

COQUEIRO-ANÃO: ANATOMIA DOS FOLÍOLOS, PROCESSO DE  
COLONIZAÇÃO DE *CAMAROTELLA TORRENDIELLA* E  
*CAMAROTELLA ACROCOMIAE* E EPIDEMIOLOGIA DA QUEIMA-  
DAS-FOLHAS

**KELLY LANA ARAÚJO**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY  
RIBEIRO - UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
SETEMBRO, 2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

COQUEIRO-ANÃO: ANATOMIA DOS FOLÍOLOS, PROCESSO DE  
COLONIZAÇÃO DE *CAMAROTELLA TORRENDIELLA* E  
*CAMAROTELLA ACROCOMIAE* E EPIDEMIOLOGIA DA QUEIMA-  
DAS-FOLHAS

**KELLY LANA ARAÚJO**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como partes das exigências para obtenção  
do título de Doutor em Produção Vegetal

Orientador: Prof. Silvaldo Felipe da Silveira

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ  
SETEMBRO, 2009

COQUEIRO-ANÃO: ANATOMIA DOS FOLÍOLOS, PROCESSO DE  
COLONIZAÇÃO DE *CAMAROTELLA TORRENDIELLA* E  
*CAMAROTELLA ACROCOMIAE* E EPIDEMIOLOGIA DA QUEIMA-  
DAS-FOLHAS

**KELLY LANA ARAÚJO**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e  
Tecnologias Agropecuárias da Universidade  
Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro,  
como partes das exigências para obtenção  
do título de Doutor em Produção Vegetal

Aprovada em 25 de setembro de 2009

Comissão Examinadora:

---

Prof. Fábio Lopes Olivares (D.Sc., Ciências do Solo) - UENF

---

Prof. Waldir Cintra de Jesus Júnior (D.Sc., Fitopatologia) - UFES

---

Flávio Costa Miguens (D.Sc., Biofísica) – UENF

---

Prof. Silvaldo Felipe da Silveira (D.Sc., Fitopatologia) – UENF  
Orientador

## SUMÁRIO

RESUMO.....	iv
ABSTRACT.....	vi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Coqueiro.....	4
2.2. Queima-das-folhas.....	7
2.3. Lixa-pequena e lixa-grande.....	8
3. TRABALHOS.....	8
3.1. Caracterização anatômica e histoquímica de folíolos de coqueiro ( <i>Cocos nucifera</i> L., Arecaceae).....	11
Resumo.....	11
Abstract.....	12
Introdução.....	13
Material e métodos.....	14
Resultados e discussão.....	17
Resumo e conclusões.....	32
Referências Bibliográficas.....	33
3.2. Caracterização do processo de colonização de <i>Camarotella</i> <i>torrendiella</i> e <i>Camarotella acrocomiae</i> em folíolos de coqueiro.....	37
Resumo.....	37
Abstract.....	38

Introdução.....	39
Material e métodos.....	40
Resultados.....	42
Discussão.....	47
Resumo e conclusões.....	52
Referências Bibliográficas.....	52
3.3. Método para a quantificação da severidade da queima-das-folhas do coqueiro.....	54
Resumo.....	54
Abstract.....	55
Introdução.....	56
Material e métodos.....	57
Resultados e discussão.....	60
Resumo e conclusões.....	66
Referências Bibliográficas.....	67
3.4. Epidemiologia da queima-das-folhas do coqueiro-anão na região de Campos dos Goytacazes.....	70
Resumo.....	70
Abstract.....	71
Introdução.....	72
Material e métodos.....	73
Resultados discussão.....	77
Resumo e conclusões.....	90
Referências Bibliográficas.....	91
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	93
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95

## RESUMO

ARAÚJO, K. L.; D. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; setembro de 2009. **Coqueiro-anão: anatomia dos folíolos, processo de colonização de *Camarotella torrendiella* e *Camarotella acrocomiae* e epidemiologia da queima-das-folhas.** Orientador: Silvaldo Felipe da Silveira.

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.) é cultivado comercialmente em praticamente todos os Estados brasileiros, sendo de grande importância sócioeconômica para o país. Sua produtividade, contudo, pode ser reduzida pela ocorrência de várias doenças, destacando-se a lixa-pequena – LP (*Camarotella torrendiella*), a lixa-grande - LG (*Camarotella acrocomae*) e a queima-das-folhas – QFC (*Botryosphaeria cocogena*). As folhas de coqueiro com sintomas dessas doenças, geralmente as mais baixas, secam e caem prematuramente. Com a queda das folhas os cachos ficam sem suporte e tombam, o que prejudica o amadurecimento normal dos frutos e favorece a queda dos mesmos. Para uma melhor caracterização desses patossistemas, o presente trabalho englobou estudos anatômicos e histoquímicos dos folíolos de coqueiro assintomáticos, bem como, estudos histopatológicos dos fungos *C. torrendiella* e *C. acrocomae* e epidemiológicos da QFC. As investigações anatômicas, histoquímicas e histopatológicas foram realizadas com auxílio da microscopia eletrônica de varredura e da microscopia óptica. Para o estudo epidemiológico da QFC, primeiramente foi elaborada uma metodologia para estimar a área foliar com sintomas da QFC medindo-se apenas a parte necrosada da ráquis. Para tanto, foram testados modelos por regressão linear e não-linear. Em seguida, a severidade da QFC foi quantificada mensalmente em três diferentes áreas da

região de Campos dos Goytacazes. Com os dados obtidos foram plotadas curvas de progresso da doença ao longo do ano. Variáveis climáticas oriundas de registros horários de temperatura, umidade relativa, precipitação pluviométrica e molhamento foliar foram correlacionadas com a severidade da QFC. As características anatômicas e histoquímicas encontradas nos folíolos de coqueiro refletiram as características gerais das espécies da família Arecaceae, destacando-se a presença de estômatos tetracíclicos, tricomas estrelados, ceras epicuticulares do tipo placa e a presença constante de idioblastos contendo cristais de ráfides e de idioblastos taníferos. A colonização de *C. acrocomae* nos folíolos de coqueiro se concentrou principalmente nas células do floema. Enquanto que, hifas de *C. torrendiella* foram evidenciadas nas células da epiderme e do parênquima, estando sempre associadas com uma deposição de material fortemente corado com azul de toluidina nos tecidos dos folíolos. A área foliar com sintomas da QFC foi estimada de forma indireta através de um modelo cúbico, utilizando-se como variável independente a distância da base do último folíolo totalmente necrosado ao ápice da folha do coqueiro. A QFC ocorreu nas três áreas analisadas com 100% das plantas apresentando sintomas da doença, em todas as épocas do ano. Analisando-se o progresso da QFC ao longo do ano não foi possível detectar uma época do ano mais favorável à ocorrência da doença. No entanto, constatou-se que a maioria das correlações significativas entre variáveis climáticas e severidade da QFC ocorreu no intervalo compreendido entre 14 a 21 dias precedentes a cada data específica.

Palavras-chave: *Cocos nucifera*, lixa-pequena, lixa-grande, *Lasiodiplodia theobromae*, interação planta/patógeno

## ABSTRACT

ARAÚJO, K. L.; D. Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; September 2009. **Coconut: leaflets anatomy, *Camarotella torrendiella* and *Camarotella acrocomiae* colonization process and leaf blight epidemiology.** Advisor: Silvaldo Felipe da Silveira.

Coconut (*Cocos nucifera* L.) is commercially cultivated in almost all Brazilian states, thus presenting a socio-economic importance for the country. Its productivity, however, could be reduced by the occurrence of various diseases, especially “lixa-pequena” – LP (*Camarotella torrendiella*), “lixa-grande” – LG (*Camarotella acrocomae*) and coconut leaf blight – QFC (*Botryosphaeria cocogena*). The diseased leaves, often the lower ones, dry and fall prematurely. As the leaves fall, bunches loses its support and fall down, impairing the normal ripening and inducing fruit drop. Aiming a best characterization of these pathosystems, this work comprises anatomical and histochemical studies of asymptomatic coconut leaflets as well as histopathological studies of *C. torrendiella* and *C. acrocomae* fungus, and QFC epidemiology. Anatomical, histochemical and histopathological researches were conducted by using scanning electron and light microscopy. For QFC epidemiological studies, it was initially elaborated a methodology for leaf area estimation of symptomatic QFC leaves where only necrosed regions of rachis were measured. With this purpose linear and non linear regression were tested. Afterward, QFC severity was monthly quantified in three distinct areas in Campos dos Goytacazes region. Using the data obtained along a year, a disease progress curve was plotted. Climate

variables from hourly register of temperature, relative humidity, rainfall and leaf wetness were correlated with QFC severity. Anatomical and histochemical characteristics observed on coconut leaflets are in agreement with those features occurring on *Arecaceae* family species, being remarkable the presence of tetracyclic stomata, stellate trichomes, plate-like epicuticular waxes and numerous idioblasts containing raphides or tanniferous material. Coconut leaflets colonization by *C. acrocomae* was concentrated mainly in phloem cells. Whereas *C. torrendiella* hyphae were in evidence in epidermal and parenchymal cells, being always associated to a strongly toluidine blue staining depositional material in leaflets tissues. The leaf area with QFC symptoms was indirectly estimated through a cubic model, using as independent variable the length from the base of the last leaflet completely necrosed to the apex of coconut leaf. The QFC took place in the three analyzed areas with 100% of plants showing disease symptoms, in every period of the year. Analyzing QFC progress along a year, it was not possible to detect a most favorable season for disease occurrence. Nevertheless, it was verified that the most of the significative correlations between climate variables and QFC severity occurred in intervals included with 14 to 21 days preceding each evaluation.

Key-words: *Cocos nucifera*, “lixá-pequena”, “lixá-grande”, *Lasiodiplodia theobromae*, interação plant/pathogen interaction

## 1. INTRODUÇÃO

O cultivo do coqueiro (*Cocos nucifera*, L.) representa importante atividade socioeconômica e agroindustrial em cerca de 90 países, servindo como fonte de diversos produtos, como a água de coco, o leite de coco, o coco ralado, fibras, ceras, óleo, açúcar, álcool, artesanatos, etc. Destaca-se ainda, a geração de empregos, pois no manejo da cultura, necessita-se de mão-de-obra durante todo o ano. Empregos indiretos também são gerados ao longo da cadeia produtiva do coqueiro (Virtual Palm Encyclopedia, 2009; Gutiérrez Cueca e Siqueira, 2003).

O Brasil é um dos principais produtores de coco do mundo, contribuindo com quase 5% da produção mundial. A Indonésia é o principal produtor, com uma produção estimada em mais de 19 milhões de toneladas de frutos. Em seguida vêm as Filipinas com quase 15 milhões de t., a Índia com 11,7 milhões de t, o Brasil com 2,8 milhões de t, o Sri Lanka com 2,18 milhões de t e o México com 1,16 milhões de t, ocupando a 2ª, 3ª, 4ª, 5ª e 6ª posições, respectivamente. Em termos de área plantada, lideram as Filipinas, com 3,4 milhões de hectares, e a Indonésia com 2,9 milhões de hectares (FAO, 2009).

Estima-se que a área plantada com coqueiro no Brasil esteja em torno de 284 mil hectares. Destes, 80% ainda se concentram na região nordeste, com destaque para os Estados da Bahia, do Ceará e de Sergipe. O Estado da Bahia é o principal produtor de coco do Brasil, com cerca de 566 milhões de frutos produzidos na safra de 2007, valor esse, correspondente a 30% da produção total brasileira (IBGE, 2009).

Em termos de produtividade o cenário nacional é bastante diferente, destacando-se nesse setor os Estados da região sudeste, principalmente o Rio de Janeiro. Com uma área cultivada com coqueiro de apenas 4.450 ha, destes, 33% se concentram na região norte fluminense, a produtividade média da cultura no Estado do Rio de Janeiro ficou em torno de 16 mil frutos na safra de 2007, mais que o dobro registrado no Brasil no mesmo período (IBGE, 2009). Esse fato se deve principalmente ao predomínio na região sudeste de plantios de coqueiros híbridos e da variedade Anã, que são mais produtivos que os coqueiros da variedade gigante. Na região nordeste predomina o cultivo de coqueiros gigantes (Gutiérrez Cueva e Siqueira, 2003).

Um fator importante associado à cocoicultura, não só do Estado do Rio de Janeiro, mas do Brasil, diz respeito aos problemas fitossanitários. Entre as doenças que afetam o coqueiro no Brasil, destacam-se a queima-das-folhas (*Lasiodiplodia theobromae*), a lixa-pequena (*Camarotella torrendiella*) e a lixa-grande (*C. acrocomiae*). Um aspecto comum a todas essas doenças é a ocorrência generalizada em praticamente todos os coqueirais brasileiros (Warwick e Leal, 2003; Mariano, 1997). Essas doenças são responsáveis principalmente pela redução da área foliar fotossintética das plantas, refletindo, assim, negativamente na produtividade dos coqueirais (Mariano, 1997). As folhas infectadas caem prematuramente. Com a queda das folhas, eventualmente, os cachos ficam sem suporte e tombam, o que prejudica o amadurecimento normal dos frutos e favorece a queda dos mesmos (Warwick e Leal, 2003; Mariano, 1997). As medidas de controle empregadas atualmente, principalmente a química, não são efetivas, o que acarreta aumento dos custos de produção, do risco de seleção de populações dos patógenos resistentes a fungicidas e da poluição ambiental.

Estudos relacionados com a queima-das-folhas, a lixa-pequena e a lixa-grande são escassos. A maior parte se concentra na região nordeste do país. Pouco se conhece acerca da patogênese desses fungos, da sazonalidade, assim como, o efeito das condições ambientais no progresso dessas doenças.

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivos:

- 1) Caracterizar a anatomia e histoquímica de folíolos de coqueiros assintomáticos;

2) Caracterizar o processo de colonização de *Camarotella torrendiella* e *C. acrocomae* em folíolos de coqueiro;

3) Determinar e validar um método para quantificação da severidade da queima-das-folhas do coqueiro;

4) Acompanhar o progresso da queima-das-folhas ao longo do ano, correlacionando-o com variáveis climáticas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Coqueiro

O coqueiro é uma planta perene de hábito de crescimento indeterminado, pertencente à família Arecaceae (Palmae), à subfamília Arecoideae, à tribo Cocoeae, e ao gênero *Cocos*. O gênero *Cocos* contém apenas a espécie *C. nucifera* (Virtual Palm Encyclopedia, 2009).

A espécie *C. nucifera* possui várias variedades, dentre as mais importantes destacam-se a *Typica* (coqueiro gigante) e a *Nana* (coqueiro-anão). Esta pode ser dividida em três grupos, os quais são separados principalmente pela cor do epicarpo do fruto. Os grupos são denominados de coqueiro-anão verde, coqueiro anão-amarelo e coqueiro-anão vermelho. Dentro do grupo anão vermelho, existem ainda dois ecotipos, o da Malásia e o de Camarões, os quais são distinguidos fenotipicamente pela forma e cor dos frutos. A variedade gigante também possui variações na cor, tamanho e forma dos seus frutos, no entanto, os grupos dessa variedade são identificados pelo nome da região ecofisiológica na qual a população se desenvolveu ou pelo nome do país ou lugar no qual os exemplares foram encontrados (Olher, 1984). As variedades *Typica* e *Nana*

podem ser inter cruzadas, gerando coqueiros híbridos, com características intermediárias aos progenitores (Aragão et al., 2003).

Anualmente, em condições ideais, o coqueiro gigante emite de doze a quatorze folhas, enquanto que o coqueiro-anão emite em média 18 folhas. Estas permanecem na copa do coqueiro por um período de 3 a 3,5 anos, o que resulta em um número de 25 a 30 folhas por planta (Child, 1974). As folhas são emitidas de diferentes ângulos por todos os lados do estipe, formando uma espiral (Ohler, 1984). O ângulo entre duas folhas sucessivas fica em torno de  $144^\circ$  (Sobral, 1999) e a direção de ascendência da espiral é determinada pela localização hemisférica. No hemisfério Norte, a direção da espiral foliar é anti-horária e no hemisfério sul é horária (Minorsky, 1998).

