

Formação de Coleção Biológica de *Thielaviopsis paradoxa* e Determinação da Patogenicidade e Virulência dos Isolados em Coqueiro

Isis Melo Dias¹, Viviane Talamini², Luan Silva da Cruz³, Aijalon de Souza Santos⁴
Leandro Eugenio Cardamone Diniz⁵

Resumo

O coqueiro é uma das plantas cultivadas de maior importância no mundo, sendo a sua produção afetada por inúmeros fatores, inclusive doenças. A resinose do coqueiro é uma das principais doenças que afeta esta cultura e tem como agente etiológico o fungo *Thielaviopsis paradoxa*. Este fungo tem alta capacidade de sobrevivência no solo e também já foi detectado em coleópteros como o *Rhynchophorus palmarum*. Os objetivos deste trabalho foram inserir isolados do fungo *T. paradoxa* à coleção biológica da Embrapa Tabuleiros Costeiros e analisar a patogenicidade e a virulência de isolados do fungo. Para tanto vinte e três isolados de *T. paradoxa* foram isolados a partir de diferentes fontes e inseridos à coleção biológica deste fungo. Para os testes de patogenicidade e virulência foi realizada a repicagem destes isolados para placas de petri contendo meio BDA. Após cinco dias de incubação em câmara BOD a 25°C, foram retirados discos das placas para a inoculação em ferimentos na râquis de coqueiros com aproximadamente três anos de cultivo. Para a testemunha os discos continham apenas o meio BDA. Após 14 dias foi avaliada a presença ou ausência de sintomas para determinação da patogenicidade dos isolados e determinou-se o tamanho das lesões para a avaliação da virulência. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística

¹ Estudante de Engenharia Florestal, Bolsista PIBIC FAPITEC/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, isis.md@hotmail.com.

² Engenheira-agrônoma, doutora em Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, viviane.talamini@embrapa.br.

³ Estudante de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, Sergipe, luan_silva261@hotmail.com.

⁴ Estudante de Engenharia Florestal, Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, Sergipe, aijalonsousa@gmail.com.

⁵ Biólogo, doutor em Genética e Melhoramento, pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, Sergipe, leandro.diniz@embrapa.br.

através do teste de Skott-Knott a 5% de significância. Todos os isolados de *Thielaviopsis paradoxa* testados causaram lesões necróticas nos coqueiros demonstrando patogenicidade. E dos 23 isolados testados 10 deles causaram as maiores lesões na rãquis dos coqueiros demonstrando maior virulência em relação aos demais.

Palavras-chave: inoculação, resinose, patogenicidade, virulência.

Introdução

O coqueiro, *Cocos nucifera* L., é tido como uma das plantas cultivadas de maior importância no mundo, especialmente em algumas regiões, onde se constitui na principal fonte alimentar e de renda para a população (FERREIRA, 2009). Pelo menos 50% da produção são destinados à alimentação humana nas formas de água de coco, coco ralado, leite de coco e etc. Além disso, as raízes, caule, palmito, folhas, fibras e pó de fibras podem ser utilizados para produção de esteios, pisos e revestimentos para móveis, esteiras, tapetes, balaios, peneiras, escovas, óleo, ácido láurico, farinhas e farelo para alimentação animal, e substratos para produção de mudas (SANTOS, 2009). Diversos fatores afetam negativamente a produção do coqueiro e, dentre eles, destaca-se a ocorrência de doenças. No Brasil, as condições ambientais das regiões de cultivo do coqueiro são muito variáveis e isto pode provocar a maior severidade de determinadas doenças e a ocorrência de doenças. Em fevereiro de 2004, na localidade “Platô de Neópolis”, Sergipe, Brasil, cerca de 50 plantas foram observadas apresentando sintomas de uma doença ainda não registrada no Brasil (WARWICK et.al., 2004). Pela sintomatologia observada, a doença foi denominada resinose.

A resinose é uma doença causada pelo fungo *Thielaviopsis paradoxa*, anamorfo do ascomiceto *Ceratocystis paradoxa*. *T. paradoxa* sobrevive nos restos de cultura em decomposição e tem capacidade de sobreviver por longos períodos no solo por meio da formação de estruturas de resistência denominadas clamidósporos. Este fungo pode causar infecção através de ferimentos e das fissuras naturais de crescimento do estipe (NELSON, 2005).

