagem de plantas doentes (PPD), correspondente respectivamente aos talhões 1, 2 e 3, foi de 1,92; 0,82 e 1,65% na primeira avaliação e de 20,16; 12,89 e 22,77% na última avaliação, após dois anos (Tabela 3), sendo observado maior número de focos unitários (NFU) nas primeiras avaliações para todos os talhões, diminuindo no decorrer das avaliações e chegando a zero na última avaliação.

À medida que a PPD aumentava, o NFU diminuía e aumentava o número médio de plantas por foco (NMPF). Tal fato indica que, em geral, o início da epidemia da resinose se dá por meio de plantas isoladas que servem como fonte de inóculo para as plantas sadias adjacentes. A relação positiva entre a agregação e a incidência de plantas sintomáticas é consistente com comportamento hipotético de um vetor infectivo que introduz a doença no talhão vindo de uma fonte externa. Dessa forma, o coleóptero *R. palmarum* pode estar envolvido neste processo, atuando como vetor na disseminação da doença no campo.

Jesus Júnior e Bassanezi (2004b) trabalhando com a morte súbita do citros verificaram que em talhões com até 2% de plantas sintomáticas, 85% dos focos eram formados por uma única planta e, nos casos de até 10% de incidência, mais de 65% dos focos eram unitários. Segundo os autores, o início das epidemias da morte súbita dos citros se dá por meio de plantas isoladas, fato também reportado para clorose variegada dos citros (CVC) (LARANJEIRA, BERGAMIN FILHO; AMORIM, 1998; NELSON, 1996; NUNES et al., 2001).

Ferreira, Abreu e Pereira (2009), trabalhando com a mancha manteigosa constataram um total de 10 focos da doença, com média de 2,5 plantas/focos e um número elevado de focos unitários, correspondendo a 52% das plantas doentes.

Na análise do índice de forma de focos (IFF), nos casos em que os focos foram formados por uma única planta, o IFF foi igual a 1,0, indicando focos isodiamétricos. Para os demais focos e avaliações, o IFF foi maior que 1,0, indicando focos com maior comprimento na direção entre as linhas de plantio (Tabela 3). Segundo Jesus Júnior e Bassanezi (2004b), a morte súbita do citros (MSC) mostrou tendências dos valores do IFF serem próximos de 1,0, principalmente quando se trata de elevado número de focos unitários. Laranjeira, Bergamin Filho e Amorim (1998) e Nelson (1996) verificaram maior número de plantas com sintomas de CVC nas linhas de plantio, apresentando forma elíptica. Da mesma forma Ferreira, Abreu e Pereira (2009) e Jesus Júnior e Bassanezi (2004b) também verificaram forma elíptica em estudos de dinâmica e estrutura de focos para MSC e mancha manteigosa, respectivamente.

Focos mais compactos possuem valores de ICF próximos a 1,0 e os menos compactos, valores menores (NELSON, 1996). Apesar do NMPF ter aumentado no decorrer das avaliações e o ICF ter diminuído, este se manteve próximo a 1,0, indicando focos compactos, com agregação das plantas pertencentes ao foco (Tabela 3). Laranjeira, Bergamin Filho e Amorim (1998) e Jesus Júnior e Bassanezi (2004b) verificaram que à medida que aumentava a incidência de MSC e CVC, diminuía o ICF. Ferreira, Abreu e Pereira (2009) concluíram que a compactidade dos focos corroborou com as informações de que a via principal da transmissibilidade da mancha manteigosa fosse via sementes, oriundas de cafeeiros doentes (planta/sememente/planta).

Tabela 3 Análise da dinâmica e estrutura de focos (ADEF) de três talhões de plantio de coqueiro anão com 729 plantas cada

Avaliação	Talhão	PPD	NF	NFU	NMPF	If	Ic	IFF	ICF
jul/09	1	1,92	13	12	1,08	1,00	1,00	1,00	1,08
	2	0,82	5	4	1,20	1,20	1,00	1,20	1,00
	3	1,65	12	12	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
set/09	1	6,17	11	5	4,09	2,09	1,95	1,07	1,00
	2	1,23	6	4	1,50	1,33	1,00	1,50	1,50
	3	3,02	11	2	2,00	1,73	1,00	1,73	1,16
nov/09	1	7,27	11	5	4,82	2,55	1,45	1,76	1,30
	2	1,92	5	3	2,80	1,60	1,20	1,33	1,46
	3	4,66	9	1	3,78	2,67	1,22	2,19	1,16
jan/10	1	8,23	10	3	6,00	2,90	1,50	1,93	1,38
	2	2,74	5	0	4,00	2,40	1,20	2,00	1,39
	3	7,68	10	2	5,60	3,80	1,20	3,17	1,23
mar/10	1	8,92	9	3	7,22	3,33	1,67	1,99	1,30
	2	3,70	5	0	5,40	3,20	1,40	2,29	1,21
	3	10,15	9	0	8,22	4,87	1,67	2,92	1,01
mai/10	1	12,62	5	0	18,40	5,20	2,20	2,36	1,61
	2	6,31	7	0	6,57	3,86	1,43	2,70	1,19
	3	13,58	10	1	9,90	5,10	1,90	2,68	1,02
jul/10	1	13,44	7	3	14,00	5,00	2,43	2,06	1,15
	2	7,82	7	0	8,14	4,14	1,71	2,42	1,15
	3	14,95	10	0	10,90	5,10	2,10	2,43	1,02
set/10	1	14,81	8	1	13,50	4,13	2,40	1,72	1,36
	2	9,19	10	3	6,70	3,40	1,70	2,00	1,16
	3	16,46	11	1	10,90	4,82	2,00	2,41	1,13
nov/10	1	16,05	7	0	16,71	5,14	2,57	2,00	1,26
	2	10,01	9	1	8,11	3,67	1,78	2,06	1,24
	3	17,97	10	0	13,10	5,70	2,30	2,48	1,00
jan/11	1	17,56	7	0	18,29	4,29	3,14	1,37	1,36
	2	11,11	9	0	9,00	4,11	2,11	1,95	1,04
	3	19,89	10	0	14,50	6,20	2,40	2,58	0,97
mar/11	1	18,66	8	1	17,00	4,88	2,88	1,69	1,21
	2	11,25	8	1	10,25	3,88	2,38	1,63	1,11
	3	21,40	10	0	15,60	6,60	2,50	2,64	0,95
mai/11	1	20,16	6	0	24,50	6,67	3,17	2,10	1,16
	2	12,89	8	0	11,75	3,88	2,50	1,55	1,21
	3	22,77	12	0	13,83	5,92	2,42	2,45	0,97