As inflorescências do coqueiro são paniculadas, axilares, protegidas por brácteas grandes denominadas de espata. Normalmente, uma inflorescência é formada na axila de cada folha. Assim, o número de folhas formadas por ano, determina também o possível número de inflorescência (Olher, 1984). Após completar o seu desenvolvimento, as espatas abrem-se liberando as inflorescências. Estas são formadas por pedúnculo, espiga e flores. Há formação dos órgãos masculinos e femininos em uma mesma inflorescência, mas em flores diferentes. As flores femininas são maiores e localizam-se na base de cada espiga, enquanto que as flores masculinas, em grande quantidade, situam-se no ápice das mesmas (Passos, 2003). O número de flores femininas por inflorescência é influenciado pelo estado nutricional e hídrico das plantas (Passos, 1999).

Na variedade gigante raramente há coincidência na maturação das flores femininas e das flores masculinas entre inflorescências sucessivas de uma mesma planta. Já no coqueiro-anão, as flores masculinas e femininas amadurecem aproximadamente ao mesmo tempo, ocorrendo normalmente a autofecundação. No entanto, o nível de autofecundação varia entre os grupos dessa variedade (Olher, 1984).

Os frutos do coqueiro, do tipo drupa, quando completamente desenvolvidos, apresentam epicarpo, mesocarpo, endocarpo, tegumento e albume (Passos, 1999; Ohler, 1984). O epicarpo é uma camada fina, lisa e cerasa que envolve os frutos. O mesocarpo ou “casca do coco” constitui-se de uma camada grossa e fibrosa, situada entre o epicarpo e o endocarpo. O endocarpo é

a parte dura e lenhosa do fruto. O tegumento é uma camada fina de coloração marrom que fica entre o endocarpo e o endosperma. O endosperma, também conhecido por albume ou semente, é constituído por uma parte sólida e outra líquida. O albúmen sólido, que é uma camada carnosa, branca e muito oleosa, forma uma grande cavidade onde se encontra o albúmen líquido ou água-de-coco (Passos, 2003a). A composição da água-de-coco muda consideravelmente durante o processo de desenvolvimento do fruto, mas basicamente, os principais constituintes são água, açúcares, além de proteínas, vitaminas e sais minerais (Olher, 1984).

O sudeste asiático é considerado como o mais provável centro de origem do coqueiro. Provavelmente, a dispersão dessa espécie ocorreu do sudeste asiático para a Índia, depois para a África e daí para o Continente Americano (Purseglove, 1975). O homem e as correntes marinhas são considerados os principais agentes dispersores do coqueiro (Ohler, 1984).

A introdução do coqueiro no Brasil ocorreu em 1553 por colonizadores portugueses, com plantas de coqueiro da variedade gigante originárias da Ilha de Cabo Verde. Inicialmente, os coqueiros foram plantados ao longo do litoral baiano, surgindo, assim, a denominação de coco-da-baía (Gomes, 1992). Já o coqueiro-anão só foi introduzido no Brasil em 1925 com mudas originárias de Java (Dias, 1980).

O coqueiro é uma planta essencialmente tropical e as condições favoráveis para seu cultivo comercial se encontram entre as latitudes 20°N e 20°S (Passos, 1999). Dentro deste limite, essa planta se adapta a amplas variações climáticas (Ohler, 1984). Sendo, o clima quente, ideal para o desenvolvimento e produção do coqueiro (Passos, 1999). Nesse sentido, o coqueiro pode ser cultivado comercialmente em praticamente todos os Estados brasileiros (Passos, 2003b), com exceção de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul, onde as condições climáticas adversas tornam a atividade antieconômica (Gutiérrez Cueca e Siqueira, 2003).

O cultivo do coqueiro gigante se concentra no Brasil principalmente na região nordeste, sendo explorada, na sua maioria, por pequenos produtores. Praticamente todos os frutos do coqueiro gigante são destinados para a agroindústria de alimentos (Aragão et al, 2003; Gutiérrez Cueca e Siqueira, 2003). Nas demais regiões do Brasil, o coqueiro-anão e o híbrido se destacam (Fontes et

al., 2003). Esses possuem maior precocidade e produtividade, quando comparados ao coqueiro gigante. Praticamente toda a produção do coqueiro-anão é voltada para o mercado de água-de-coco, sendo pouco utilizado na produção de copra (albúmen sólido desidratado a 6% de umidade) e na indústria de alimentos devido à baixa produção de albúmen sólido. Já os frutos dos coqueiros híbridos podem ser utilizados tanto para o mercado de água-de-coco, como para a agroindústria alimentícia (Gutiérrez Cueca e Siqueira, 2003).

Uma peculiaridade do cultivo do coqueiro em todas as regiões brasileiras é a ocorrência de doenças foliares, dentre estas, destacam-se a queima-das-folhas, a lixa-pequena e a lixa-grande (Warwick e Leal, 2003; Mariano, 1997).

## 2.2. Queima-das-folhas

O agente etiológico da queima-das-folhas do coqueiro, o ascomiceto *Botryosphaeria cocogena* Subileau, forma peritécios escuros, subjacentes à epiderme, com ascos bitunicados e ascósporos unicelulares, hialinos e fusiformes a ovoides (Subileau et al., 1994). No Brasil, *B. cocogena* é encontrado no Pará e nas épocas chuvosas em Sergipe (Warwick, 1997).

A forma imperfeita de *B. cocogena*, o fungo *Lasiodiplodia theobromae* (= *Botryodiplodia theobromae*), forma picnídios escuros, ostiolados, ligeiramente ovóides e erumpentes. Os picnídios podem ser formados isolados ou às vezes agrupados nos tecidos dos hospedeiros. Os conidióforos são curtos, simples e formam apenas um conídio na sua extremidade (Souza Filho, 1979). Os conídios, quando maduros, são escuros, bicelulares, com septo transversal e estrias longitudinais (Souza Filho, 1979; Ekundayo e Haskins, 1969). Já os conídios imaturos são hialinos, unicelulares, cobertos por uma parede dupla e ao germinarem em água estéril produzem um ou dois tubos germinativos (Souza Filho, 1979). Os picnídios são as estruturas mais encontradas associadas à queima-das-folhas no Brasil (Mariano, 1997).

*L. theobromae* possui ampla gama de hospedeiros, sendo algumas espécies de importância econômica, como o coqueiro, o cacaueteiro, a graviroleira,

a mangueira, o maracujazeiro, o abacateiro, a laranjeira, dentre outras (Freire et al., 2004; Ram, 1993). No entanto, apenas *L. theobromae* isolado do coqueiro é capaz de causar a queima-das-folhas do coqueiro (Ram, 1993). Os sintomas provocados por esse fungo variam em função do hospedeiro e do órgão infectado. Os principais sintomas associados ao *L. theobromae* são: “damping off”, murcha, seca e podridão de frutos (Halfeld-Vieira e Nechet, 2005; Freire et al., 2004; Ram, 1993).

Nas folhas do coqueiro a doença se caracteriza pela necrose e seca dos tecidos infectados. A queima-das-folhas inicia-se principalmente pelo ápice das folhas, avançando-se progressivamente na direção do estipe, formando, com isso, uma necrose dos tecidos em forma de V, sendo este o sintoma característico da doença (Warwick e Leal, 2003; Subileau et al., 1994). Plantas de coqueiro sob estresse, como por exemplo, o hídrico, são mais suscetíveis a ocorrência e desenvolvimento da doença (Warwick et al., 1993).

Os gêneros de fungos *Pestalotia*, *Helminthosporium*, *Colletotrichum*, *Diplodia* e *Fusarium* são frequentemente isolados de lesões da queima-das-folhas (Souza Filho, 1979; Ram, 1989b), no entanto, apenas *L. theobromae* é capaz de reproduzir os sintomas da doença no coqueiro sob condições de inoculação artificial (Ram, 1989b).

A queima-das-folhas pode ocorrer durante todo o ano, sendo as maiores intensidades dessa doença observadas nos meses onde ocorrem temperaturas mais elevadas e baixa umidade relativa do ar e precipitação (Ram, 1989a). Correia e Costa (2005), estudando a dispersão anamórfica de *L. theobromae*, observaram que pluviosidade mensal entre 25 e 80 mm favorece a liberação dos conídios deste fungo. Segundo esses autores, pluviosidade acima de 80 mm favorece a precipitação dos conídios do ar.

As principais fontes de inóculo da doença no campo são plantas de coqueiro infectadas ou restos culturais da planta no solo (Mariano, 1997). O período de maior liberação dos conídios de *L. theobromae*, na maioria das vezes, se concentra durante o dia, entre as seis e dez horas (Correia e Costa, 2005).

### 2.3. Lixa-pequena e lixa-grande

Os agentes etiológicos da lixa-pequena e da lixa-grande do coqueiro são, respectivamente, os fungos *Camarotella torrendiella* (Batista) Bezerra e Vitória (sin.: *Phyllachora torrendiella* (Batista) Subileau) e *Camarotella acrocomiae* (Montagne) Hyde e Cannon (sin.: *Sphaerodothis acrocomiae* (Montagne) Arx e Müller) (Vitória et al., 2008; Hyde e Cannon, 1999; Subileau et al., 1993). O gênero *Camarotella* pertence ao Filo Ascomycota, ordem Phylachorales e família Phylachoraceae (Index Fungorum, 2009).

As lixas ocorrem apenas no Brasil, em Cuba, no Chile, na Guiana Francesa e no Paraguai (Hyde e Cannon, 1999). No Brasil, a lixa-pequena ocorre no Pará e Tocantins, na região norte, e em todos os Estados das regiões sudeste, nordeste e centro-oeste (Warwick e Leal, 2000). Já a lixa-grande ocorre nos Estados do Espírito Santo e Rio de Janeiro, na região sudeste, e em praticamente todos os coqueirais da região nordeste (Warwick e Leal, 2003). Os danos à cultura do coqueiro se tornam maiores quando essas doenças estão associadas à queima-das-folhas (Mariano, 1997).

Além do coqueiro, estromas da lixa-pequena também foram detectados nas seguintes palmeiras: *Allagoptera brevicalyx*, *Bactris ferruginea*, *Attalea funifera*, *B. pickelli*, *Bactris* sp., *Syagrus coronata*, *S. microphylla*, *S. petraea*, *S. vagans* e *S. werdermanni* (Vitória, 2007; Warwick e Leal, 2000). Já *C. acrocomiae* foi descrito em *Acrocomia aculeata*, *Attalea funifera*, *A. geraensis*, *Diplothemium* sp e *Cocos nucifera* (Vitória, 2007; Warwick e Leal, 2003).

Em geral, os membros da família Phylachoraceae são parasitas obrigatórios (Cannon, 1991). *C. torrendiella* apresenta apenas um crescimento miceliogênico em meio artificial. Não se obteve até o momento formação das estruturas de reprodução, os peritécios e os espermogônios (ou picnídios), desse fungo *in vitro* (Oliveira et al., 2004).

A sintomatologia da lixa-pequena e da lixa-grande do coqueiro é bastante similar. Os picnídios de ambos os patógenos são estruturas estromáticas, ostioladas, escuras, irrompentes, isoladas ou agrupadas, que contêm conídios (ou espermásias) unicelulares, hialinas e filiformes (Vitória, 2007; Subileau et al.,

1993). Os conídios não são infectivos e provavelmente têm papel apenas na reprodução do patógeno (Hyde e Cannon, 1999; Bezerra, 1989). Os peritécios são pequenos pontos negros (estromas) e ásperos que ocorrem principalmente sobre os folíolos e a raquis do coqueiro (Vitória, 2007). Ao redor dos estromas da lixa-pequena ocorre necrose dos tecidos do hospedeiro (Warwick e Leal, 2003, Mariano, 1997; Bezerra, 1989), fato esse raramente observado nos estromas da lixa-grande (Warwick e Leal, 2003). As lesões provocadas pelo fungo *C. torrendiella* nos folíolos do coqueiro têm a forma de um losango e são formadas paralelamente às nervuras (Subileau et al., 1993). Os peritécios formados por essas duas espécies, quando maduros, apresentam no seu interior ascos entremeados por paráfises filiformes e hialinas. Os ascósporos de *C. torrendiella* são unicelulares, de extremidades subagudas e de coloração hialina (Vitória et al., 2008; Subileau et al., 1993). Já os ascósporos de *C. acrocomiae* são unicelulares, com extremidades obtusas e de coloração geralmente castanha (Vitória, 2007).

### **3. TRABALHOS**

#### **3.1. CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DE FOLÍOLOS DE COQUEIRO (*Cocos nucifera* L, ARECACEAE)**

##### **RESUMO**

Este trabalho foi desenvolvido com objetivos de identificar e caracterizar a anatomia e histoquímica de folíolos do coqueiro, com o intuito de contribuir para o melhor conhecimento da espécie e para identificar características que possam estar relacionadas com a interação coqueiro/patógenos foliares. Para tanto, fragmentos foliolares foram fixados, desidratados e incluídos em resina. Secções transversais desse material foram analisadas ao microscópio óptico (MO). A caracterização da superfície dos folíolos, em vista frontal, foi realizada ao MO, utilizando-se fragmentos foliolares dissociados, e ao microscópio eletrônico de varredura, utilizando-se segmentos foliares metalizados. Para o estudo histoquímico foram feitos cortes transversais na região do terço médio foliolar, submetendo-os posteriormente a diversos reagentes e corantes. As análises anatômicas revelaram a presença de ceras epicuticulares do tipo placa,

estômatos tetracíclicos, tricomas estrelados, epiderme uniestratificada, mesofilo dorsiventral e feixes vasculares do tipo colateral envoltos por bainha parenquimática e/ou esclerenquimática. Foi evidenciada a presença constante de idioblastos contendo cristais de ráfides ao longo do limbo foliolar. As análises histoquímicas evidenciaram a presença de compostos graxos, cristais de sílica e compostos fenólicos, incluindo tanino e lignina.

Palavras-chave: *Cocos nucifera*, anatomia foliar, histoquímica

## **ANATOMIC AND HISTOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF COCONUT (*Cocos nucifera* L, ARECACEAE) LEAFLETS**

### **ABSTRACT**

This work aimed to identify and describe the anatomy and histochemistry of coconut leaflets, with the purpose of contributing to the knowledge of the specie and to identify characteristics that could be related to the interaction coconut x leaf pathogens. For this purpose, leaf fragments were fixed, dehydrated and embedded in resin. Transverse sections of this material were analyzed by light microscopy (MO). Leaflets surface characterization, in a frontal view, was made in a light microscope, using dissociated leaf fragments, and on scanning electron microscope through metalized leaf segments. For histochemical analysis, it was made transverse cuts on the middle third part of the leaf, and then subjected it to a diverse reagents and dyes. Anatomical analysis brought out the presence of plate-like epicuticular waxes, tetracyclic stomata, stellate trichomes, unisseriate epidermis, dorsiventral mesophyll and collateral vascular bundles covered by parenchymatous and/or sclerenchymatous sheath. It was clearly showed the presence of raphide crystal idioblast along the leaf blade. The histochemical

analysis revealed the presence of fatty compounds, silica crystals and phenolic compounds, including tannin and lignin.