Entre as estratégias de controle da doença, a resistência genética é extremamente eficaz, pela redução dos custos de produção e menor impacto ambiental. Entretanto, pouco se conhece sobre a variabilidade deste patógeno,

principalmente no Brasil onde esta doença está causando grandes danos à cultura. Para a identificação de fontes de resistência à resinose, torna-se imprescindível o conhecimento da estrutura populacional do patógeno, bem como o seu constante monitoramento. Assim, informações sobre a patogenicidade e virulência de *T. paradoxa* podem ser úteis para futuros trabalhos de melhoramento da cultura do coqueiro para resistência à resinose.

O presente trabalho teve como objetivos obter isolados de *T. paradoxa* a partir de diferentes fontes e inseri-los na coleção biológica da Embrapa Tabuleiros Costeiros e analisar a patogenicidade e a virulência dos isolados obtidos.

Material e Métodos

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Tabuleiros Costeiros, localizada no município de Aracaju – SE. A partir de diversos substratos como insetos (*Rhynchophorus palmarum* e *Matemasius hemipterus*), estipe do coqueiro (*Cocos nucifera*) com lesões da resinose, frutos, ráquis e da espécie palmeira azul (*Bismarckia nobilis*) foram obtidos 23 isolados em cultura pura do fungo *T. paradoxa*. A partir daí estes foram inseridos na coleção biológica do fungo mantida na Embrapa Tabuleiros Costeiros. Estes isolados são armazenados pelo método Castellani.

Tabela 1. Relação dos isolados de *Thielaviopsis paradoxa* inseridos na Coleção Biológica da Embrapa Tabuleiros Costeiros e utilizados no experimento.

Isolado	Fonte da inoculação	Local de origem
TC 17	<i>Rhynchophorus palmarum</i> 6	Caípe Velho, São Cristóvão, SE
TC 18	<i>Rhynchophorus palmarum</i> 1	Platô de Neópolis, SE
TC 19	<i>Rhynchophorus palmarum</i> 2	Platô de Neópolis, SE
TC 20	<i>Rhynchophorus palmarum</i> 3	Platô de Neópolis, SE
TC 21	<i>Rhynchophorus palmarum</i> 4	Platô de Neópolis, SE
TC 22	<i>Rhynchophorus palmarum</i> 5	Platô de Neópolis, SE
TC 23	Estipe do coqueiro	Piaçabuçu, SE
TC 24	<i>Matemasius hemipterus</i> 1	Platô de Neópolis, SE
TC 25	<i>Matemasius hemipterus</i> 2	Platô de Neópolis, SE
TC 26	<i>Matemasius hemipterus</i> 3	Platô de Neópolis, SE
TC 27	Estipe do coqueiro	Platô de Neópolis, SE
TC 28	Ráquis do coqueiro	Baixada Fluminense, RJ
TC 29	Estipe do coqueiro	Baixada Fluminense, RJ
TC 30	Fruto do coqueiro	Baixada Fluminense, RJ
TC 31	Fibra do coco	Baixada Fluminense, RJ
TC 32	Ráquis do coqueiro	Baixada Fluminense, RJ
TC 33	Estipe do coqueiro	Baixada Fluminense, RJ
TC 34	Estipe do coqueiro	Conde, BA
TC 35	Ráquis da palmeira azul	Caípe Velho, São Cristóvão, SE
TC 36	Raiz da palmeira azul	Caípe Velho, São Cristóvão, SE
TC 37	Cacho do coqueiro	Baixada Fluminense, RJ
TC 38	Fruto do coqueiro	Baixada Fluminense, RJ
TC 39	Estipe do coqueiro	Baixada Fluminense, RJ

Para a realização do teste de patogenicidade e virulência em coqueiros foi realizada a repicagem de cada um dos 23 isolados para placas de petri contendo meio BDA (batata, dextrose, ágar). Após cinco dias de incubação em câmara BOD a 25°C, foram retirados discos (0,57 mm) das placas contendo micélio e conídios do fungo que foram posteriormente utilizados para a inoculação. A inoculação foi realizada nas ráquis de coqueiros presentes na área da Embrapa Tabuleiros Costeiros e os isolados foram divididos em dois experimentos que seguiram o delineamento inteiramente ao acaso com duas repetições. No primeiro experimento foram inoculados 17 isolados mais a testemunha, totalizando 18 tratamentos, e no segundo seis isolados mais a

testemunha, totalizando sete tratamentos.