PPD: porcentagem de plantas doentes; NF: número de focos; NFU: número de focos unitários; NMPF: número médio de plantas por foco; Ic: número de plantas doentes na maior coluna; If: número de plantas doentes na maior linha; IFF: índice de forma de focos; ICF: índice de compactação de focos.

No presente trabalho, a presença de múltiplos focos da doença dentro dos talhões pode estar relacionada ao desenvolvimento de estruturas de sobrevivência do patógeno. No passado, plantava-se cana-de-açúcar nessa mesma região, a qual é uma das plantas hospedeiras do patógeno.

A resinose foi responsável pela presença de grandes focos de agregação de plantas doentes (figura 1), indicando que plantas infestadas serviram como fontes para infecções subseqüentes (autoinfecções decorrentes da disseminação planta a planta) e que os inóculos secundários dos patógenos foram disseminados a curtas distâncias, seja pelo vetor *R. palmarum*, pelo homem ao manipular uma planta doente e posteriormente uma sadia ou mesmo pelo contato entre raízes adjacentes contaminadas. Dessa forma, torna-se necessário para a realização do manejo fitossanitário da resinose, o emprego de medidas que vise reduzir nas áreas de produção, tanto o inóculo inicial do patógeno (eliminação das plantas doentes, erradicação de plantas hospedeiras nas linhas e entrelinhas, etc.), quanto à taxa de progresso da resinose (pulverização com fungicida, controle de insetos vetores, etc.).

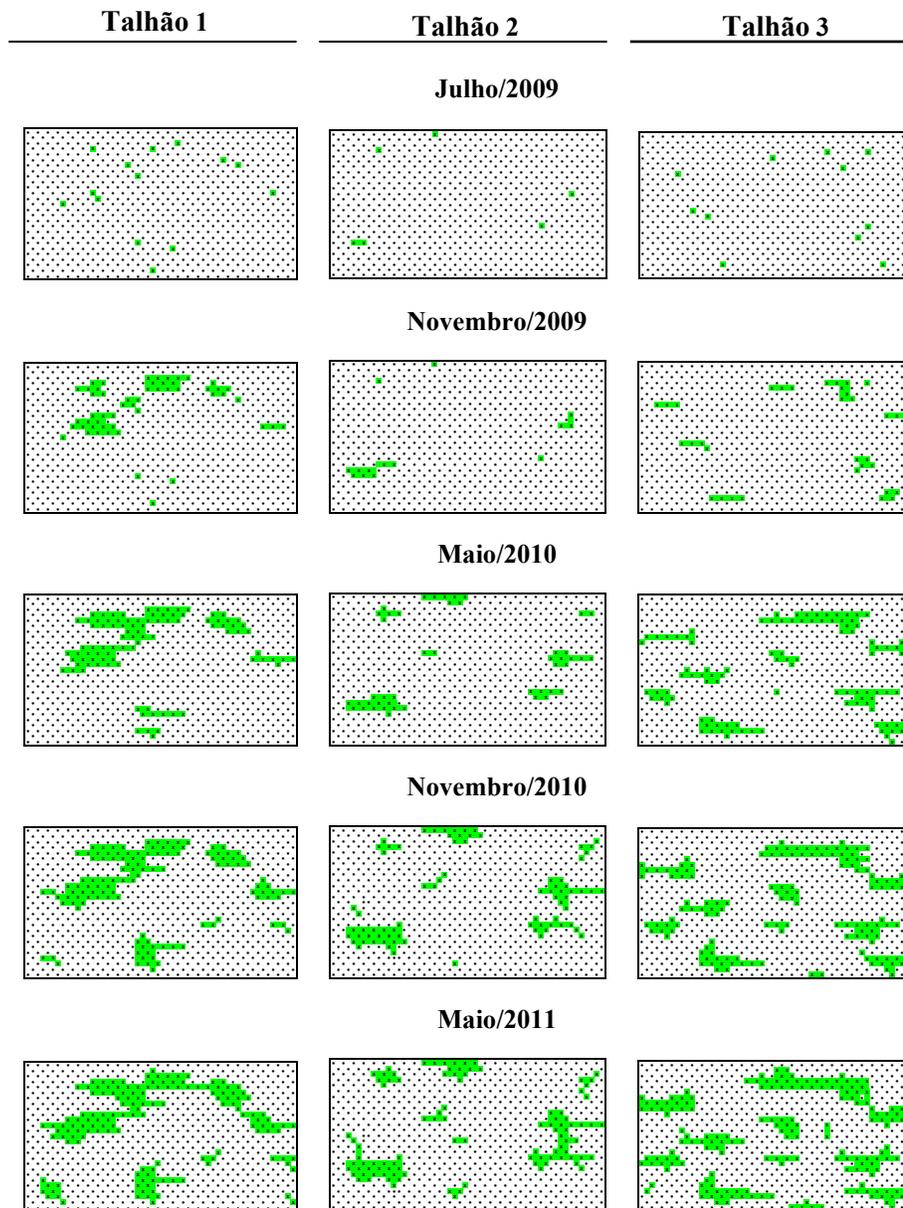


Figura 1 Focos da resinose do coqueiro, detectadas pela sintomatologia da incidência na região de Neópolis, Sergipe