Key-words: *Cocos nucifera*, leaf anatomy, histochemistry

## INTRODUÇÃO

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.) pertence à tribo Cocoeae, subfamília Arecoideae e à família Arecaceae (Palmae) (Virtual Palm Encyclopedia, 2009). Essa espécie possui grande interesse econômico devido à variedade de formas de utilização da planta. Os principais produtos e subprodutos originários do coqueiro são retirados dos frutos. Estes são utilizados comercialmente para o consumo *in natura*, principalmente da água-de-coco, para a agroindústria alimentos e para o artesanato (Virtual Palm Encyclopedia, 2009; Gutiérrez Cuenca e Siqueira, 2003). A árvore pode ser empregada no paisagismo e na arborização urbana (Virtual Palm Encyclopedia, 2009). O estipe do coqueiro tem destaque na área de habitação (Etuk et al., 2005). Ressalta-se ainda o grande potencial do coqueiro para a produção de óleo (Fontes e Wanderley, 2006) e a variedade de uso da fibra do mesocarpo do fruto (Carrijo et al., 2002).

No Brasil, o coqueiro é cultivado comercialmente em praticamente todos os Estados (Gutiérrez Cuenca e Siqueira, 2003). No entanto, os cococultores brasileiros enfrentam sérios problemas relacionados a pragas e doenças (Ferreira, 2003; Warwick e Leal, 2003). Algumas doenças foliares, como a lixa-pequena (*Camarotella torrendiella*), a lixa-grande (*Camarotella acrocomiae*) e a queima-das-folhas (*Lasiodiplodia theobromae*), ocorrem de forma endêmica em praticamente todos os coqueirais brasileiros (Warwick e Leal, 2003; Mariano, 1997). Embora o coqueiro seja cultivado comercialmente em cerca de 90 países (Fao, 2009), além do Brasil, a lixa pequena e a lixa grande só foram relatadas em Cuba, no Chile, na Guiana Francesa e no Paraguai (Hyde e Cannon, 1999). Já a queima-das-folhas ocorre apenas no Brasil e na Guiana Francesa (Mariano, 1997).

Várias estruturas presentes nas folhas das plantas são capazes de influenciar na interação entre patógenos foliares ou insetos foliares com seus hospedeiros, destacando-se: o tipo e a densidade dos tricomas, a densidade de estômatos, a espessura da cutícula, a presença de cristais e de compostos fenólicos, dentre outras (Hanley et al., 2007; Agrios, 2004; Gutschick, 1999).

Considerando a importância econômica do coqueiro e a escassez de estudos que envolvem a descrição anatômica foliar do mesmo, esse trabalho teve como objetivos identificar e caracterizar a anatomia e histoquímica de folíolos de *Cocos nucifera*, esperando-se com isso, contribuir para o melhor conhecimento da espécie, da família Arecaceae e, sobretudo, para fornecer subsídios para futuros estudos de interação coqueiro/patógenos foliares.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material botânico estudado foi procedente de plantas de coqueiro-anão, com cerca de 14 anos de idade, cultivadas no campus experimental do Colégio Agrícola Antônio Sarlo (21°42'59" S e 41°20'33" W) em Campos dos Goytacazes, RJ.

### Microscopia óptica (MO)

Foram amostrados dois folíolos da região mediana das folhas F8, F13 e F18 de três plantas de coqueiros para quantificação do índice estomático (IE - porcentagem de estômatos na epiderme para o número total de células epidérmicas, incluindo as células subsidiárias), da densidade de estômatos (DE), da densidade de células da epiderme (DCE) e da densidade de tricomas (DT). A identificação das folhas amostradas foi realizada a partir da primeira folha ainda

fechada localizada no centro da copa do coqueiro, chamada de folha bandeira. Esta foi considerada como F1. A partir daí, considerando que as folhas do coqueiro são emitidas de diferentes ângulos por todos os lados do estipe formando uma espiral e que o ângulo entre duas folhas sucessivas fica em torno de 144° (Sobral, 1999), contaram-se as folhas subsequentes.

Segmentos foliares coletados da região mediana de cada folíolo foram divididos em margem, nervura secundária e região intermediária entre a margem e a nervura secundária (RMN). O material obtido foi submetido à dissociação com ácido nítrico a 10% aquoso, segundo técnica proposta por Macedo et al. (2005). Para cada região citada anteriormente, foram confeccionadas duas lâminas, uma para região abaxial e outra para adaxial, totalizando, com isso, 18 lâminas por superfície foliar, por região. O IE, a DE e a DCE foram quantificados em 20 campos microscópicos por fragmento, com área de cada campo equivalente a 0,12 mm<sup>2</sup>. O IE foi determinado utilizando-se a seguinte equação:

$$IE (\%) = \frac{100 \times DE}{(DE + DCE)}$$

Já a DT foi quantificada em dez campos aleatórios, com área de cada campo equivalente a 0,49 mm<sup>2</sup>. A média do IE, DE, DCE e DT foram calculados para cada região.

Para a caracterização histoquímica, os folíolos de coqueiro foram também divididos em nervura secundária, margem e RMN. Cortes histológicos transversais, obtidos de material fresco, foram executados à mão livre ou com auxílio do aparelho Criostato. As secções obtidas foram então submetidas aos corantes e reagentes citados na tabela 1.

Tabela 1: Testes histoquímicos realizados em folíolos de *Cocos nucifera*

<b>Reagentes</b>	<b>Conteúdo celular</b>	<b>Coloração</b>	<b>Autor</b>
Sudan IV	Lipídios, cutina e suberina	Amarelo-alaranjado ou vermelho	Gerlach, 1984
Cloreto férrico a 10%	Compostos fenólicos totais	Negro-azulado ou verde-escuro	Johansen, 1940
Vanilina Corídrica	Compostos tânicos	Vermelho	Mace e Howell, 1974
Fluoglucinol acidificado	Lignina	Vermelho	Johansen, 1940
Azul de metileno	Mucilagem	Azul escuro	Langeron, 1949
Fenol	Sílica	Rosa	Johansen, 1940

Para caracterizar estruturalmente os folíolos de coqueiro em secção transversal, fragmentos foliares retirados da região mediana de folhas F13 foram fixados em solução contendo 2,5% de glutaraldeído e 4,0% de formaldeído diluídos em tampão Pipes 1%, desidratados em série alcoólica e incluídos em resina UNICRYL<sup>®</sup>. Após a polimerização da resina, foram obtidos cortes semifinos, com espessura de 0,5 µm, em ultramicrótomo (Reichert Ultracut S<sup>®</sup>) acoplado com navalhas de diamante. Em seguida, esses cortes foram aderidos em lamina de vidro e corados com solução aquosa de Azul de Toluidina a 1,0%, acrescida de 0,1% de sulfato de Boro.

Os dados relativos a MO foram documentados digitalmente em microscópio óptico Axioplan Zeiss, equipado com câmera ZVS – Zeiss, acoplado ao sistema AnalySIS<sup>®</sup>/Soft Imaging System de processamento digital de imagens.

## **Microscópio eletrônico de varredura (MEV)**

Para análise estrutural dos folíolos de coqueiro em secção transversal, fragmentos foliares fixados e desidratados, conforme exposto acima, em seguida, foram submetidos à secagem pelo ponto crítico do dióxido de Carbono em aparelho BALTEC – CPD 030®. As amostras depois de secas foram aderidas com fita adesiva dupla-face de carbono ou cola de prata a suportes metálicos. Já para o estudo estrutural da superfície foliar, fragmentos foliares, obtidos de material fresco, foram aderidos com fita adesiva dupla-face de carbono a suportes metálicos e colocados para secar em temperatura ambiente por aproximadamente cinco dias. A metalização do material seco procedeu-se em aparelho BALTEC – SCD 050®, onde as amostras foram cobertas com uma camada de ouro de aproximadamente 20 nanômetros. As eletromicrografias foram documentadas digitalmente em microscópio eletrônico de varredura Zeiss DSM 962®.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A superfície foliar da região intermediária entre a margem e a nervura primária (RMN) dos folíolos de coqueiro, em vista frontal ao microscópio eletrônico de varredura, apresentou-se revestida, em ambas as faces, por ceras epicuticulares do tipo placa (Barthlott et al., 1998) (Fig. 1A e B). Tais características também foram evidenciadas na nervura primária (Fig. 1C) e na margem dos folíolos (Fig. 1D). Ceras epicuticulares do tipo placa é uma característica comum em várias espécies da família Arecaceae (Silva e Vilhena-Potiguara, 2008). Quanto à interação planta/patógenos foliares, a superfície foliar desempenha importante papel, pois é onde os fitopatógenos têm o primeiro contato com os seus hospedeiros (Agrios, 2004). De acordo com suas características químicas e físicas, a superfície foliar pode influenciar diretamente

os processos de adesão, germinação e formação de apressório de vários fungos fitopatogênicos (Tucker e Talbot, 2001).

Foram observados corpos de sílica dispostos em fileiras longitudinais na parte superior e inferior das células epidérmicas que revestem a margem dos folíolos (Fig. 1E). A presença de sílica também foi constatada nos feixes vasculares, na nervura secundária e, mais raramente, nas células-guarda dos estômatos e nas células epidérmicas do limbo foliar. A presença de corpúsculos de sílica é comum em outras espécies da família Arecaceae (Henderson, 2006), como em *Oenocarpus*, onde tais estruturas foram evidenciadas nas células epidérmicas, no floema dos feixes vasculares de menor porte, na nervura central e na bainha foliar (Silva e Vilhena-Potiguara, 2008). Células epidérmicas portadoras de corpos silicosos também foram verificadas em *Mauritia flexuosa*, sendo essas dispostas em fileiras longitudinais, em ambas as faces dos folíolos (Passos e Mendonça, 2006). Já no coqueiro, tais estruturas já foram constatadas por Guevara e Jáuregui (2008) associados aos feixes vasculares presentes em flores masculinas e femininas.

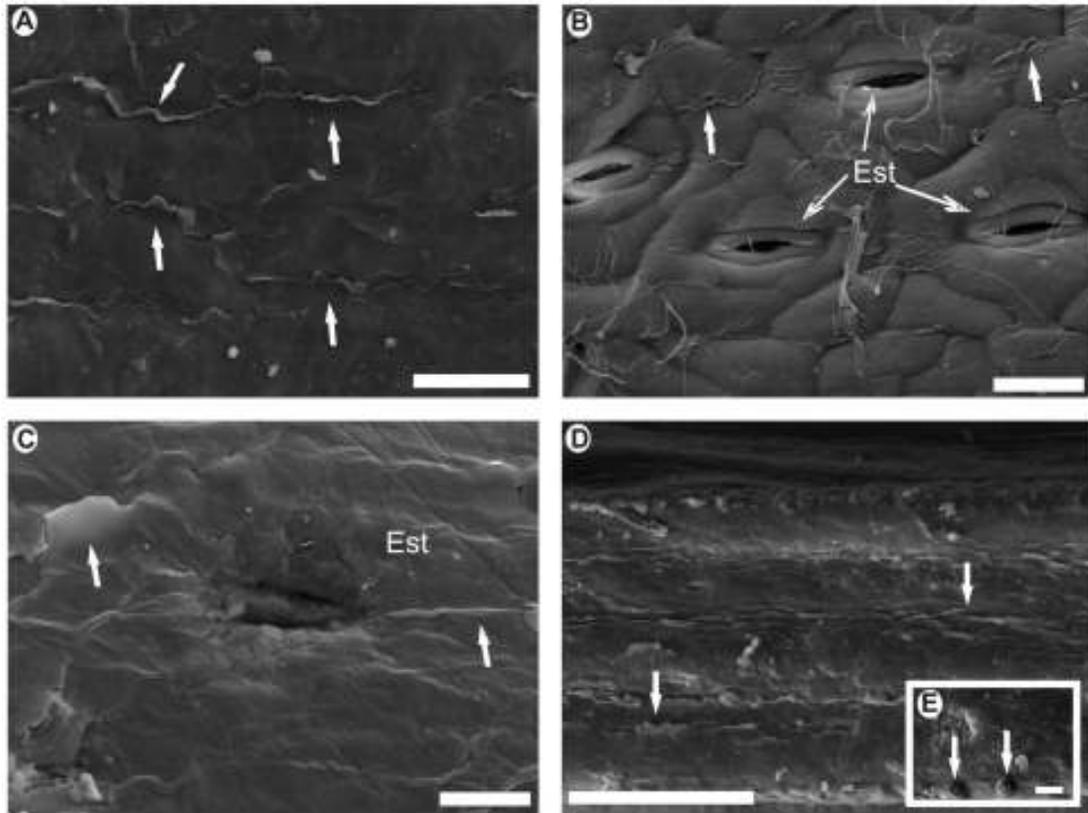


Figura 1: Vista frontal da superfície de folíolos de coqueiro ao microscópio eletrônico de varredura (MEV). A: Vista geral da face adaxial da região entre a margem e a nervura secundária (RMN). Bar = 50 $\mu$ m; B: Vista geral da face abaxial da RMN. Bar = 20 $\mu$ m; C: Superfície adaxial da nervura primária evidenciando um estômato tetracítico. Bar = 20 $\mu$ m. D: Aspecto geral da superfície foliar da margem. Bar = 200 $\mu$ m. E: Epiderme com células silicatadas (setas). Bar = 20 $\mu$ m. Est: estômato. As setas indicam as projeções das ceras epicuticulares do tipo placa.

Os corpos silicosos normalmente são associados com a proteção das plantas contra ataque de herbívoros e microrganismos, com a manutenção da rigidez dos tecidos ou órgãos (Prychid et al., 2004) e no controle da transpiração excessiva (Lux et al., 2002).

Ao analisar a epiderme dos folíolos de coqueiro em vista frontal ao microscópio óptico, constatou-se a presença de células de formato retangular, com paredes periclinais e anticlinais retas ou ligeiramente curvas na face adaxial da RMN. Células triangulares ou circulares também foram observadas nessa região, mas esporadicamente (Fig. 2A). Já na face abaxial da RMN, foram observadas células com formas e tamanhos variados e sem organização definida (Fig. 2B e C). Células alongadas, apresentando eixo periclinal maior que o anticlinal, foram notadas na face abaxial da nervura secundária (Fig. 2D) e na parte da epiderme que reveste a margem dos folíolos de coqueiro (Fig. 2F). Na superfície abaxial da nervura secundária constatou-se a presença de células quadráticas de tamanhos variados, com paredes periclinais e anticlinais retas ou ligeiramente curvas (Fig. 2E).

Na RMN, estômatos do tipo tetracíclicos foram evidenciados apenas na face abaxial. Os estômatos apresentavam-se inseridos ao mesmo nível das células circunvizinhas e organizados em fileiras longitudinais paralelas à nervura secundária (Fig. 1A, 2B e 2C), algumas vezes, também formando fileiras perpendiculares a essas (Fig. 2C). Células subsidiárias comuns a dois estômatos (células geminadas) também foram observadas (Fig. 2C). A densidade estomática e o índice estomático nessa região foram de  $251,19 \pm 8,78$  estômatos/mm<sup>2</sup> e de  $12,69 \pm 0,174\%$ , respectivamente.

Analisando-se ambas as faces da nervura secundária, constatou-se a presença de estômatos, também do tipo tetracítico, localizados ao mesmo nível das demais células epidérmicas (Fig. 2D e 2E). Esporadicamente, também foram observados estômatos localizados ligeiramente abaixo do nível das demais células circunvizinhas. A densidade estomática foi de  $45,09 \pm 3,39$  estômatos/mm<sup>2</sup> na face adaxial e de  $100,68 \pm 3,43$  estômatos/mm<sup>2</sup> na face abaxial. O índice estomático foi de  $2,57 \pm 0,16\%$  e de  $5,98 \pm 0,12\%$  nas faces adaxial e abaxial, respectivamente.