Para a inoculação foram realizados fermentos superficiais utilizando furador de rolha da mesma dimensão do disco de micélio nas ráquis. Em seguida, com auxílio de uma pinça, o disco de BDA com o crescimento fúngico foi colocado em contato com o fermento nas ráquis. Sobre o disco colocou-se algodão esterilizado umedecido com água destilada esterilizada e plástico filme, que foi retirado após 48 horas. Para cada isolado foram feitas duas repetições. Foi realizado o mesmo procedimento para testemunha, porém os discos continham apenas o meio BDA, sem o fungo *Thielaviopsis paradoxa*.

Aos 14 dias após a inoculação avaliou-se, a presença ou ausência de sintomas para determinação da patogenicidade dos isolados. Já para a avaliação da virulência, foi determinado o tamanho das lesões, com o auxílio de uma fita métrica, medindo-se as lesões nos eixos vertical e horizontal, com posterior cálculo da área da lesão.

As análises estatísticas foram realizadas através do programa Sisvar e os dados obtidos foram submetidos ao teste de Scott-Knott a 5%. Para análise, os dados foram transformados utilizando-se raiz quadrada.

Resultados e Discussão

Após 14 dias de inoculação, todos os isolados de *T. paradoxa* inoculados causaram lesões necróticas nas ráquis do coqueiro (Figura 1).

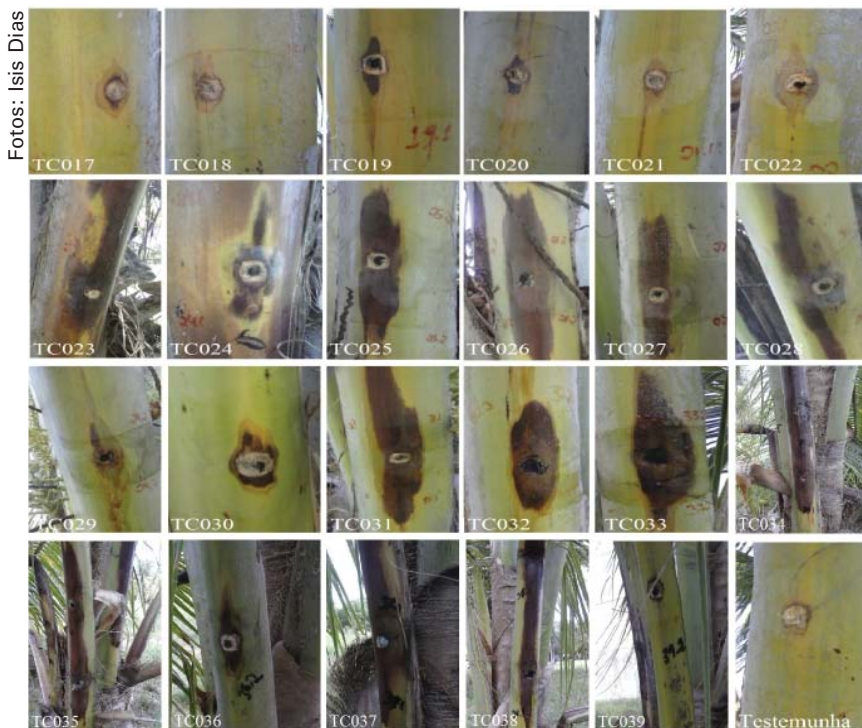


Figura 1. Lesões necróticas nas ráquis de coqueiro visualizadas 14 dias após a inoculação de 23 isolados de *Thielaviopsis paradoxa* mais a testemunha sem a presença do fungo. Aracaju, Sergipe.

Além de causar as lesões necróticas, a inoculação dos isolados TC 029, TC 032 e TC 033, provenientes de coqueiros, também causaram a exsudação da seiva nos ferimentos dos coqueiros (Figura 2).

Os isolados TC 023, TC 024, TC 025, TC 026, e TC 028 causaram seca total das ráquis onde estes foram inoculados. Ocorreu quebra das ráquis nos os isolados TC 035, TC 037 e TC 038. Estes isolados são provenientes da palmeira azul, cacho e fruto de coqueiro, respectivamente.

Fotos: Isis Dias



Figura 2. Exsudação da seiva em ráquis de coqueiro causada por *Thielaviopsis paradoxa*, 14 dias após a inoculação. Aracaju, Sergipe.

Os isolados TC 023, TC 025, TC 026, TC 028, TC 031, TC 033, apresentaram maior virulência no primeiro experimento promovendo as maiores áreas de lesões necróticas e diferiram estatisticamente dos demais (Figura 3). Esses isolados são provenientes tanto de coqueiros quanto de insetos. Embora com áreas da lesão maiores em valor numérico, os demais isolados foram estatisticamente iguais à testemunha.