4 CONCLUSÕES

O modelo Linear teve um melhor ajuste aos dados de incidência da resinose do coqueiro nos três talhões e representou bem a dinâmica temporal da doença durante o período experimental.

O padrão espacial da resinose no campo é agregado.

REFERÊNCIAS

BERGAMIN FILHO, A. Avaliação de danos e perdas. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 672-690.

BERGAMIN FILHO, A. et al. Análise espacial de epidemias. In: VALE, F. X. R.; JESUS JÚNIOR, W. C.; ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Perfil, 2004. p. 195-240.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: J. Wiley & Sons, 1990. 532 p.

FERREIRA, J. B.; ABREU, M. S.; PEREIRA, I. S. Análise da dinâmica e estrutura, estrutura de focos e arranjo espacial da mancha manteigosa em campo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 24-30, jan./fev. 2009.

JESUS JÚNIOR, W. C.; BASSANEZI, R. B. Análise da dinâmica e estrutura de focos da morte súbita dos citros. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 4, p. 399-405, jul./ago. 2004b.

LARANJEIRA, F. F.; BERGAMIM FILHO, A.; AMORIM, L. Dinâmica e estrutura de focos da clorose variegada dos citros (CVC). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 36-41, jan./mar.1998.

NELSON, S. C. A simple analysis of disease foci. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 86, n. 4, p. 332-339, Apr. 1996.

NUNES, W. M. C. et al. Dinâmica espacial de foco da clorose variegada dos citros (CVC) avaliada por meio da sintomatologia e serologia. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 5, p. 1215-1219, Oct. 2001.

WARWICK, D. R. N.; PASSOS, E. E. M. Outbreak of stem bleeding in coconuts caused by *Thielaviopsis paradoxa* in Sergipe, Brazil. **Tropical Plant Pathology**, Lavras, v. 34, n. 3, p. 175-177, jul./set. 2009.

CAPÍTULO 4

Atividade antifúngica *in vitro* dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *Lippia gracilis* e de suas principais subfrações no controle de *Thielaviopsis paradoxa*, agente causal da resinose do coqueiro

RESUMO

Nos últimos anos, a resinose do estipe do coqueiro causada pelo fungo *Thielaviopsis paradoxa*, tornou-se o principal problema na cultura do coqueiro. Como ainda não existe medida de controle eficaz para esta doença, objetivou-se avaliar o efeito dos óleos essenciais de *Lippia sidoides*, *Lippia gracilis* e de suas principais subfrações no controle *in vitro* de *T. paradoxa*. O crescimento micelial e o número de conídios do patógenos foram inibidos pelo óleo essencial de *Lippia sidoides* em todas as concentrações utilizadas (0,2; 0,5; 1,0 e 3,0 $\mu\text{L m}^{-1}$). A identificação dos constituintes químicos dos óleos essenciais mostra claramente a existência de dois componentes majoritários no gênero *Lippia*, sendo que o óleo de *L. sidoides* utilizado continha 42,33% de timol e 4,56% de carvacrol e o óleos de *L. gracilis* continha 10% de timol e 41,7% de carvacrol. O crescimento micelial e produção de conídios de *T. paradoxa* foram totalmente inibidos quando da utilização do timol nas concentrações de 0,3 e 0,5 $\mu\text{L m}^{-1}$. Os resultados sugerem que o timol, componente majoritário do óleo extraído de *L. sidoides*, poderia ser utilizado como um potencial fungicida no controle da resinose do coqueiro.

Palavras-chave: Coqueiro. *Thielaviopsis paradoxa*. Controle alternativo.

ABSTRACT

In recent years, the stem bleeding of coconut-tree caused by the fungus *Thielaviopsis paradoxa*, has become the main problem in the coconut crop. As yet there is no effective control measure for this disease, aimed to evaluate the effect of essential oils from *Lippia sidoides*, *Lippia gracilis* and its main subfractions in control *in vitro* of *T. paradoxa*. Mycelial growth and the number of conidia of the pathogens were inhibited by the essential oil of *Lippia sidoides* in all concentrations used (0,2; 0,5; 1,0 and 3,0 $\mu\text{L m}^{-1}$). The identification of chemical constituents of essential oils clearly shows the existence of two major components in the genus *Lippia*, and the oil of *L. sidoides* used contained 42,33% of thymol and 4,56% of carvacrol from oil of *L. gracilis* contained 10% of thymol and 41,7% of carvacrol. Mycelial growth and conidial production of *T. paradoxa* were completely inhibited when the use of thymol at concentrations of 0,3 and 0,5 $\mu\text{L m}^{-1}$. The results suggest that thymol, the major component of the oil extracted from *L. sidoides*, could be used as a potentially fungicide in control of stem bleeding of the coconut-tree.