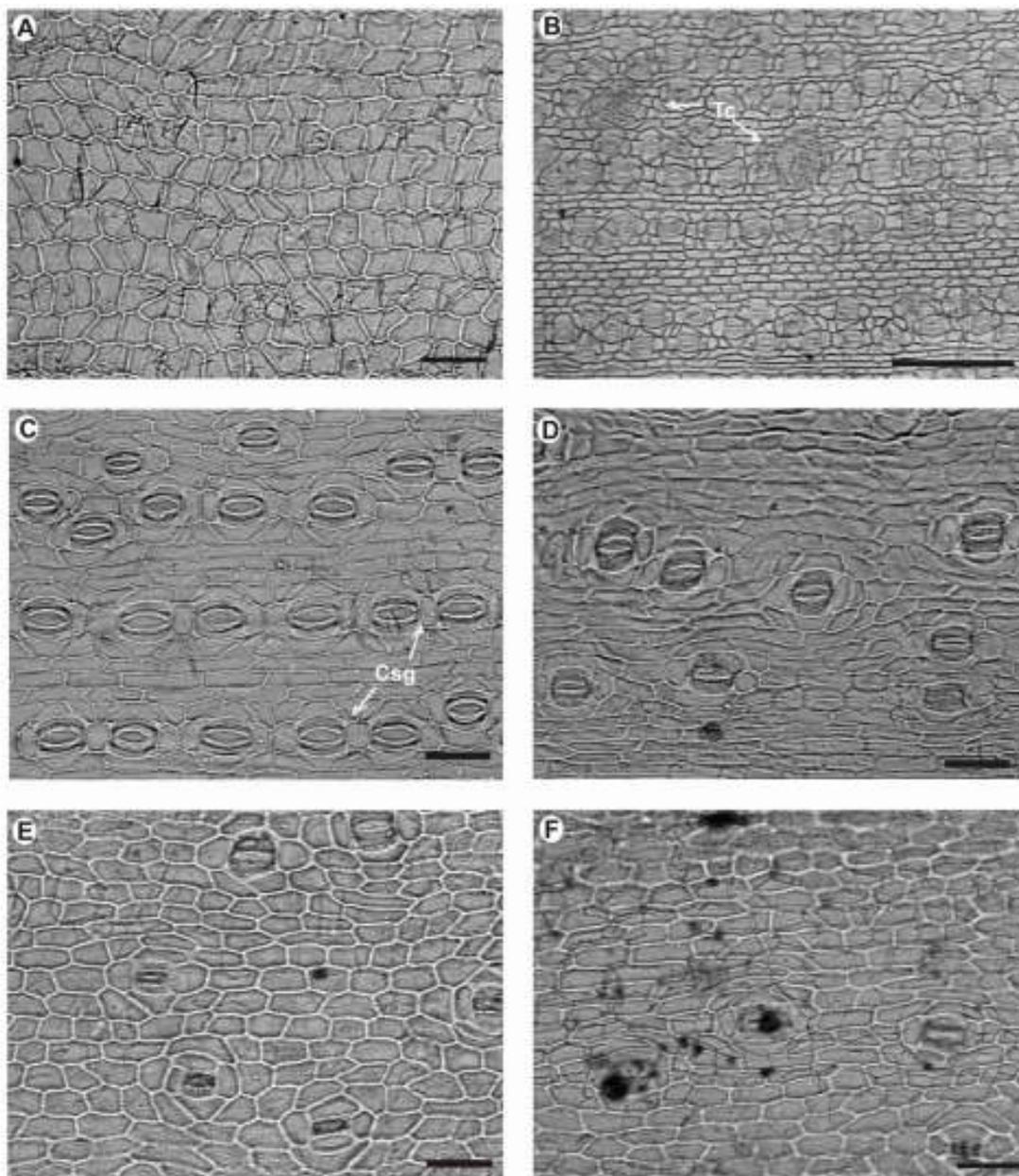


Figura 2: Vista frontal da superfície de folíolos de coqueiro ao microscópio óptico (MO). A) A: Vista geral da face adaxial da RMN. Bar = 100µm; B: Vista geral da face abaxial RMN. Bar = 200µm; C: Detalhe da face abaxial mostrando células subsidiárias geminadas. Bar= 100µm; D: Epiderme abaxial da nervura. Bar = 100µm; E: Vista geral da epiderme abaxial da nervura. Bar = 200µm F: Parte da epiderme que reveste a margem. Bar. = 100µm. Tc – tricoma, Csg – célula subsidiária geminada.

Na margem dos folíolos, estômatos tetracíticos, dispostos irregularmente e ao mesmo nível das demais células da epiderme, foram observados na densidade de  $46,70 \pm 3,40$  estômatos/mm<sup>2</sup>. O índice estomático nessa região foi de  $2,87 \pm 0,18\%$ . Estômatos dispostos em nível inferior ao das demais células epidérmicas foram também observados, mas raramente.

A presença de estômatos tetracíclicos é comum na família Arecaceae (Silva e Vilhena-Potiguara, 2008; Passos e Mendonça, 2006; Pérez e Rebollar, 2003). Algumas espécies dessa família apresentam estômatos localizados somente na superfície abaxial das folhas (Henderson, 2006), quando ocorrem em ambas às superfícies, são mais numerosos na abaxial (Chaimsohn et al., 2008; Silva e Vilhena-Potiguara, 2008; Passos e Mendonça, 2006). Os estômatos podem estar localizados em nível subepidérmico (Henderson, 2006), como em *Oenocarpus* (Silva e Vilhena-Potiguara, 2008) ou ao mesmo nível das demais células circunvizinhas (Passos e Mendonça, 2006), como ocorre nos folíolos de coqueiro.

Foram observados tricomas estrelados e pluricelulares na face abaxial RMN (Fig. 2B e 3), na face adaxial da nervura e na margem dos folíolos de coqueiro, na densidade de  $5,06 \pm 0,19$  tc.mm<sup>-2</sup>, de  $2,17$  tc.mm<sup>-2</sup> e de  $1,80$  tc.mm<sup>-2</sup>, respectivamente. Os tricomas são comumente encontrados em todas as partes das plantas (Esau, 1976), estando associados com a defesa contra insetos (Björkman et al., 2008), com a proteção da superfície foliar contra a radiação ultravioleta excessiva (Liakoura et al., 1997) e com a formação de uma barreira que diminui a perda de água (Guerfel et al., 2009). Os efeitos dos tricomas nos insetos predadores podem ser mecânicos ou químicos (Sunitha et al., 2008).

Tricomas de vários tipos podem ser encontrados na família Arecaceae (Henderson, 2006). Tricomas unicelulares, simples e longos foram verificados por Passos e Mendonça (2006) em *Mauritia flexuosa*. Já em *Oenocarpus*, os tricomas são tectores e multicelulares e possuem suas células basais constituídas por quatro a sete células com parede lignificada (Silva e Vilhena-Potiguara, 2008). Tricomas apresentando parede lignificada também são observados em espécies das tribos Brasseae, Areceae, Ceroxyleae e Hyophorbeae (Henderson, 2006).

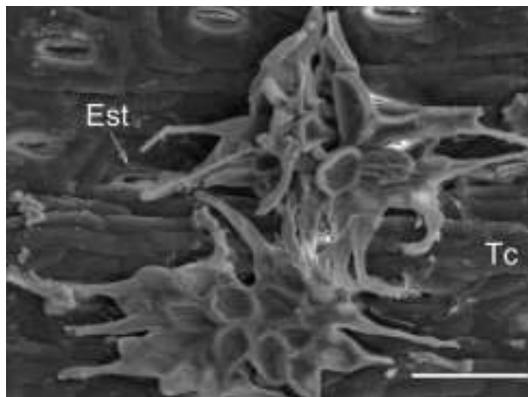


Figura 3: Tricomas estrelados (Tc) ao MEV. Est – estômatos, Bar = 50  $\mu\text{m}$ .

Secções transversais da lâmina foliar dos folíolos de coqueiro revelaram a presença de epiderme uniestratificada e revestida por cutícula espessa (Fig. 4A, 4B e 4C). Subjacente à epiderme na RMN, foram observadas duas a três camadas de células com formatos arredondados e tamanhos variados, entre as quais, constatou-se a presença de feixes de fibras de esclerênquima (Fig 4B). Essas células arredondadas podem corresponder à hipoderme ou à epiderme multiestratificada. A hipoderme é identificada em alguns membros da família *Arecaceae* (Pintaud et al., 2008; Henderson, 2006; Pérez e Rebollar, 2003). Em *Bactris gasipaes*, tecido hipodérmico é observado em ambas as faces das folhas (Chaimsohn et al., 2008). No entanto, para a determinação da hipoderme são necessários estudos ontogenéticos (Esau, 1974), que não foram realizados no presente trabalho. Por isso, esse tecido subepidérmico foi caracterizado aqui apenas como células arredondadas de tamanhos variados, sem defini-las como hipoderme ou epiderme multiestratificada.

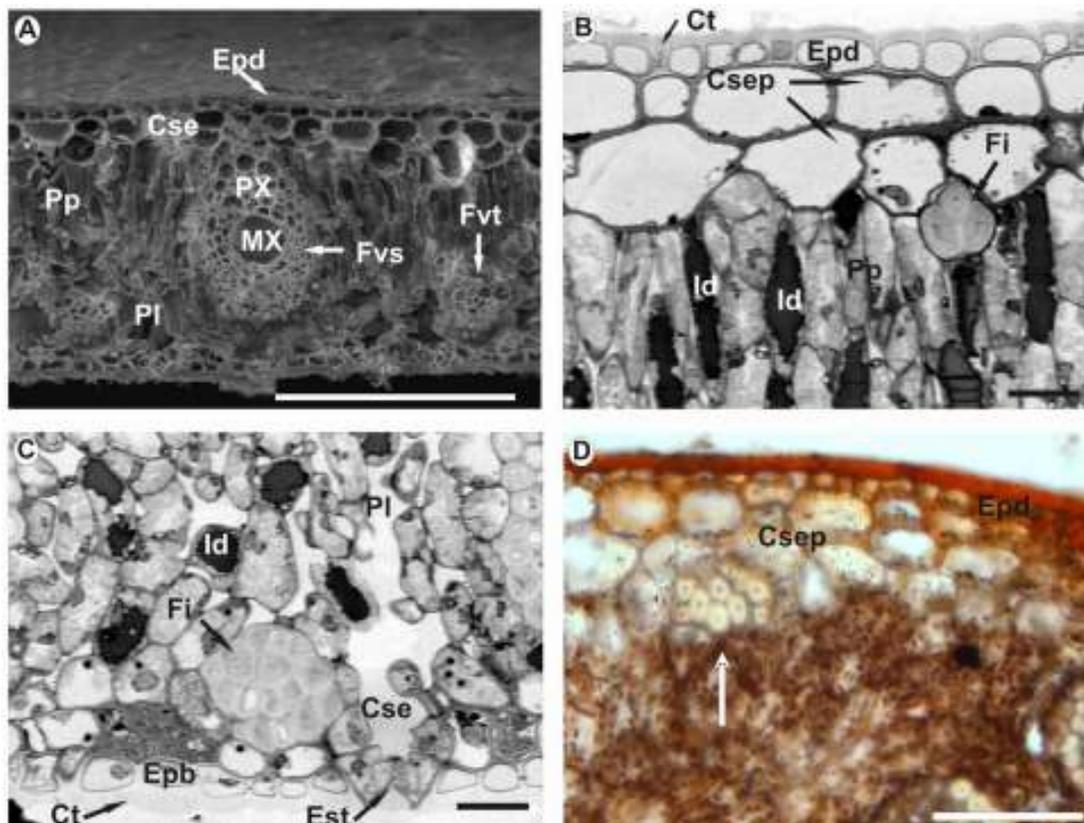


Figura 4: Secções transversais da região entre a margem e a nervura de folíolos, ao MEV (A) e ao MO (B – D): A: Vista geral do mesofilo. Bar = 200µm; B: Detalhe da face adaxial, com células epidérmicas unisseriadas e recobertas por cutícula lisa, e duas camadas de células subjacentes à epiderme. Bar = 20 µm; C: Detalhe da face abaxial, evidenciando a epiderme unisseriada, estômato ao mesmo nível das células circunvizinhas, células-guarda espessas e câmara subsidiária ampla. Bar = 20 µm; D: Fragmento em Sudan IV, evidenciando a presença de compostos lipofílicos na epiderme adaxial. A seta indica um feixe de fibras. Bar = 100µm; Pp – parênquima paliçadico; Pl – parênquima lacunoso; Fvs – feixe vascular secundário do folíolo; Fvt – feixe vascular terciário do folíolo; Epd – epiderme adaxial; Epb – epiderme abaxial; Id – idioblastos taníferos, Fi – feixes de fibras; Est – estômatos; PX – protoxilema; MX – metaxilema; Cse – câmara subestomática; Cep – cera epicuticular; Csep – células subjacentes à epiderme.

Compostos graxos foram encontrados na cutícula voltada para ambas as faces foliares e em menor quantidade nas paredes celulares de todos os outros tecidos (Fig. 4D).

O mesofilo dos folíolos do coqueiro apresentou-se em organização dorsiventral, sendo formado por duas ou três camadas de células de parênquima paliçádico e por quatro ou cinco de parênquima lacunoso (Fig. 5A). No parênquima paliçádico foram observadas células justapostas e alongadas. Já no parênquima lacunoso, constatou-se a presença de células sem um formato definido e com pequenos espaços intercelulares. Feixes de fibras esclerenquimáticas foram também evidenciadas no parênquima lacunoso, logo abaixo das células epidérmicas da face abaxial. Testes histoquímicos específicos, evidenciaram a presença de lignina em tais feixes. Fato esse, não observado nos feixes esclerenquimáticos situados entre as células subjacentes à epiderme da face adaxial (Fig. 5B).

Os feixes vasculares do tipo colateral foram observados nos folíolos de coqueiro. Na RMN foram constatados feixes vasculares secundários alternando-se com cerca de dois ou três de feixes terciários. Feixes quartanários foram também observados, mas raramente. Os feixes vasculares secundários, envoltos apenas por uma bainha esclerenquimática, acham-se posicionados ao longo do parênquima paliçádico e lacunoso (Fig. 5A). Nesses, constatou-se a presença de floema, frequentemente dividido em quatro estratos, voltado à face abaxial e meta e protoxilema à adaxial (Fig. 5C). Já os feixes vasculares terciários encontram-se distribuídos no parênquima lacunoso e são envoltos por uma bainha mista, uma bainha parenquimática incompleta (células da bainha do feixe) (Fig. 5D) e, mais internamente, exibem uma bainha esclerenquimática em diferentes estágios de lignificação (Fig.5B). Não foi possível distinguir meta e protoxilema nos feixes vasculares terciários e quaternários. Foi evidenciada a presença de feixes vasculares anastomosantes ligando os feixes vasculares.