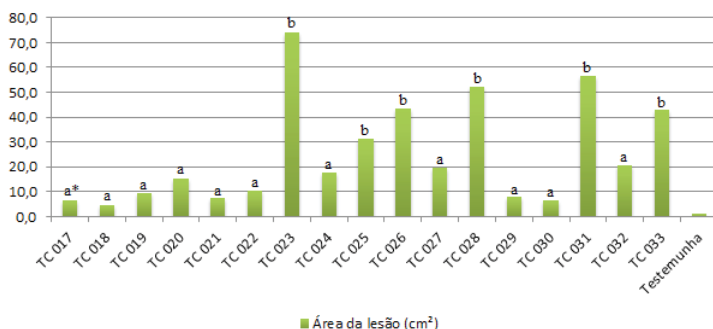


Figura 3. Médias das lesões necróticas desenvolvidas nas ráquis dos coqueiros 14 dias após a inoculação dos isolados de *Thielaviopsis paradoxa* e a testemunha. * Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade (CV: 18,54%).

No segundo experimento os isolados TC 036 e TC 039 apresentaram virulência semelhante à testemunha de acordo com as análises realizadas (Figura 4). Os isolados TC 034, TC 035, TC 037 e TC 038 foram os mais virulentos em relação aos demais. Ressalta-se que os isolados TC 035, TC 037 e TC 038 causaram quebra das ráquis onde estes foram inoculados.

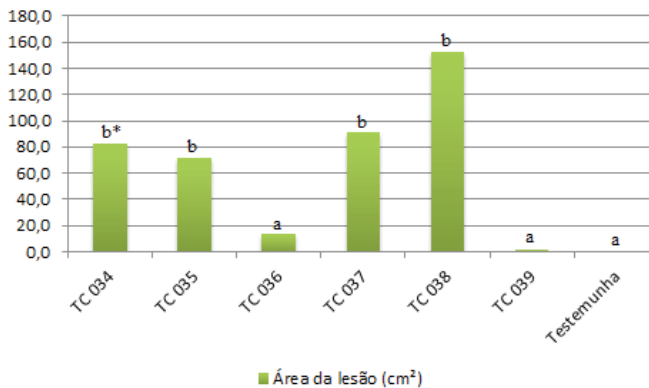


Figura 4. Médias das lesões necróticas desenvolvidas nas ráquis dos coqueiros 14 dias após a inoculação dos isolados de *Thielaviopsis paradoxa* e a testemunha. * Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-knott a 5% de probabilidade (CV: 30,83%).

Um ponto importante observado foi a falta da relação entre a fonte dos isolados e a virulência, pois tanto isolados do coqueiro, insetos, solo e da palmeira azul, foram altamente virulentos nas inoculações da ráquis do coqueiro.

Conclusões

Todos os isolados de *Thielaviopsis paradoxa* testados foram patogênicos ao coqueiro. Dos 23 isolados testados, 10 apresentaram maior virulência na inoculação da ráquis do coqueiro.

Referências

FERREIRA, J. M. S. Pragas e métodos de controle ajustados à baixa capacidade de investimentos dos pequenos produtores rurais. In: CINTRA, F. L. D.; FONTES, H. R.; PASSOS, E. E. M.; FERREIRA, J. M. S. (Ed.). **Fundamentos tecnológicos para a revitalização das áreas cultivadas com coqueiro gigante no nordeste do Brasil**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009. p. 191-218.

NELSON, S. 2005. Stem bleeding of coconut palm. **College of Tropical Agriculture and Human Resources (CTAHR)**, Honolulu, 2005. Disponível em: <<http://www.ctahr.hawaii.edu/freepubs/pdf/PD-30.pdf>>. Acesso em: 14 jun. 2014.

SANTOS, K.J. 2009. **Associativismo e comercialização: estratégias para inserção do pequeno produtor no mercado de coco seco**. p. 220-225. In: CINTRA, F. L. D.; FONTES, H. R.; PASSOS, E. E. M.; FERREIRA, J. M. S. (Ed.). **Fundamentos tecnológicos para a revitalização das áreas cultivadas com coqueiro gigante no nordeste do Brasil**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009. p. 220-225.

WARWICK, D.R.N.; FERREIRA, J.M.S.; PASSOS, E.E.M. Ocorrência de resinose do estipe do coqueiro em Sergipe provocada por *Chalara paradoxa*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 4, p. 171, 2004.