Keywords: Coconut-tree. *Thielaviopsis paradoxa*. Alternative control.

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a cultura do coqueiro pode ser infectada por diversos patógenos causadores de inúmeras doenças. Entretanto, a resinose do coqueiro ou “*stem bleeding*”, causada pelo fungo *Thielaviopsis paradoxa* é o principal motivo de preocupação dentre produtores, pesquisadores e órgãos de pesquisa e fiscalização, devido a sua rápida disseminação e por ainda não existir nenhum método de controle da doença. Dentre os principais sintomas da doença, pode-se destacar o aparecimento de um líquido marrom-avermelhado que escorre através de rachaduras no tronco, que ao secar pode adquirir uma coloração avermelhada ou enegrecida; redução na frequência de emissão de folhas e no tamanho das mais novas; afinamento do tronco na região próxima à copa, sintoma observado com o progresso da doença; folhas amarelo-pardacentas frágeis e sujeitas à quebra (WARWICK; PASSOS, 2009).

A conscientização por parte da sociedade em todo o mundo dos problemas acarretados pela utilização dos agrotóxicos para o meio ambiente estimulou a busca por novas medidas de proteção das plantas contra doenças. Métodos alternativos de controle que possam ser utilizados de forma integrada para reduzir o impacto ambiental deixado dos produtos químicos (KNAAK; FIÚZA, 2010), beneficia tanto os produtores orgânicos, os quais não possuem muitas alternativas de produtos a serem utilizados, quanto à grande parcela de consumidores, que estão dispostos a pagar mais por alimentos livres de agrotóxicos.

Pesquisas desenvolvidas utilizando-se extratos brutos ou óleos essenciais obtidos de plantas medicinais têm mostrado ser de grande potencial no controle de fitopatógenos, tanto pela ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de

fitoalexinas, indicando a presença de compostos com características elicitoras (BASTOS; ALBUQUERQUE, 2004; BONALDO et al., 2004; CUNICO et al., 2002; KNAAK; FIÚZA, 2010; SALGADO et al., 2003; SCHWAN-ESTRADA et al., 2000; SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN, 2005; STANGARLIN et al., 1999). A exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleo essencial de plantas medicinais podem se constituir, ao lado da indução de resistência, em mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas (SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN, 2005).

A literatura tem registrado a eficiência de óleos essenciais obtidos de uma enorme gama de espécies botânicas em promover a inibição do desenvolvimento de vários fitopatógenos de natureza fúngica (BARRERA-NECHA; GARDUNO-PIZANA; GARCIA-BARRERA, 2009; KNAAK; FIÚZA, 2010; KORDALI et al., 2005; LEE et al., 2008; PITAROKILI et al., 2002) e como acaricida (CAVALCANTI et al., 2010). A atividade antimicrobiana desenvolvida por estes óleos tem sido atribuída a pequenos terpenoides e compostos fenólicos como timol, carvona, carvacrol, mentol e muroleno, que também na forma pura exibem atividade antifúngica (CONNER, 1993; SMID; KOEKEN; GORRIS, 1996).

A família Verbenaceae compreende cerca de 175 gêneros, sendo que dentre as 2300 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais, o taxon genérico *Lippia* é representado por aproximadamente 200 espécies. As espécies deste gênero são caracterizadas pela presença de óleos essenciais aromáticos com atividade antimicrobiana e pela presença de composto como timol e carvacrol. Souza Júnior, Sales e Martins (2009), utilizando o óleo essencial de *L. sidoides* no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* isolado de maracujazeiro amarelo, obteve 100% de inibição do crescimento micelial. Dessa forma, como

grande parte da flora brasileira ainda não foi estudada e os compostos secundários já isolados e com estrutura química determinada ainda não foram estudados em relação a sua atividade biológica, existe a necessidade de pesquisas mais avançadas que levem a descoberta de compostos químicos capazes de controlar o desenvolvimento de fitopatógenos.

Diante do exposto, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito direto do óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) e alecrim da chapada (*Lippia gracillis* Schauer) e suas principais subfrações sobre o crescimento micelial e a quantidade de esporos produzidos por *T. paradoxa*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Tabuleiros Costeiros e no Laboratório de Química da Universidade Federal de Sergipe.

2.1 Isolamento e manutenção do patógeno

O fungo *T. paradoxa* foi isolado de raízes secundárias e da estirpe de coqueiros que apresentavam os sintomas típicos de resinose. Essas raízes foram superficialmente desinfetadas com álcool 70% durante 30 segundos e enxaguados três vezes em água destilada estéril. Em seguida, estes pedaços de tecido foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) e posteriormente incubadas à temperatura de 22°C por 7 dias. Após esse período, discos de micélio do fungo foram retirados dos bordos das colônias e transferidos para outras placas contendo meio de BDA, de onde foram realizadas culturas monospóricas.

As colônias de *T. paradoxa* crescidas em tubos de ensaio contendo meio BDA foram cobertas com óleo mineral e mantidas a uma temperatura de 4°C.

2.2 Obtenção dos óleos essenciais

Os óleos foram extraídos de plantas de *L. sidoides* e *L. gracillis*, obtidas do Banco de Germoplasma da Universidade Federal de Sergipe (UFS). As folhas foram secas em estufa de secagem com ar forçado até massa constante. Posteriormente, foi adicionado 1L de água destilada em 100g das folhas previamente secas, de onde o óleo essencial foi extraído pelo método de hidrodestilação com destilador tipo Clevenger (GUENTHER, 1972), acoplado a um balão de vidro (3L), durante 160 minutos. O óleo essencial foi retirado com o auxílio de uma micropipeta e acondicionado em frasco de vidro âmbar envolto com papel alumínio, mantendo-o sobre refrigeração.