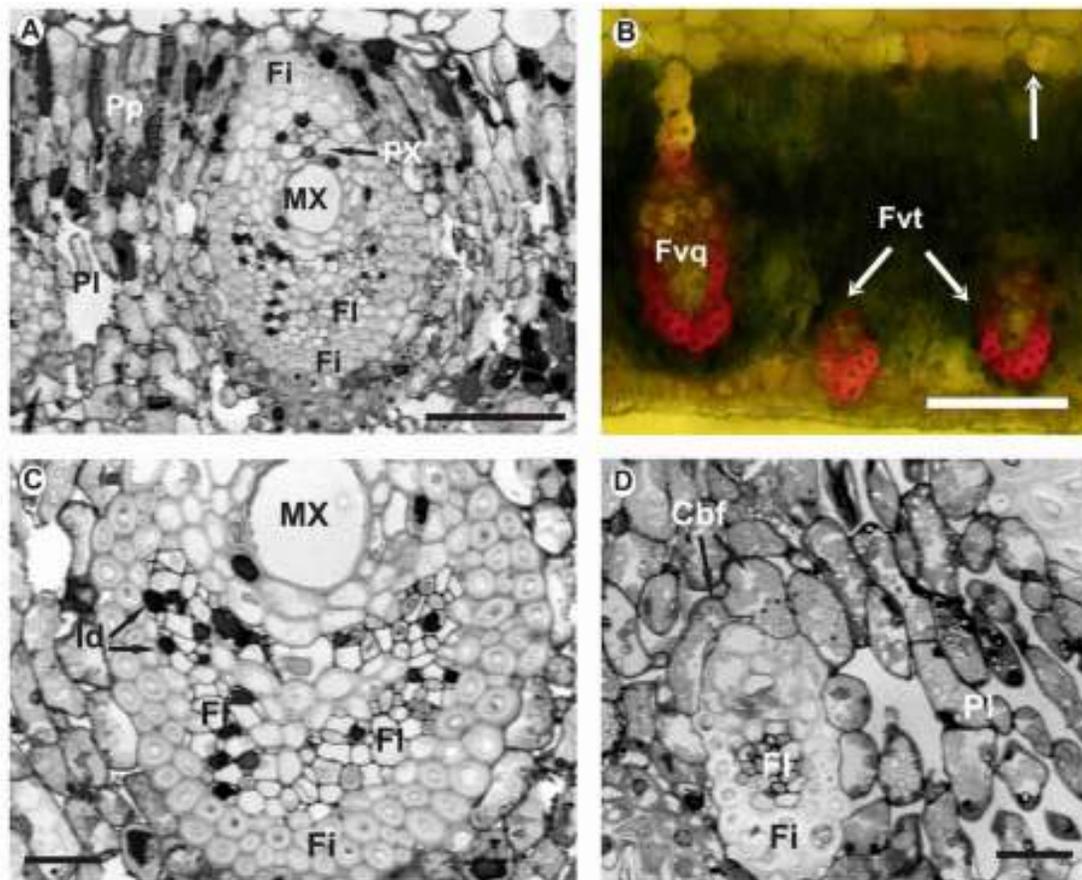


Figura 5: Secção transversal da RMN ao MO. A: Mesofilo detalhando um feixe vascular secundário. Bar = 100  $\mu$ m; B: Fragmento em fluoglucinol acidificado, evidenciando a presença de bainha esclerenquimática completa nos feixes vasculares de grande e pequeno porte. A seta indica a presença de um grupo de fibras sem deposição de lignina. Bar = 100 $\mu$ m; C: Detalhe de um feixe vascular secundário com idioblastos taníferos presentes no floema. Bar = 20  $\mu$ m; D: Feixe vascular terciário circundado por uma camada de bainha de feixe. Bar = 20  $\mu$ m. Pp – parênquima paliçádico; PI – parênquima lacunoso; Fvs – feixe vascular secundário; Fvt – feixe vascular terciário; Epd – epiderme adaxial; Epb – epiderme abaxial; PX – protoxilema; MX – metaxilema; FI – floema; Fi – fibra; Id – idioblasto tanífero.

A disposição do parênquima paliçádico e lacunoso no mesofilo acompanha o padrão dorsiventral de algumas espécies da família Arecaceae (Silva e Vilhena-Potiguara, 2008). Espécies pertencentes às tribos Caryoteae e Borasseae podem também apresentar mesofilo diferenciado em parênquima paliçádico e lacunoso (Henderson, 2006). No entanto, essa característica parece ser rara na família (Henderson, 2006).

Os feixes vasculares dos folíolos de coqueiro apresentam-se de forma semelhante aos descritos por Silva e Vilhena-Potiguara (2008) para *Oenocarpus bacaba*, *O. distichus*, *O. mapora* e *O. minor*. Floema dividido é uma característica das palmeiras (Henderson, 2006), sendo que, as plantas pertencentes à taxa Cocoeae, a mesma do coqueiro (Virtual Palm Encyclopedia, 2009), possuem floema dividido em quatro estratos (Henderson, 2006).

Idioblastos contendo compostos fenólicos (Fig. 6B), destacando-se aqui os compostos tânicos (Fig. 6A), foram evidenciados no parênquima paliçádico, no parênquima lacunoso, nos feixes vasculares e na nervura secundária, não sendo, contudo, observados na epiderme e nas células subjacentes à epiderme adaxial. De acordo com os testes histoquímicos específicos, não foram encontradas reações características de mucilagem em nenhum folíolo avaliado.

Os compostos fenólicos são um grande grupo de moléculas que possuem em comum um anel aromático portando uma ou mais hidroxilas funcionais (Taiz e Zeiger, 2004), sendo normalmente divididos em duas categorias: os pré-formados (constitutivos) e os pós-formados (induzíveis). Estes últimos são sintetizados pelas plantas em resposta a estresses bióticos ou abióticos (Treutter, 2006; Nicholson, 1992). Os fenóis possuem ação alelopática e estão envolvidos em muitos processos de proteção das plantas contra herbívoros, fitopatógenos e radiação ultravioleta excessiva (Treutter, 2006; Cooper-Driver e Bhattacharya, 1998; Nicholson, 1992).

Idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio em forma de ráfides foram evidenciados ao longo do mesofilo dos folíolos de coqueiro (Fig. 7). Esses cristais apresentam diversidade de formas e estruturas, sendo os tipos drusas, ráfides e estiloideos os mais encontrados em monocotiledôneas e, dentre esses, os cristais do tipo ráfides são os mais comuns (Prychid e Rudall, 1999).

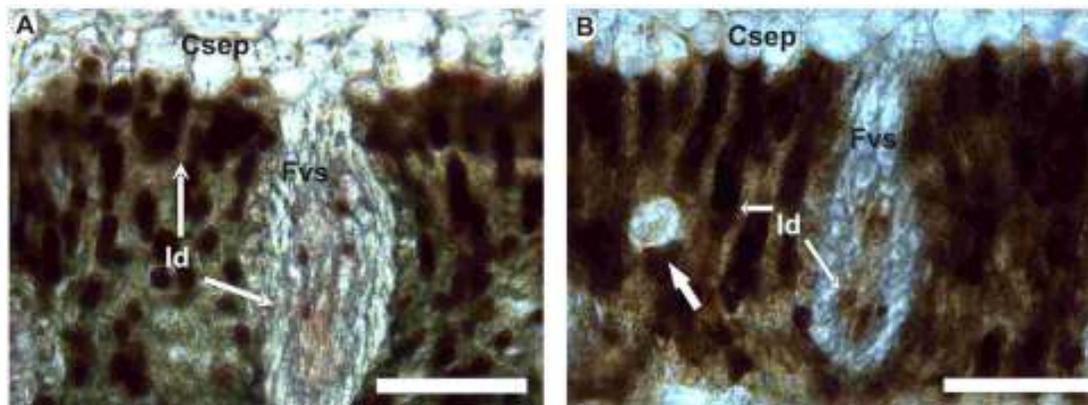


Figura 6: Testes histoquímicos. A: Fragmento em vanilina clorídrica, evidenciando a presença de idioblastos taníferos no parênquima paliçadico, no parênquima lacunoso e nos feixes vasculares secundários. Bar = 100µm; B: Fragmento em cloreto férrico, evidenciando a presença de idioblastos taníferos no parênquima paliçadico, no parênquima lacunoso e nos feixes vasculares secundários. A seta indica a presença de um idioblasto cristalífero. Bar = 100µm. Fvs – feixe vascular secundário; Fvt – feixe vascular terciário; Id – idioblasto; Csep – células subjacentes à epiderme.

Na família *Arecaceae*, a presença de ráfides é comum, podendo ser encontrados em órgãos reprodutivos e/ou vegetativos (Henderson, 2006; Zona, 2004; Henderson e Rodrigues, 1999). Idioblastos contendo cristais de oxalato de cálcio em forma de ráfides já foram evidenciados em folhas (Chaimsohn et al., 2008; Henderson, 2006), em flores (Henderson e Rodrigues, 1999), no estipe (Kikuchi et al., 2007) e em sementes (Neto et al., 2009) de algumas palmeiras. Em coqueiro, trabalhos anteriores já relataram tais estruturas nas sépalas das flores femininas e masculinas (Guevara e Jáuregui, 2008), na antera (Henderson e Rodrigues, 1999).

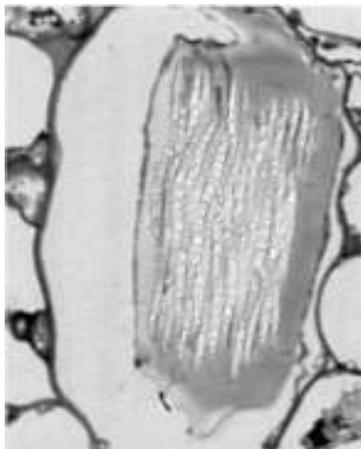


Figura 7: Secção longitudinal de um idioblasto contendo cristais de oxalato de cálcio do tipo ráfide ao MO. Nota-se que todos os cristais estão orientados para uma mesma direção.

Várias funções têm sido atribuídas à presença de cristais nos tecidos das plantas (Franceschi e Nakata, 2005; Nakata, 2003). Os idioblastos cristalíferos funcionam como um depósito de substâncias não utilizáveis pelas plantas ou que, sob determinadas concentrações, se tornariam tóxicas às células. A formação dos cristais de oxalato está associada, geralmente, com a redução do excesso de cálcio dos tecidos ou órgãos e com a tolerância das plantas a metais pesados, como por exemplo, o alumínio (Franceschi e Nakata, 2005; Nakata, 2003). Adicionalmente, quando a concentração celular de Ca está baixa, esses cristais podem se dissolver, servindo, assim, como fonte de cálcio ou oxalato de cálcio para as células (Franceschi e Nakata, 2005).

Vários estudos relacionam a presença de idioblastos cristalíferos com a proteção das plantas contra herbivoria (Franceschi e Nakata, 2005; Nakata, 2003; Ruiz et al., 2002; Molano-Flores, 2001). Os cristais podem danificar o aparelho bucal, dificultar a digestão do inseto ou alterar a palatabilidade das plantas (Korth et al., 2006; Franceschi e Nakata, 2005). Cristais de oxalato de cálcio também têm implicações taxonômicas (Zona, 2004) e estão associados com o processo de dissipação do excesso de radiação solar em dias muito ensolarados (Franceschi, 2001). Em plantas estressadas, por ataque de insetos ou por fitopatógenos, pode ocorrer aumento na concentração de cristais de oxalato de cálcio nos seus tecidos ou órgãos (Celta et al., 2007; Molano-Flores, 2001). No patossistema *Moniliophthora perniciosa*/cacaueiro, por exemplo, embora os

cristais de oxalato de cálcio estejam normalmente presentes nos tecidos do cacauero, durante o processo de colonização de *M. pernicioso* ocorre um pronunciado acúmulo desses cristais nos tecidos infectados, principalmente, nos estágios iniciais de colonização (Celta et al., 2007).

Secções transversais da margem dos folíolos revelaram a presença de uma camada de células epidérmicas e duas a três camadas de células subjacentes à epiderme, com características semelhantes às observadas e descritas para a RMN (Fig. 8A). Já na nervura principal dos folíolos (Fig. 8B), subjacentemente à epiderme na face adaxial, foram observadas duas a três camadas de parênquima, sob as quais se formam vários estratos de esclerênquima, que circundam toda a nervura primária (Fig. 8C). No interior da nervura primária estão presentes vários feixes vasculares colaterais circundados por bainha esclerenquimática, cujos elementos principais são os vasos do metaxilema, vasos do protoxilema e vasos do floema. Entre tais feixes vasculares, encontra-se o tecido parenquimático. Idioblastos fenólicos foram evidenciados nos feixes vasculares e entre as células parenquimáticas.

Algumas espécies da família Arecaceae exibem margem composta apenas por células parenquimáticas, sem a presença de feixes vasculares, outras, no entanto, apresentam apenas feixes esclerenquimáticos ou camadas de fibras (Henderson, 2006). Grupos de fibras subepidérmicos, não associados aos feixes vasculares, são também observados nos folíolos de coqueiro e em outros membros da família (Henderson, 2006). As fibras, associadas ou não aos feixes vasculares, conferem sustentação e dureza às folhas (Esau, 1976).

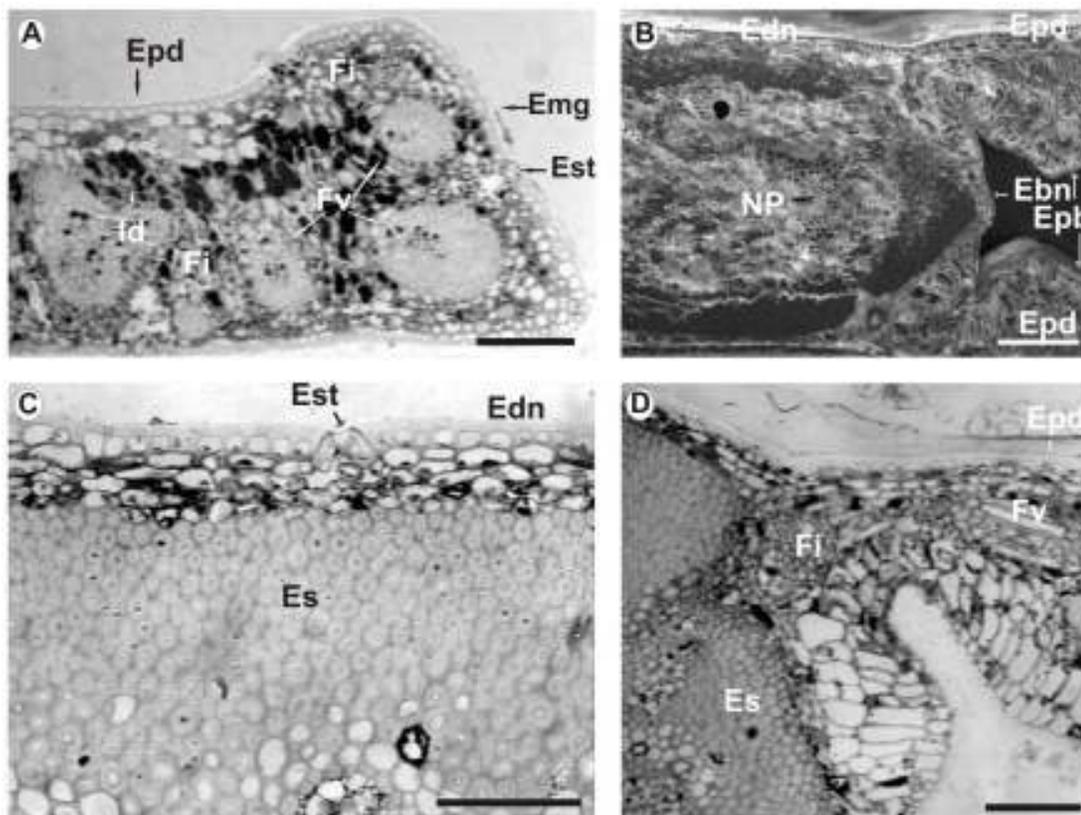


Figura 8: A: Vista geral da margem dos folíolos em secção transversal ao MO. Bar = 100  $\mu\text{m}$ ; B: Vista geral da nervura secundária em secção transversal ao MEV. Bar = 200 $\mu\text{m}$ ; C: Detalhe da epiderme adaxial da nervura secundária ao MO, evidenciando um estômato no mesmo nível das células circunvizinhas, epiderme unisseriada, duas a três camadas de células parenquimáticas e vários estratos de esclerenquima. Bar = 100  $\mu\text{m}$ ; D: Detalhe da região de contato da nervura com o limbo foliar ao MO, evidenciando as células buliformes. Bar = 100 $\mu\text{m}$ . Epd – epiderme adaxial; Est – estômato; Emg – células epidérmicas que revestem a margem; Fv – feixe vascular; Fi – fibra; Id – idioblasto; Epd – epiderme adaxial; Epb – epiderme abaxial; Ebn – epiderme abaxial da nervura primária; Edn – epiderme adaxial da nervura primária; Ebn – epiderme abaxial da nervura; Est – estômatos; X – xilema; Fl – floema; Fi – fibra; Es – esclerênquima; NS – nervura secundária.