2.3 Potencial antifúngico dos óleos essenciais

Foram utilizadas as concentrações de 0,2; 0,5; 1,0 e 3,0 $\mu\text{L mL}^{-1}$ dos óleos essenciais de *L. sidoides* e *L. gracilis* em meio de cultura BDA. A testemunha consistiu do disco do fungo cultivado em meio BDA. Para cada tratamento foram empregadas três repetições.

Desta forma, o óleo essencial das plantas foi primeiramente adicionado ao meio BDA fundente com temperatura máxima de 45°C, e em seguida vertido em placas de Petri de 9cm de diâmetro. Cada placa foi inoculada, no centro, com um disco de 5mm de diâmetro, contendo micélios da cultura monospórica. As placas foram incubadas à temperatura de 28°C sob fotoperíodo de 12h. As avaliações foram realizadas diariamente, através de medições do diâmetro das colônias em dois eixos ortogonais (média das duas medições diametricamente

opostas), iniciando-se 24 h após o preparo das placas e sempre no mesmo horário, até que um dos tratamentos atingisse o diâmetro total da placa de Petri.

Foram realizadas avaliações, calculando-se a porcentagem de inibição do crescimento do fungo dos tratamentos em relação à testemunha, utilizando-se a fórmula:

$$\text{PIC} = \frac{(\text{diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento})}{\text{diâmetro da testemunha}} \times 100$$

Os dados obtidos nesse estudo foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

2.4 Produção de conídios

Para cada placa foram adicionados 10 mL de água destilada mais Tween20 a 1%. A superfície da colônia foi raspada com auxílio da alça de Drigalski. Os esporos de cada placa foram filtrados em gazes e suspensos em 100 mL de água. Para cada suspensão de esporos, três alíquotas de 0,1 mL foram transferidas, separadamente, para uma câmara de Newbawer, onde se procedeu à contagem de esporos através do microscópio óptico. Os dados médios das três contagens foram transformados em número de conídios por (cm²) de colônia, considerando-se a quantidade de conídios produzidos na área tomada pela colônia em cada placa.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

2.5 Cromatografia Gasosa- Espectrometria de Massas (CG-EM)

A análise qualitativa da composição química do óleo essencial foi realizada em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas CG-EM (Shimadzu, modelo QP 5050A), equipado com um autoinjeter AOC-20i (Shimadzu) e coluna capilar de sílica fundida DB-5MS (5%-phenyl-95%-dimethylpolysiloxane) de 30 m x 0,25 mm i.d., 0,25 µm de filme, usando He como gás de arraste com fluxo de 1,2 mL/min., a temperatura foi programada mantendo 50°C por 1.5 min., seguido de um aumento de 4°C/min. até atingir 200 °C, depois a 10°C até atingir 280°C mantendo constante esta temperatura por 5 min.; temperatura do injetor de 250°C e temperatura do detector (ou interface) de 280°C; foi injetado um volume de 0,5 µL em acetato de etila; taxa de partição do volume injetado de 1:83 e pressão na coluna de 64.20 kPa. As condições do EM foram: detector de captura iônica operando por impacto eletrônico e energia de impacto de 70 eV; velocidade de varredura 1.000; intervalo de varredura de 0,50 fragmentos/s e fragmentos detectados na faixa de 40 a 500 Da.

2.6 Cromatografia Gasosa- Ionização de chamas (CG-DIC)

As análises quantitativas dos constituintes foram realizadas em um cromatógrafo gasoso equipado com detector de ionização de chamas (DIC), usando um equipamento Shimadzu GC-17A, sob as seguintes condições operacionais: coluna capilar de sílica fundida ZB-5MS (5% dimethylpolysiloxane) com 30 m x 0.25 mm i.d. x 0.25 µm de filme, usando as mesmas condições do CG-EM. A quantificação dos constituintes foi realizada pela normatização da área (%). As concentrações dos compostos foram calculadas pela área e colocados em ordem de eluição do CG.

2.7 Identificação dos constituintes do óleo

Os componentes do óleo foram identificados através da comparação de seu espectro de massas com espectros existentes na literatura (ADAMS, 2007) com espectros do banco de dados (NIST21 e NIST107) do equipamento e, também, pela comparação dos índices de retenção com aqueles da literatura. Os índices de retenção relativos (IRR) foram determinados utilizando uma série homóloga de *n*-alcanos (C9-C19) injetados nas mesmas condições cromatográficas das amostras, utilizando a equação de Van den Dool e Kratz (1963).

2.8 Potencial antifúngico das principais subfrações do óleo essencial

O potencial antifúngico das principais subfrações do óleo essencial de *L. sidoides*, foi avaliado nas concentrações de 0,05, 0,1, 0,2, 0,3 e 0,5 $\mu\text{L mL}^{-1}$ utilizando-se a mesma metodologia descrita no teste com os óleos essenciais.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as concentrações utilizadas dos óleos essenciais de *L. sidoides* inibiram completamente o desenvolvimento do patógeno *T. paradoxa*, correspondendo a uma porcentagem de inibição do crescimento micelial de 100% (Tabela 1). Oliveira et al. (2008), ao avaliarem o controle do crescimento micelial de alguns fungos contaminantes de laboratório utilizando óleos essenciais de *L. sidoides*, *L. gracilis* e do fungicida Carbendazin, concluíram que o óleo de *L. sidoides* e o Carbendazin mostraram-se eficientes na inibição do crescimento micelial de todos os fungos avaliados.

No presente estudo não houve inibição do crescimento micelial pelo óleo essencial de *L. gracilis* (Tabela 1). Entretanto, existe na literatura um grande número de trabalhos relatando o efeito fungitóxico de *L. gracilis* sobre diferentes patógenos. Estudos realizados *in vitro* por Albuquerque et al. (2006), avaliando a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Lippia gracilis* sobre fungos contaminantes de laboratórios mostraram que *Geotrichum candidum*; *Trichoderma viride*; *Torula herbarum*; *Paecilomyces* sp.; *P. aeruginens*; *Aspergillus nidulans*; *A. flavus*; *Fusiococcum* sp. foram inibidos totalmente pela concentração mínima de 420 ppm do óleo bruto.

Grande número de esporos foi produzido pelo patógeno quando da utilização do óleo de *L. gracilis*, sendo que a concentração de $1\mu\text{L mL}^{-1}$ levou a produção do maior número ($9,7 \times 10^5$ esporos. mL^{-1}), aproximando-se do número de esporos produzidos pelo patógeno na testemunha ($1,0 \times 10^6$ esporos. mL^{-1}) (Tabela 1).

Apesar de os mecanismos de ação dos óleos essenciais estarem pouco caracterizados, provavelmente estão associados ao caráter lipofílico dos compostos, havendo um acúmulo em membranas e perda de energia pelas células microbianas (CONNER, 1993; SIKKEMA; BONT; POOLMAN, 1995). De acordo com Piper et al. (2001), determinados terpenos presentes nos óleos essenciais são capazes de tornarem a membrana celular do fungo permeável, causando o vazamento de seu conteúdo.

Tabela 1 Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) e número de conídios (NC) produzidos por *Thielaviopsis paradoxa* sob diferentes concentrações de óleos essenciais oriundos de diferentes espécies vegetais

Óleos Essenciais	Concentração ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	PIC	NC (esporos. mL^{-1})
<i>Lippia sidoides</i>	0,2	100 a	0 a
<i>Lippia sidoides</i>	0,5	100 a	0 a
<i>Lippia sidoides</i>	1,0	100 a	0 a
<i>Lippia sidoides</i>	3,0	100 a	0 a
<i>Lippia gracilis</i>	0,2	0 b	$9,2 \times 10^5$ c
<i>Lippia gracilis</i>	0,5	0 b	$8,9 \times 10^5$ c
<i>Lippia gracilis</i>	1,0	0 b	$9,7 \times 10^5$ d
<i>Lippia gracilis</i>	3,0	0 b	$7,9 \times 10^5$ b
Testemunha (BDA)	0,0	0 b	$1,0 \times 10^6$ d
Média Geral		44,65	$5,1 \times 10^6$
CV (%)		1,46	$9,1 \times 10^5$

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

Através da identificação dos constituintes químicos, presente nos óleos essenciais ficou claro a existência de dois componentes químicos majoritários no gênero *Lippia*, o timol e o carvacrol. O óleo de *L. sidoides* utilizado continha 42,33% de timol e 4,56% de carvacrol e o óleo essencial de *L. gracilis* apresentou 18% de timol e 27,59% de carvacrol (Tabela 2). Albuquerque (2006) encontrou no óleo de *L. gracilis*, 10% de timol e 41,7% de carvacrol.

Nogueira, Diaz e sakumo (2007) observaram maior produção de óleo essencial de *Lippia alba* quando colhidas na primavera (0,54 %) e no verão (0,38 %). Estas variações observadas na constituição química dos óleos essenciais podem ser atribuídas aos fatores ambientais, como a influência do clima e solo sobre as plantas analisadas, época de colheita, bem como pela ocorrência de diferentes tipos químicos (quimiotipos) de plantas.

Inúmeros trabalhos são encontrados na literatura envolvendo os constituintes químicos dos óleos essenciais no controle de fitopatógenos. Chang

et al. (2008) ao estudarem a atividade antifúngica do óleo essencial de *Calocedrus macrolepis* var. *formosana* e de seus constituintes químicos, mostraram que os compostos τ -muurolol e α -cadinol possuem atividade antifúngica contra um amplo espectro de fungos fitopatogênicos. Da mesma forma, Faria et al. (2006) também mostraram que o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* e o seu principal componente químico, o eugenol inibiu o crescimento de diversos fungos, incluindo os fitopatógenos *Botryosphaeria rhodina*, *Rhizoctonia* sp. e *Alternaria* sp.

Resultados promissores foram obtidos na avaliação do potencial antifúngico das principais subfrações do óleo essencial de *Lippia sidoides*. A concentração de $0,3\mu\text{L mL}^{-1}$ de timol foi responsável por 100% de inibição do crescimento micelial e pela ausência de conídios de *T. paradoxa* em meio de cultura BDA. Entretanto, mesmo em altas concentrações no óleo, os compostos carvacrol (4,56%), p-cimeno (11,97%), 1,8 cineol (3,8%), α -terpineno (5,44%) e β -cariofileno (11,03%) não foram capazes de controlar o patógeno *in vitro* nas concentrações utilizadas (tabela 3).