O limite entre os tecidos da nervura secundária e da lâmina foliar foi caracterizado pelo estreitamento do limbo foliar, pela interrupção das células do parênquima lacunoso e pela ocorrência de cerca de cinco estratos de células buliformes subjacentes à epiderme abaxial (Fig. 8D). As células buliformes foram caracterizadas como células grandes, de formato arredondado ou retangular e de paredes espessas. Adjacente às células buliformes constatou-se a presença de feixes de fibras com parede lignificada. Essas células estão relacionadas com o enrolamento e dobramento das folhas (Esau, 1972).

## RESUMO E CONCLUSÕES

No presente trabalho, descreveram-se aspectos da anatomia e histoquímica de folíolos de coqueiro com auxílio da microscopia eletrônica de verredura e da microscopia óptica. As características anatômicas e histoquímicas encontradas nos folíolos de coqueiro refletiram as características gerais das espécies da família *Arecaceae*, destacando-se a presença de estômatos tetracíclicos, tricomas estrelados, ceras epicuticulares do tipo placa e a presença constante de idioblastos contendo cristais de ráfides e de idioblastos taníferos. Do exposto, tais informações poderão servir de base para direcionamentos de estudos posteriores, especialmente os voltados para a interação planta/patógeno. Nesse sentido, destaca-se que o conhecimento do tecido assintomático foi fundamental para a caracterização do processo de colonização dos fungos *Camarotella torrendiella* e *C. acrocomae*, agentes causais da lixa-pequena e da lixa-grande do coqueiro, respectivamente.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Agrios, G. N. (2004) *Plant Pathology*. 5<sup>a</sup> ed. Florida: Academic Press. 922p.
- Björkman, C., Dalin, P. e Ahrné, K. (2008) Leaf trichome responses to herbivory in willows: induction, relaxation and costs. *New Phytologist*, 179: 176–184.
- Carrijo, O.A., Liz, R.S. e Makishima, N. (2002) Fibra da casca do coco verde como substrato agrícola. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 20 (4): 533-535.
- Ceita, G.D.O., Macêdo, J.N.A., Santos, T.B., Alemanno, L., Gesteira, A.S., Micheli, F., Mariano, A.C., Gramacho, K.P., Silva, D.C., Meinhardt, L., Mazzafera, P., Pereira, G.A.G. e Cascardo, J.C.M. (2007) Involvement of calcium oxalate degradation during programmed cell death in *Theobroma cacao* tissues triggered by the hemibiotrophic fungus *Moniliophthora pemiciosa*. *Plant Science*, 173: 106-117.
- Chaimsohn, F.P., Montiel, M., Villalobos, E. e Urpí, J.M. (2008) Anatomía micrográfica del folíolo de la palma neotropical *Bactris gasipaes* (Arecaceae). *Revista de biología tropical*, v. 56:951-959.
- Cooper-Driver, G.A. e Bhattacharya, M. (1998) Role of phenolics in plant evolution. *Phytochemistry*, 38: 1165-1174.
- Croxdale, J. (1998) Stomatal patterning in monocotyledons: Tradescantia as a model system. *Journal of Experimental Botany*, 49: 279–292.
- Etuk, S.E., Akpabio, L.E. e Akpabio, K.E. (2005) Determination of thermal properties of *Cocos nucifera* trunk for predicting temperature variation with its thickness. *The Arabian Journal for Science and Engineering*, 30: 121-126.
- Fontes, H.R. e Wanderley, M. (2006) Situação atual e perspectivas para a cultura do coqueiro no Brasil. Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 16p. (Documentos/Embrapa Tabuleiros Costeiros, 94).
- Franceschi, V. (2001) Calcium oxalate in plants. *TRENDS in Plant Science*, 6: 331. 2001.
- Franceschi, V.R. e Nakata, P.A. (2005) Calcium Oxalate in Plants: Formation and Function. *Annual Review of Plant Biology*, 56: 41-71.
- Guerfel, M., Baccouri, O., Boujnah, D. Chaïbi e Zarrouk, M. (2009) Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*. 119: 257-263.

- Guevara, L. e Jáuregui, D. (2008) Anatomía floral de *Cocos nucifera* L. (Arecaceae, arecoideae). *Acta Botánica Venezuelica*, 31 (1): 35-48.
- Gutiérrez Cuenca, M.A. e Siqueira, L.A. (2003) Aspectos econômicos da cocoicultura. In: Ferreira, J.M.S, Fontes, H.R., Ribeiro, F.E. e Fernandes, M.F. *Coco: Produção. Aspectos Técnicos*. Embrapa/CPATC, Embrapa Informações tecnológicas, Brasília, DF, p. 11-13.
- Gutschick, V. (1999) Research reviews biotic and abiotic consequences of differences in leaf structure. *New Phytologist*, 143: 3-18.
- Hanley, M.E., Lamont, B.B., Fairbanks, M.M. e Rafferty, C.M. (2007) Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 8: 157–178.
- Henderson, F.M. (2006) Morphology and anatomy of palm seedlings. *The Botanical Review*. 72(4): 273-329.
- Herderson, A. e Rodrigues, D. (1999) Raphides in palm anthers. *Acta Bot. Venez.* 22(1): 45-55. 1999.
- Janes, H.G. (1998) Stomatal control of photosynthesis and transpiration. *Journal of Experimental Botany*, 49: 387–398.
- Kakani, V.G., Reddy, K.R., Zhao, D. e Mohammed, A.R. (2003) Effects of ultraviolet-B radiation on Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) morphology and anatomy. *Annals of Botany*, 91:817-826.
- Kikuchi, T.Y.P., Potiguara, R.C.V. e Santos, P.P. (2007) Caracterização istoquímica e ultra-estrutural do estipe de *Socratea exorrhiza* (Mart.) H. Wendl. (Arecaceae). *Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Ciências Naturais*, 2(2): 61-68.
- Korth, K.L., Doege, S.J., Park, S.H. Goggin, F.L. Wang, Q., Gomez, S.K., Liu, G., Jia, L. e Nakata, P.A. (2006) *Medicago truncatula* mutants demonstrate the role of plant calcium oxalate crystals as an effective defense against chewing insects. *Plant Physiology*, 141: 188-195.
- Kunst, L. e Samuels, A.L. (2003) Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax. *Progress in Lipid Research*, 42: 51–80.
- Liakoura, V. Stefanou, M., Manetas, Y., Cholevas, C. e Karabourniotis, G. (1997) Trichome density and its UV-B protective potential are affected by shading and leaf position on the canopy. *Environmental and Experimental Botany*, 38: 223-229.
- Lorenzi, H., Souza, H.M. de, Costa, J.T. de M., Cerqueira, L.S.C. de, Ferreira, E. (2004) *Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 432p.

- Lux, A., Luxová, M., Hattori, T., Inanaga, S., e Sugimoto, Y. (2002) Silicification in sorghum (*Sorghum bicolor*) cultivars with different drought tolerance. *Physiologia Plantarum*, 115: 87–92.
- Macedo, E.G., Santos Filho, B.G., Potiguara, R.C.V. e Santos, D.S.B. (2005) Anatomia e arquitetura foliar de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Araceae) espécie da várzea Amazônica. *Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi, ser. Ciências Naturais*, Belém 1(1): 19-43.
- Molano-Flores, B. (2001) Herbivory and calcium concentrations affect calcium oxalate crystal formation in leaves of *Sida* (Malvaceae). *Annals of Botany*, 88: 387-391.
- Nakata, P.A. (2003) Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. *Plant Science*, 164: 901-909.
- Neto, M.A.M., Conceição, A.C., Mendes, A.S., Costa, R.C.L. e Lobato, A.K.S. (2009) Accumulation of raphides crystals in *Euterpe oleracea* Mart. embryo. *Research Journal of Botany*, 4 (1): 40-47.
- Nicholson, R.L. (1992) Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 30: 369-389.
- Passos, M.A. e Mendonça, M.S. (2006) Epiderme dos segmentos foliares de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) em três fases de desenvolvimento. *Acta Amazônica*, v. 36: 431-436.
- Pérez, M. e S. Rebollar. (2003) Anatomía y usos de las hojas maduras de tres especies de *Sabal* (Arecaceae) de la Península de Yucatán, México. *Rev. Biol. Trop.* 51: 333–344.
- Pintaud, J.C., Millán, B. e Kahn, F. (2008) The genus *Hexopetion* Burret (Arecaceae). *Rev. Peru. Bot.* 15(supl. 1): 49-54.
- Prychid, C.J. e P.J. Rudall. (1999) Calcium oxalate crystals in monocotyledons: a review of their structure and systematics. *Annals of Botany*, 84: 725 - 739.
- Prychid, C.J., Rudall, P.J. e Gregory, M. (2004) Systematics and biology of silica bodies in Monocotyledons. *The Botanical Review*, 69:377-440.2004.
- Ruiz, N., Ward, D. e Saltz, D. (2002) Calcium oxalate crystals in leaves of *Pancratium sickenbergeri*: constitutive or induced defence? *Funcional Ecology*, 16: 99-105.
- Silva, R.J.F. e Potiguara, R.C.V. (2008) Aplicações taxonômicas da anatomia foliar de espécies amazônicas de *Oenocarpus* Mart. (Arecaceae). *Acta Botânica Brasileira*, 22(4):999-1014.
- Stauffer, F.W., C.B. Asmussen, A. Henderson e P.K., Endress. (2003) A revision of *Asterogyne* (Arecaceae: Arecoideae: Geonomeae). *Brittonia* 55: 326–356.

- Sunitha, V., Ranga Rao, G.V., Lakshmi, K.V., Saxena, K.B., Rao, V.R. e Reddy, Y.V.R. (2008) Morphological and biochemical factors associated with resistance to *Maruca vitrata* (Lepidoptera: Pyralidae) in short-duration pigeonpea. *International Journal of Tropical Insect Science*, 28: 45-52.
- Tay, A.C. e Furukawa, A. (2008) Variations in leaf stomatal density and distribution of 53 vine species in Japan. *Plant Species Biology*, 23: 2-8.
- Treutter, D. (2006) Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environ. Chem. Lett.*, 4:147–157.
- Tucci, M.L.A., Bovi, M.L.A., Machado, S. e Spiering, S.H. (2000) Stomatal frequency and size in leaves of peijibaye (*Bactris gasipaes* Kunth). *Acta Hort.*, 516: 145–154.
- Virtual Palm Encyclopedia, In: [www.plantapalm.com/vpe/vpe\\_index.htm](http://www.plantapalm.com/vpe/vpe_index.htm). Acesso em 23-01-2009.
- Zona, S. (2004) Raphides in palm embryos and their systematic distribution. *Annals of Botany*, 93: 415 - 421.

### **3.2. CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE COLONIZAÇÃO DE *Camarotella torrendiella* e *Camarotella acrocomiae* EM FOLÍOLOS DE COQUEIRO**

#### **RESUMO**

Os fungos *Camarotella torrendiella* e *Camarotella acrocomiae* causam no coqueiro as doenças conhecidas como lixa-pequena e lixa-grande, respectivamente. Esses patógenos são encontrados em praticamente todas as regiões produtoras de coco do Brasil, estando associados à redução da produtividade da cultura. Com o objetivo de caracterizar o processo de colonização de *C. torrendiella* e de *C. acrocomiae* em folíolos de coqueiro, amostras de folíolos assintomáticos e com estromas da lixa-pequena e da lixa-grande em diferentes estádios de desenvolvimento foram fixados, desidratados e incluídos em resina. Secções transversais e longitudinais desse material foram analisadas ao microscópio óptico. Os sinais formados por esses fungos nos folíolos de coqueiro foram similares, sendo caracterizados pela formação de picnídios e de peritécios. A colonização de *C. torrendiella* se concentrou inicialmente nas células da epiderme e nas células subjacentes à epiderme adaxial. Posteriormente, uma série de transformações ocorreu nas células do mesofilo, culminando na necrose dos tecidos subjacentes e adjacentes aos estromas da LP. Hifas de *C. torrendiella* foram identificadas nas células do

mesofilo apenas na região em colapso. Aparentemente, *C. torrendiella* está envolvido diretamente na necrose dos folíolos de coqueiro, observados ao redor dos estromas da LP. Em contraste, hifas de *C. acrocomiae* foram evidenciadas principalmente nas células do floema. Necrose dos tecidos ao redor dos estromas da lixa-grande foi raramente constatada. Esse fungo, aparentemente, afeta penas o transporte de fotoassimilados nas regiões próximas aos estromas da lixa-grande.

Palavras-chave: lixa-pequena, lixa-grande, coqueiro, interação planta-patógeno

### **CHARACTERIZATION OF *Camarotella torrendiella* AND *Camarotella acrocomiae* COLONIZATION PROGRESS IN COCONUT LEAFLETS**

#### **ABSTRACT**

On coconut the fungi *Camarotella torrendiella* and *Camarotella acrocomiae* cause the diseases known as “lixa-pequena” and “lixa-grande”, respectively. These pathogens occur in almost all coconut producing areas in Brazil, being associated to a decrease of the culture productivity. Aiming to characterize *C. torrendiella* and *C. acrocomiae* colonization progress in coconut leaflets, samples of asymptomatic and diseased leaflets, in distinct development stages were fixed, dehydrated and embedded in resin. Transverse and longitudinal sections of those material were analyzed on light microscope. The signs formed by these fungi on coconut leaflets were similar, being characterized by pycnidia and perithecia formation. The *C. torrendiella* colonization was initially concentrated on epidermal cells and in those cells underlying the adaxial epidermis. Subsequently, a set of transformations occurred on mesophyll cells, culminating in necrosis of the adjacent and subjacent stroma tissue of the LP. *C. torrendiella* hyphae were identified on mesophyll cells only on the colapsed region.

Apparently, *C. torrendiella* is directly linked to coconut leaflets necrosis observed surrounding LP stromas. For another hand, hyphae of *C. acrocomiae* were in evidence mainly in phloem cells. It was rarely noticed necrosis on those tissues surrounding stromas of “lixa-grande”. This fungus, apparently, affects only the photoassimilates transport on the regions close to stromas of “lixa-grande”.

Key-words: “lixa-pequena”, “lixa-grande”, coconut, plant-pathogen interaction

## INTRODUÇÃO

A lixa-pequena (LP), causada pelo fungo *Camarotella torrendiella* (Batista) Bezerra e Vitória (sin.: *Phyllachora torrendiella* (Batista) Subileau), e a lixa-grande (LG), causada pelo fungo *C. acrocomiae* (Montagne) Hyde e Cannon (sin.: *Sphaerodothis acrocomiae* (Montagne) Arx e Müller) (Vitória et al., 2008; Hyde e Cannon, 1999; Subileau et al., 1993), ocorrem no Brasil em praticamente todos os locais onde o coqueiro é cultivado (Vitória et al., 2008; Warwick e Leal, 2003). Esses fungos pertencem ao filo Ascomycota, ordem Phylachorales e família Phylachoraceae (Index Fungorum, 2009). Além do Brasil, as lixas também foram relatadas em Cuba, Chile, Guiana Francesa e Paraguai (Hyde e Cannon, 1999).

Plantas de coqueiro severamente atacadas apresentam desfolha precoce, comprometendo o desenvolvimento normal dos frutos. Os danos ao coqueiro se tornam maiores quando as lixas são associadas à queima-das-folhas (Warwick e Leal, 2003; Mariano, 1997). Acredita-se que as estruturas estromáticas formadas por *C. torrendiella* e *C. acrocomiae* sirvam de porta de entrada para *Lasiodiplodia theobromae*, agente causal da queima-das-folhas do coqueiro (Mariano, 1997).