Tabela 2 Porcentagem dos constituintes químicos dos óleos essenciais obtidos das folhas de *Lippia sidoides* e *Lippia gracilis*

RI	Composto	<i>Lippia sidoides</i> (%)	<i>Lippia gracilis</i> (%)
930	α -tujeno	0.97	1.19
939	α -pineno	0.57	0.50
954	canfeno	0,27	-
979	β -pineno	0.30	0.19
990	mirceno	2.85	3.14
1002	α -felandreno	-	0,19
1017	α -erpineno	-	2,41
1017	α -terpineno	1,38	
1024	p -cimeno	11.97	16.24
1029	limoneno	0.42	0.41
1031	1,8 cineol	3.80	2.78
1059	γ -terpineno	5.44	12.13
1096	linalool	0.51	0.53
1096	borneol	0,37	
1177	Terpin-4-ol	0.74	0.75
1188	α -terpineol	0.39	0.24
1235	metil timol	9.35	6.06
1290	timol	42.33	18.00
1299	carvacrol	4.56	27.59
1419	β -cariofileno	11.03	5.15
1434	α -trans-bergamoteno	0.25	0.23
1441	aromadrendeno	0.40	0.24
1454	α -humuleno	0.58	0.35
1496	viridifloreno	0.51	0.28
1578	espatulenol	-	0.30
1583	óxido de cariofileno	0.74	0.67
1592	viridiflorol	0.24	0.19

RI: índice de retenção relativo, calculado pela equação de Van den dool. %: Porcentagem de compostos. Compostos listados nesta tabela em ordem crescente de eluição em coluna DB-5MS.

Tabela 3 Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) e número de conídios (NC) produzidos por *Thielaviopsis paradoxa* sob diferentes concentrações dos compostos químicos, timol e carvacrol

Compostos químicos	Concentração ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	PIC (%)		NC (esporos. mL^{-1})	
Timol	0,05	31,95	d	$1,86 \times 10^5$	b
Timol	0,10	75,28	c	$5,44 \times 10^5$	a
Timol	0,20	89,72	b	$3,38 \times 10^5$	a
Timol	0,30	100,00	a	0,00	a
Timol	0,50	100,00	a	0,00	a
Carvacrol	0,05	0,00	e	$6,78 \times 10^6$	d
Carvacrol	0,10	0,00	e	$7,53 \times 10^6$	d
Carvacrol	0,20	0,00	e	$5,48 \times 10^6$	c
Carvacrol	0,30	0,00	e	$5,72 \times 10^6$	c
Carvacrol	0,50	0,00	e	$5,06 \times 10^6$	c
p- cimeno	0,05	0,00	e	$5,79 \times 10^6$	c
p- cimeno	0,10	0,00	e	$6,94 \times 10^6$	d
p- cimeno	0,20	0,00	e	$6,23 \times 10^6$	c
p- cimeno	0,30	0,00	e	$5,81 \times 10^6$	c
p- cimeno	0,50	0,00	e	$6,01 \times 10^6$	c
1,8 cineol	0,05	0,00	e	$5,86 \times 10^6$	c
1,8 cineol	0,10	0,00	e	$6,25 \times 10^6$	c
1,8 cineol	0,20	0,00	e	$6,71 \times 10^6$	d
1,8 cineol	0,30	0,00	e	$7,01 \times 10^6$	d
1,8 cineol	0,50	0,00	e	$8,01 \times 10^6$	d
α -terpineno	0,05	0,00	e	$6,66 \times 10^6$	d
α -terpineno	0,10	0,00	e	$7,21 \times 10^6$	d
α -terpineno	0,20	0,00	e	$7,53 \times 10^6$	d
α -terpineno	0,30	0,00	e	$7,11 \times 10^6$	d
α -terpineno	0,50	0,00	e	$6,67 \times 10^6$	d
β -cariofileno	0,05	0,00	e	$6,15 \times 10^6$	c
β -cariofileno	0,10	0,00	e	$6,08 \times 10^6$	c
β -cariofileno	0,20	0,00	e	$7,28 \times 10^6$	d
β -cariofileno	0,30	0,00	e	$5,48 \times 10^6$	c
β -cariofileno	0,50	0,00	e	$5,74 \times 10^6$	c
Testemunha	-	0,00	e	$7,84 \times 10^6$	d
CV (%)		2,64		25,67	

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

Os resultados indicam que tanto o óleo essencial de *L. sidoides* na concentração de $0,2\mu\text{L mL}^{-1}$, quanto de seu componente majoritário, o timol na concentração de $0,3\mu\text{L mL}^{-1}$ foram eficientes no controle *in vitro* de *T. Paradoxa*. Entretanto, apesar dos compostos p-cimeno, 1,8 cineol, α -terpineno e β -cariofileno não terem controlado o patógeno quando testados isoladamente, eles e outros compostos podem estar atuando em sinergia, uma vez que a concentração de timol necessária para controlar o fungo, foi maior que a do óleo essencial de *L. sidoides*.

4 CONCLUSÃO

O óleo essencial de *Lippia sidoides* na concentração de $0,2\mu\text{L mL}^{-1}$ e timol na concentração de $0,3\mu\text{L mL}^{-1}$ são eficientes no controle *in vitro* de *Thielaviopsis paradoxa*.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy**. Illinois: Allured, 2007. 804 p.
- ALBUQUERQUE, C. C. et al. Antimicrobial action of the essential oil of *Lippia gracillis* Schauer. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 49, n. 3, p. 527-535, July/Sept. 2006.
- BARRERA-NECHA L. L.; GARDUNO-PIZANA C.; GARCIA-BARRERA L.J. *In vitro* antifungal activity of essential oils and their compounds on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Gladioli* (Massey) snyder and hansen. **Plant Pathology Journal**, Pakistan, v. 8, n. 1, p. 17-21, 2009.
- BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B.; Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pos-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 555-557, set./out. 2004.
- BONALDO, S. M. et al. A fungitoxidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 128-134, mar./abr. 2004.
- CAVALCANTI, S. C. H. et al. Composition and acaricidal activity of *Lippia sidoides* essential oil against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch). **Bioresource Technology**, Newark, v. 101, n. 2, p. 829–832, Jan. 2010.
- CHANG, H. et al. Antifungal activity of essential oil and its constituents from *Calocedrus macrolepis* var. *formosana* Florin leaf against plant pathogenic fungi. **Bioresource Technology**, Newark, v. 99, n. 14, p. 6266-6270, Sept. 2008.
- CONNER, D. E. Naturally occurring compounds. In: DAVIDSON; P. M.; BRANEM, A. L. **Antimicrobials and foods**. New York: M. Dekker, 1993. p. 441-68.
- CUNICO, M. M. et al. Contribuição ao estudo da atividade antifúngica de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., Celastraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Maringá, v. 12, n. 2, p. 69-73, abr./maio 2002.