As espécies do gênero *Camarotella* caracterizam-se por formar estromas negros, pulvinados, carbonáceos, irrompentes, ásperos e visíveis a olho nu. Tais estruturas são formadas em fileiras paralelas. Na fase anamórfica há formação de picnídios estromáticos, dentro dos quais, observam-se conídios filiformes, hialinos e comumente encurvados de forma helicoidal ou sigmóide. A fase teleomórfica

caracteriza-se pela formação de peritécios imersos em tecido estromático. Dentro dos peritécios ocorre uma camada basal uniforme de ascos unitunicados, entremeados por paráfises filiformes e hialinas. Os ascos são cilíndricos ou cilindro-clavados, com ou sem anel apical (Vitória et al., 2008; Souza et al., 2008; Hyde e Cannon, 1999). *C. torrendiella* produz ascósporos hialinos, monósticos a dísticos, sub-fusóides a elipsóides, de pólos subagudos e envoltos em uma matriz mucilaginosa. Já os ascósporos de *C. acrocomiae* são unicelulares, dísticos, elipsóides, com extremidades obtusas e coloração escura (castanho-claro a castanho-escuro), sendo também envoltos por uma matriz mucilaginosa (Vitória et al., 2008).

No coqueiro, os sintomas da LP são observados nos folíolos, na ráquis, nos pedúnculos florais e nos frutos, apresentando-se, inicialmente, na forma de um amarelecimento ao redor dos estromas, progredindo-se em seguida para necrose dos tecidos da planta de forma elíptica a losangular, os quais se expandem formando grandes áreas necróticas (Vitória et al., 2008; Warwick e Leal, 2003). Já os sintomas da LG manifestam-se apenas nos folíolos e na ráquis (Vitória et al., 2008). Raramente observa-se necrose dos folíolos ao redor dos estromas da LG (Mariano, 1997).

As espécies carecem de descrição mais precisa e detalhada dos aspectos morfológicos e anatômicos da interação coqueiro/*C. torrendiella* e coqueiro/*C. acrocomiae*. Assim, os objetos do presente trabalho foram caracterizar o processo de colonização e as alterações estruturais provocadas por esses fungos nos folíolos de coqueiro.

## MATERIAL E MÉTODOS

Folíolos com sintomas da lixa-pequena (LP) e da lixa-grande (LG) foram coletados de plantas de coqueiro da variedade anã, cultivadas no campus experimental do Colégio Agrícola (21°42'59" S e 41°20'33" W), Campos dos Goytacazes, RJ. Em seguida, os folíolos foram levados ao laboratório, onde foram selecionados fragmentos foliares que apresentavam estromas da LP e da LG em

diferentes estágios de desenvolvimento. No caso da lixa-pequena, foram amostrados estromas até o início da necrose dos tecidos do hospedeiro. Folíolos de coqueiro assintomáticos foram utilizados como controle. Os fragmentos foliares com sintomas da LP e da LG foram fotografados a fim de se fazer uma associação entre os sintomas observados com as estruturas fúngicas formadas, o processo de colonização dos tecidos e as alterações histológicas decorrentes.

Os fragmentos foliares foram colocados em tubos de microcentrifuga de 200 ml, contendo solução aquosa fixadora de 2,5% de glutaraldeído (v/v) e 4,0% de formaldeído (v/v), diluídos em tampão Pipes a 1% (v/v). Esses recipientes foram estocados em geladeira a 4 °C até o início do preparo das amostras para a microscopia óptica.

Para as preparações histológicas, o material fixado foi lavado três vezes em solução tampão Pipes a 1% (v/v), por 1h cada. Após a lavagem, o material foi desidratado em uma série aquosa crescente de etanol: 30%, 50%, 70%, 90%, 100%. Os fragmentos permaneceram por 1 h em cada concentração. Após a desidratação, os fragmentos foram submetidos progressivamente à infiltração em série crescente (25%, 50%, 75% e 100%) da resina UNICRYL<sup>®</sup> diluída em etanol a 100 %. Os fragmentos permaneceram durante 24h em cada etapa. Esse material, após ser incluído em resina pura, foi colocado em estufa a 60°C, durante 12 horas, para a polimerização da resina. Do material polimerizado, foram obtidos cortes semifinos com espessura de 0,5 µm utilizando-se um ultramicrótomo (Reichert Ultracut S<sup>®</sup>), equipado com navalha de diamante. Esses cortes foram aderidos em laminas de vidro, corados com solução aquosa de Azul de Toluidina a 1,0% acrescida de 0,1% de sulfato de Boro e observados ao microscópio de luz.

Procedeu-se à obtenção das imagens sob microscópio óptico Axioplan Zeiss, equipado com câmera ZVS – Zeiss, acoplado ao sistema AnalySIS<sup>®</sup>/Soft Imaging System.

## RESULTADOS

Os primeiros sinais da LP nos folíolos de coqueiro caracterizaram-se pela formação de picnídios (Fig. 1A e 1B). Estes foram observados principalmente na superfície adaxial dos folíolos. Nessa fase, hifas de *C. torrendiella* foram evidenciadas apenas nas células epidérmicas e nas células subjacentes à epiderme adaxial (CSEP) (Fig. 1C e 1D). As células infectadas apresentavam-se desorganizadas, sem conteúdo celular e com todos os espaços intracelulares totalmente tomados por hifas do fungo. Já nas células do parênquima paliçádico e lacunoso, subjacentes e adjacentes aos picnídios, não foi constatada a presença de hifas. Essas células não apresentavam sinal de desorganização celular, possuindo vacúolo, núcleo e cloroplastos aparentemente intactos (Fig. 1D). Não foi possível discernir, através de observações ao microscópio óptico, a presença de haustório ou de hifas de infecção em nenhum tecido do coqueiro (Fig. 1E e 1F).

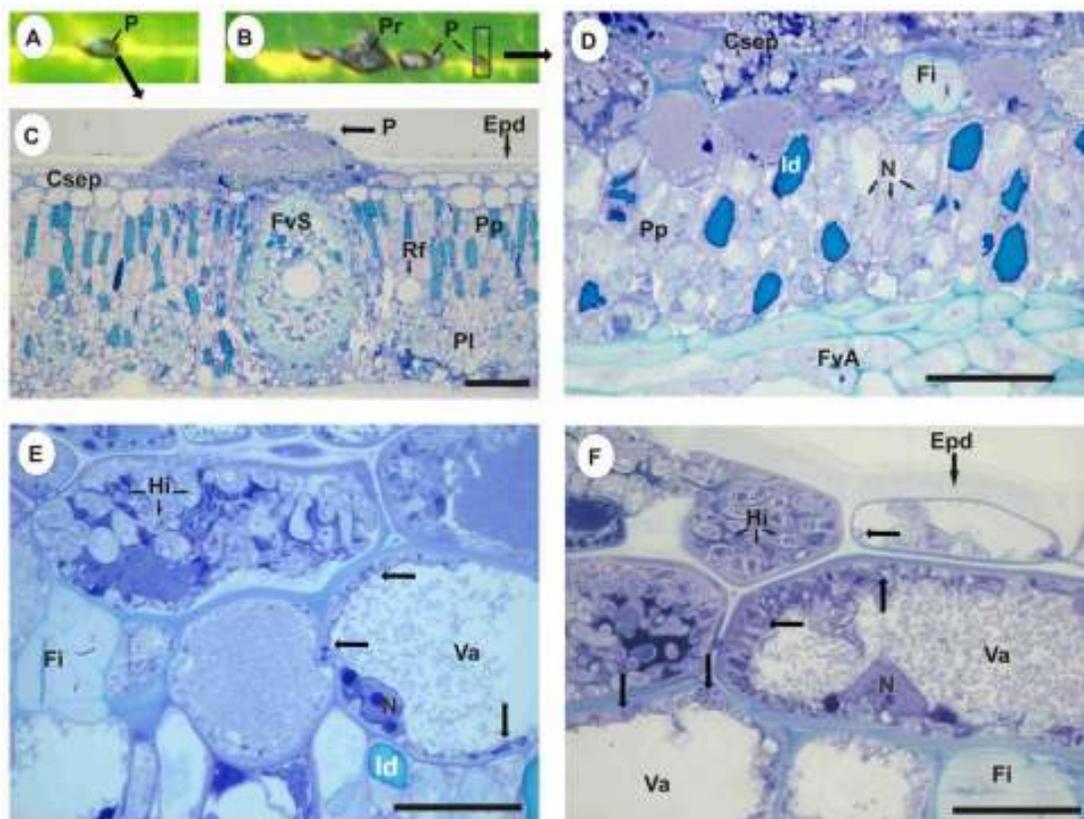
Com o desenvolvimento dos sintomas da LP (Fig. 2A), houve rompimento da epiderme e teve início a formação dos peritécios estromáticos, subjacentemente aos picnídios (Fig. 2B). Mesmo após a maturação dos peritécios, constatou-se ainda a presença de picnídios sobre tais estruturas.

Com o desenvolvimento e a maturação dos peritécios, transformações drásticas começaram a ocorrer nas células do mesofilo. Tais transformações foram detectadas inicialmente nas células do parênquima paliçádico subjacentes aos estromas, sendo caracterizadas pela desorganização celular e pelo acúmulo nos espaços extracelulares de um material fortemente corado com azul de toluidina. Hifas foram identificadas no parênquima paliçádico somente na região em colapso, principalmente nos espaços intracelulares (Fig. 2C).

Finalmente, nos estágios mais avançados de desenvolvimento dos estromas da LP, todos os espaços intercelulares, subjacentes e adjacentes aos estromas, apresentavam-se densamente corados (Fig. 2D). Detectou-se aumento na concentração de hifas na região em colapso, principalmente nos espaços intracelulares (Figs. 2E e 2F). Muitas células apresentaram parede celular

completamente destruída. Esse modelo de desorganização celular coincidiu com a ocorrência dos sintomas macroscópicos de necrose dos tecidos do hospedeiro ao redor dos estromas, característicos da LP.

A formação dos picnídios e peritécios, tanto da lixa-pequena e quanto da lixa-grande foi sempre associada à presença de um feixe vascular. Contudo, não foi evidenciada a presença de hifas de *C. torrendiella* nas células do floema e do xilema dos folíolos infectados, mesmo após o colapso de todo o tecido colonizado (Fig. 2D).



Figuras 1: Fragmentos de folíolos de coqueiro apresentando sintomas iniciais da lixa-pequena (A e B) e secções transversais desses fragmentos ao MO (C – F). C): Secção transversal evidenciando a presença do picnídio e o crescimento micelial apenas nas células epidérmicas e nas células subjacentes à epiderme adaxial. Bar. 100  $\mu$ m. D): Detalhe das células do mesofilo subjacentes ao picnídio. Bar. 50  $\mu$ m. E e F): Células apresentando início da colonização. As setas indicam a presença de hifas. Bar. 20  $\mu$ m. P – picnídio; Pr – peritécio; Epd – epiderme adaxial; Csep – células subjacentes à epiderme adaxial; FvS – feixe vascular secundário; PP – parênquima paliçádico; PI – parênquima lacunoso; Rf – ráfide; Hi – hifas; Fi – fibras; Va – vacúolo; Id – idioblasto tanífero; N – núcleo; FvA – feixe vascular anastomosante.

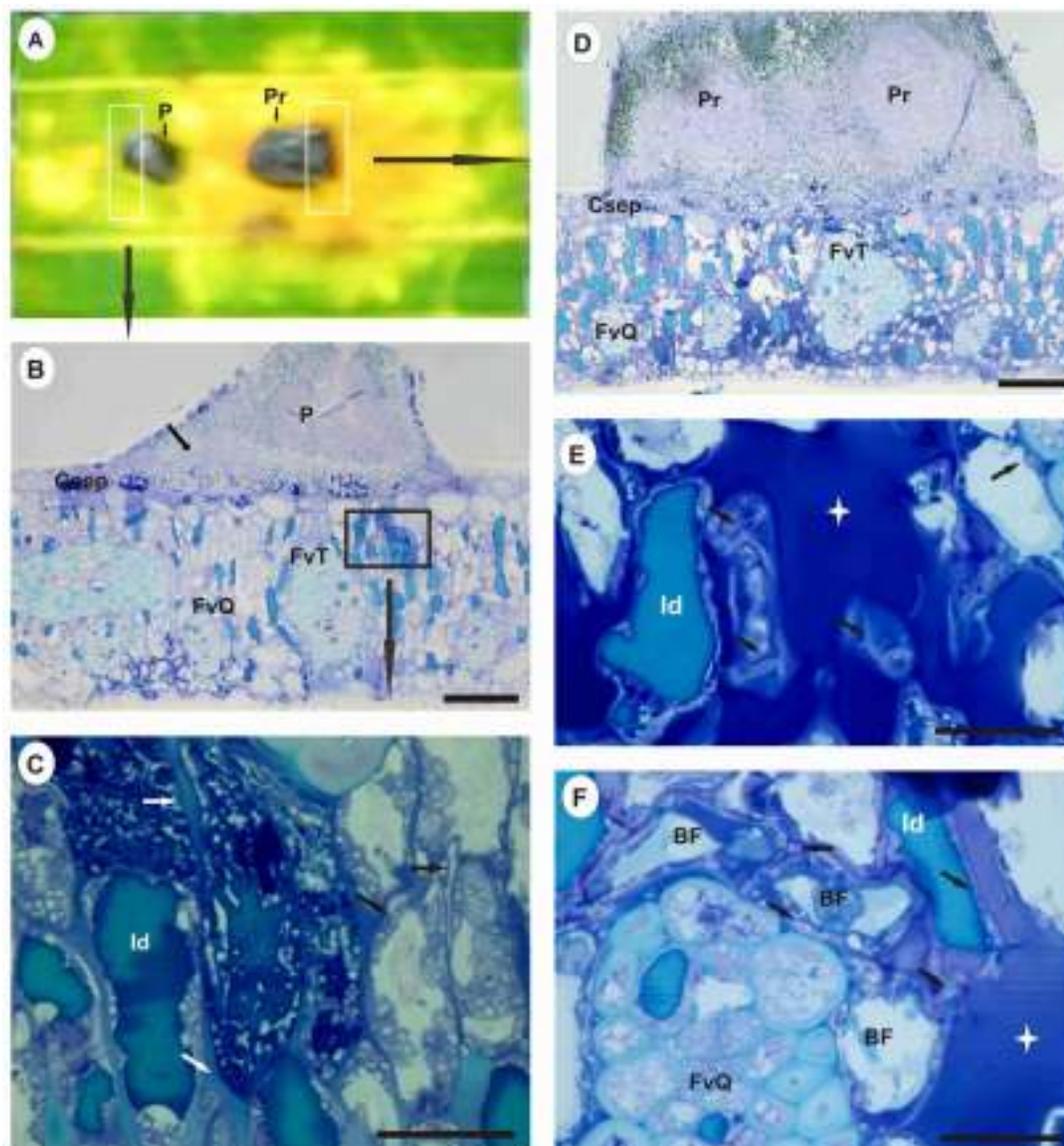


Figura 2: Fragmento de folíolos de coqueiro apresentando sintomas da lixa-pequena (A) e secções transversais desse fragmento ao MO (B – F). B): Secção transversal dos folíolos evidenciando a presença do picnídio e início da formação do peritécio (seta) Bar. 100µm. C): Hifas (setas preta) nas células do parênquima paliçádico. As setas brancas indicam deposição de material nos espaços intercelulares. Bar. 20µm. D): Vista geral do mesofilo colonizado, evidenciando células totalmente destruídas. A estrela indica deposição de um material fortemente corado com azul de toluidina nos espaços extracelulares. Bar. 100µm. E e F): Hifas (setas) presentes nas células do parênquima lacunoso (E) e nas células da bainha do feixe (F). A estrela indica deposição de um material fortemente corado com azul de toluidina nos espaços extracelulares. Bar. 20µm. P – picnídio; Pr – peritécio; Csep – células subjacentes à epiderme adaxial; Id – idioblasto tanífero; FvT – feixe vascular terciário; FvQ – feixe vascular quaternário; BF – células da bainha do feixe.