FARIA, T. J. et al. Antifungal activity of essential oil isolated from *Ocimum gratissimum* L. (eugenol chemotype) against Phytopathogenic Fungi. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 49, n. 2, p. 867-871, June 2006.

GUENTHER, E. **The essential oils**. Malabar: Krieger, 1972. p. 427-433.

KNAAK, N.; FIUZA, L. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and Conservation**, São Leopoldo, v. 5, n. 2, p. 120-132, maio/ago. 2010.

KORDALI, S. et al. Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential oils from three Turkish *Artemisia* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 5, p. 1408-1416, Mar. 2005

LEE, Y.S. et al. Antifungal activity of Myrtaceae essential oils and their components against three phytopathogenic fungi. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 23, n. 1, p. 23–28, Jan. 2008.

NOGUEIRA, M. A.; DIAZ, G.; SAKUMO, L. Caracterização química e atividade biológica do óleo essencial de *Lippia alba* cultivada no Paraná. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 28, n. 3, p. 273-278, jul./set. 2007 .

OLIVEIRA, O. R. et al. Efeito de óleos essenciais de plantas do gênero *Lippia* sobre fungos contaminantes encontrados na micropropagação de plantas. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v. 39, n. 1, p. 94-100, jan./mar. 2008.

PIPER, P. et al. Weak acid adaptation: the stress response that confers resistance to organic acid food preservatives. **Microbiology**, Washington, v.147, n.10, p. 2635-2642, Oct. 2001.

PITAROKILI, D. et al. Composition and antifungal activity on soil-borne pathogens of the essential oil of *Salvia sclarea* from Greece. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 23, p. 6688-6691, Apr. 2002.

SALGADO, A. P. S. P. et al. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e

Bipolaris sorokiniana. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 249-254, mar./abr. 2003.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Floresta**, Curitiba, v. 30, n. 2, p. 129-137, mar. 2000.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S. et al. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 125-132.

SIKKEMA, J.; BONT, J. A. M.; POOLMAN, B. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Amsterdam, v. 59, n. 2, p. 201-222, Feb. 1995.

SMID, E. J.; KOEKEN, J. P. G.; GORRIS, L. G. M. Fungicidal and fungistatic action of the secondary plant metabolites cinnamaldehyde and carvone. In: LYR, H.; RUSSEL, P. E.; SISLER, H. D. (Ed.), **modern fungicides and antimicrobial compounds**. Andover: Intercept, 1996. p. 173-180.

SOUZA JÚNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Biotemas**, Florianópolis, v. 22, n. 3, p. 77-83, jul./set. 2009.

STANGARLIN, J. R. et al. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 2, n. 11, p. 16- 21, nov. 1999.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of chromatography**, Amsterdam, v. 11, p. 463-471, 1963.

WARWICK, D. R. N.; PASSOS, E. E. M. Ataque de resinose do coqueiro causada por *Thielavopsis paradoxa* em Sergipe, Brasil. **Tropical Plant Pathology**, Lavras, v. 34, n. 3, p. 175-177, jul./set. 2009.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A resinose do coqueiro, doença letal com o aumento da severidade da doença, tem levando a perdas imensuráveis à cultura do coqueiro desde sua detecção em 2004. Até o presente momento, inúmeras tentativas de controle foram realizadas sem lograr êxito. Entretanto, para que estratégias eficientes de controle sejam estabelecidas, é necessário um maior conhecimento do patossistema. O presente trabalho corroborou neste sentido, dando um pontapé inicial aos questionamentos. Ficou comprovada a atuação do coleóptero *R. palmarum* como vetor da resinose. Aspectos epidemiológicos da doença foram desvendados, como o conhecimento das quantidades inicial e final da doença no campo; a taxa de progresso da doença; da caracterização do arranjo espacial da resinose no campo e da relação estabelecida entre fatores ambientais e quantidade da doença. Ademais, foi verificada a eficiência do óleo essencial de *L. sidoides* na concentração de $0,2\mu\text{L mL}^{-1}$ e seu composto químico majoritário, o timol, na concentração de $0,3\mu\text{L mL}^{-1}$ no controle *in vitro* do fungo *T. paradoxa*. Apesar dos resultados promissores, faz-se necessário a realização de novos trabalhos com o objetivo de verificar o comportamento do óleo essencial de *L. sidoides* e do Timol no controle *in vivo* do patógeno; estudos *in vitro* e *in vivo* a cerca das condições climáticas (temperatura, umidade, fotoperíodo) favoráveis ao desenvolvimento do fungo *T. paradoxa*; estudos relacionando a nutrição mineral com a incidência da doença, dentre outros trabalhos.