Os sinais iniciais da lixa-grande nos folíolos de coqueiro também foram caracterizados pela formação de picnídios estromáticos que se desenvolveram subjacentemente às células epidérmicas. Posteriormente, houve rompimento da epiderme e formação dos peritécios. Os picnídios foram presentes em vários estágios de desenvolvimento dos peritécios. Os picnídios e os peritécios foram observados tanto na superfície adaxial quanto na abaxial dos folíolos. Algumas vezes, os estromas formados em ambas as faces dos folíolos coincidiram no mesmo ponto.

Análises de várias secções transversais de fragmentos foliares infectados com *C. acrocomiae* (Fig. 3A e 3B) confirmaram as diferenças observadas na expressão dos sintomas nos folíolos de coqueiro entre a LP e a LG. Hifas de *C. acrocomiae* foram evidenciadas nas células da epiderme, das CSEP, do parênquima paliçádico e do lacunoso e, principalmente, nas células do floema (Fig. 3C). Fora dos feixes vasculares, a colonização ocorreu tanto de forma inter quanto intracelular, no entanto, se restringiu a poucas células subjacentes aos estromas (Fig. 3D). Já nos feixes vasculares, constatou-se a presença de hifas do fungo em áreas subjacentes (Fig. 3D) e adjacentes ao estroma (Fig. 3E). Contudo, nenhuma hifa foi identificada nas células do mesofilo que circundavam os feixes vasculares mais afastados dos estromas (Fig. 3E).

Os feixes vasculares secundários dos folíolos de coqueiro foram caracterizados pela presença de floema frequentemente dividido em quatro estratos (Fig. 3F). Constatou-se a presença de hifas de *C. acrocomiae* em todos os estratos do floema, principalmente nos elementos de tubo crivado e nas células companheira (Fig. 3G e 3H). Hifas foram evidenciadas também nas células do parênquima floemático, do colênquima e da bainha esclerenquimática, embora de forma discreta. Eventualmente, em um mesmo feixe vascular, foi observado um estrato do floema completamente colonizado ao lado de outro estrato apresentando início da colonização (Fig. 3H). Intenso crescimento micelial foi observado também nos feixes terciários e quaternários, onde não há uma clara estratificação do floema, e nos feixes vasculares anastomosantes (Fig. 3I). Nenhuma hifa foi evidenciada no xilema em todos os fragmentos analisados.

Análises de secções longitudinais dos folíolos ao redor dos estromas da LG, confirmaram que as células do floema apresentavam-se desorganizadas, sem conteúdo celular e com todos os espaços intracelulares completamente

obstruídos pelas hifas de *C. acrocomiae* (Fig. 4). Deposição de material nos espaços intercelulares e, conseqüentemente, necrose dos tecidos em larga escala não foram evidenciados em nenhum dos fragmentos analisados.

## DISCUSSÃO

Secções de folíolos de coqueiro infectados naturalmente com *C. torrendiella* e *C. acrocomiae* foram observados ao microscópio óptico. *C. torrendiella* e *C. acrocomiae* formam nas folhas de coqueiro dois tipos de estruturas estromáticas: os picnídios e os peritécios (Vitória et al., 2008, Hyde e Cannon, 1999). Como demonstrado aqui, ambas as estruturas formaram-se nas células epidérmicas e nas células subjacentes à epiderme adaxial. Os primeiros sinais da LP e da LG nos folíolos de coqueiro caracterizaram-se pela formação de picnídios. Os peritécios desenvolveram subjacentemente aos picnídios.

A função dos picnídios no ciclo de vida de *C. torrendiella* e *C. acrocomiae* ainda não está totalmente esclarecida. Acredita-se que tais estruturas atuem na reprodução sexuada via espermatização (Vitória et al., 2008; Bezerra, 1989). A reprodução via espermatização é comum em várias espécies de Phyllochorales (Cannon, 1991). Mas, as hifas receptivas não foram ainda relatadas (Warwick e Leal, 2003, Bezerra, 1989).

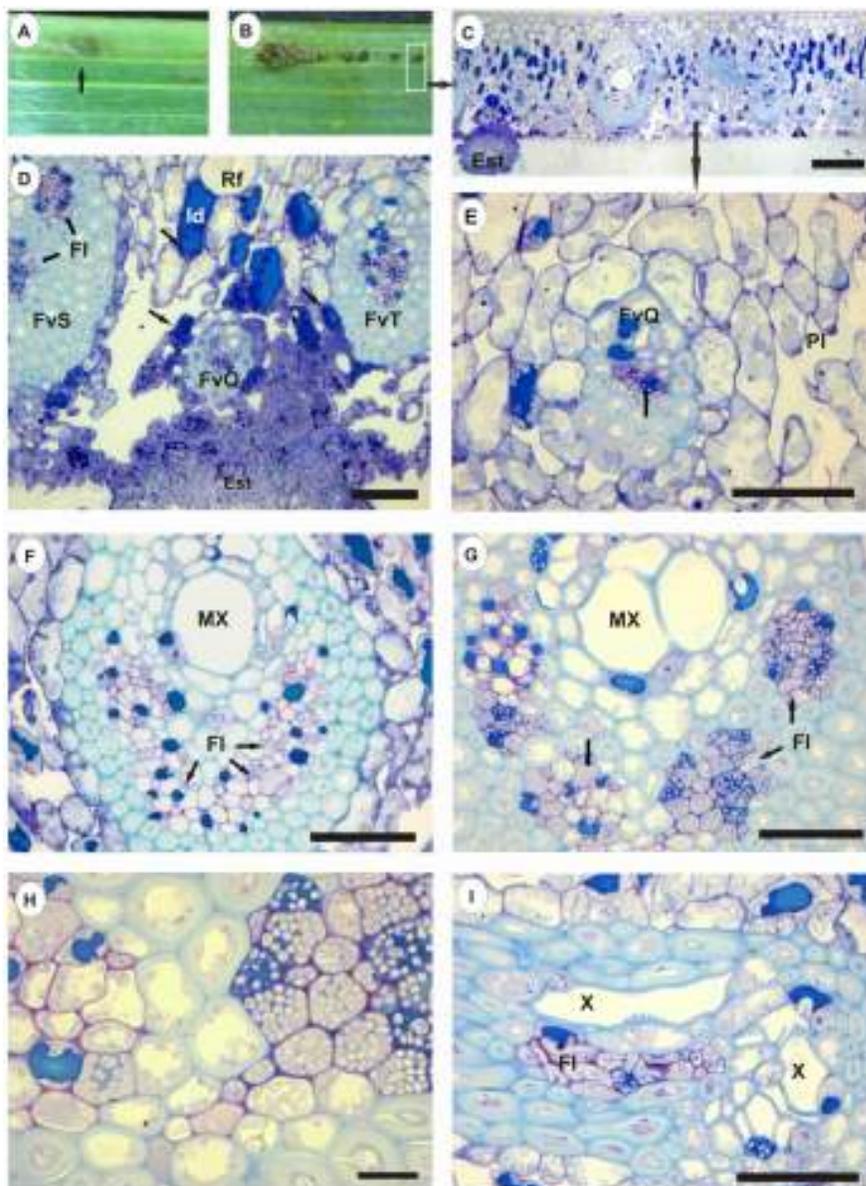


Figura 3: A e B): Fragmento de um folíolo de coqueiro com sintomas da lixa-grande. A): Região adaxial. A seta indica que não há sintomas de necrose ou de amarelecimento ao redor dos estromas. B) Região abaxial do mesmo fragmento. C – I): Secções transversais desse fragmento ao MO. C): Vista geral do mesofilo, evidenciando que não há deposição de material fortemente corado com azul de toluidina. Bar. D): Hifas (setas) de *C. acrocomiae* nas células epidérmicas, nas células do mesofilo e nos feixes vasculares. Bar. 50µm. E): Hifas (seta) de *C. acrocomiae* em um feixe vascular adjacente ao estroma da lixa-grande. Bar. 50µm. F): Detalhe de um feixe vascular secundário de folíolo assintomático. Bar. 20µm. G): Hifas (setas) colonizando as células do floema. Bar. 50µm. H): Detalhes da presença de hifas (setas) nas células do floema. Bar. 10µm. I): Detalhe de um feixe vascular anastomosante, evidenciando a presença de hifas (seta) no floema. Bar. 50µm. Est – estroma; FvS – feixe vascular secundário; FvT – feixe vascular terciário; PI – parênquima lacunoso; Rf – ráfide; Hi – hifas; Fi – fibras; Co - colênquima; Id – idioblasto tanífero; X – xilema; FI – floema; MX – metaxilema; FvQ – feixe vascular quaternário; Rf – ráfide; Est – estroma.

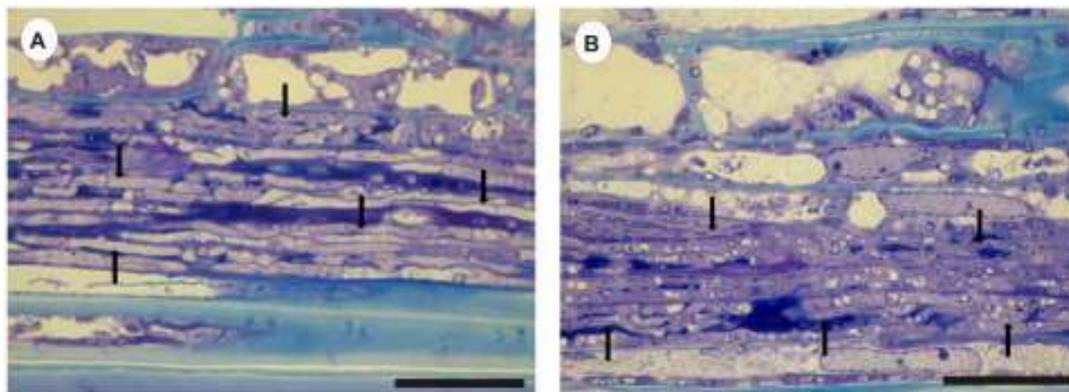


Figura 4: Secção longitudinal de um feixe vascular, evidenciando a presença de hifas (setas) nas células do floema. Bar. 20µm.

Embora os sinais formados por *C. torrendiella* e *C. acrocomiae* sejam similares (Warwick e Leal, 2003, Mariano, 1997), pelo demonstrado neste trabalho, esses patógenos apresentam diferentes estratégias de colonização dos folíolos de coqueiro, comprovando, assim, as diferenças observadas no padrão de manifestação dos sintomas da LG e da LP. Necrose dos folíolos é uma característica sempre associada à LP. Fato esse, menos observado ao redor dos estromas da LG (Warwick e Leal, 2003, Mariano, 1997).

Ainda não está claramente definido se a necrose observada ao redor dos estromas da LP é causada por *C. torrendiella* (Hyde e Cannon, 1999). Supõe-se que microrganismos oportunistas ou micoparasitas estejam envolvidos (Cannon, 1991). *Septofusidium elegantulum* e *Acremonium* spp. são micoparasitas frequentemente encontrados no campo colonizando estromas da LP e da LG (Carvalho et al., 2003; Warwick, 2001). No entanto, nenhum crescimento micelial, indicativo de fungos hiperparasitas (Carvalho et al., 2003), foi evidenciado sobre os estromas da LP nos fragmentos analisados (Fig. 1A, 1B e 2A). Ressalta-se, ainda, que outros fungos, como *Pestalotia* sp., *Curvularia* sp., *Cladosporium* sp. e *Colletotrichum* sp., são constantemente isolados de regiões necrosadas dos folíolos de coqueiro, mas, esses são incapazes de causar necrose, mesmo quando inoculados em regiões dos folíolos que já apresentam algum tipo de ferimento (Ram, 1993). Esses fatos, aliados à presença constante de hifas apenas nas regiões do folíolo em colapso (Fig. 1 e 2), são indicativos de que *C. torrendiella* esteja envolvido diretamente na necrose dos folíolos de coqueiro.

Os fungos *C. torrendiella* e *C. acrocomae* (Oliveira et al., 2004; Warwick e Leal, 2003), assim como, outros membros da família Phyllachoraceae, são geralmente considerados fungos biotróficos (Cannon, 1996; Cannon, 1991). Uma característica marcante no processo de colonização de fungos biotróficos é a formação de haustório nas células do hospedeiro. Os haustórios são células especializadas através dos quais, os fungos retiram os nutrientes necessários para o seu metabolismo sem, contudo, matar as células das plantas (Voegelé e Mendgen, 2003; Staples, 2001). No entanto, não foi constatada a presença de haustórios nas células do coqueiro em nenhum fragmento analisado (Fig. 1, 2, 3 e 4). Ao contrário de características biotróficas, diversas evidências relacionadas a fungos hemibiotróficos foram constatadas no processo de colonização de *C. torrendiella*, entre elas, destacam-se: degradação de parede celular, intenso crescimento micelial inter e intracelular e extensa necrose dos tecidos do hospedeiro (Mendgen e Hahn, 2002), sendo, tais evidências, indícios de que *C. torrendiella* seja um fungo hemibiotrófico, ao invés de biotrófico.

As estratégias de infecção dos fungos hemibiotróficos, de modo geral, são caracterizadas por apresentar um período inicial biotrófico, que dura poucos dias, seguido de um período necrotrófico, onde os sintomas de necrose dos tecidos são evidenciados. Durante a fase biotrófica dos fungos hemibiotróficos, a destruição das células do hospedeiro é minimizada (Mendgen e Hahn, 2002; Perfect e Green, 2001). Já durante a fase necrotrófica, as hifas dos fungos crescem intra ou intercelularmente, enquanto secretam enzimas que degradam a parede celular e a membrana plasmática, matando assim, as células da planta. Durante essa fase, os fungos obtêm os nutrientes necessários para o seu metabolismo das células mortas do hospedeiro (Panstruga, 2003; Mendgen e Hahn, 2002). Análises de várias secções de folíolos de coqueiro com estromas da LP em diferentes estágios de desenvolvimento, revelaram que o processo de colonização de *C. torrendiella* também foi dividido principalmente em duas fases. Na primeira fase, o crescimento micelial desse fungo se concentrou apenas nas células da epiderme e nas células subjacentes à epiderme adaxial (Fig. 1). A segunda fase de colonização de *C. torrendiella* nos folíolos de coqueiro foi caracterizada por desorganização celular, pelo acúmulo nos espaços intercelulares de um material fortemente corado com azul de toluidina e pelo aumento na concentração de hifas nos espaços inter e intracelulares (Fig. 2). Ressalta-se, aqui, que hifas foram

evidenciadas apenas na região em colapso e que os primeiros sintomas de necrose dos tecidos do hospedeiro coincidiram com essa desorganização celular. No entanto, são necessários estudos adicionais envolvendo os eventos iniciais de pós-penetração de *C. torrendiella* nos folíolos de coqueiro, a fim de se caracterizar a formação de vesícula de infecção e/ou hifa de infecção, estruturas formadas no período biotrófico de muitos fungos hemibiotróficos (Mendgen e Hahn, 2002; Perfect e Green, 2001), para se poder confirmar qual tipo de relação nutricional, biotrófica ou hemibiotrófica (Agrios, 2004), *C. torrendiella* estabelece com o coqueiro.

Acúmulo de material densamente corado nos espaços intercelulares na segunda fase de colonização de *C. torrendiella* foi uma característica histológica marcante nos tecidos em colapso. Contudo, não foi conclusivo se esse acúmulo foi a causa do colapso celular ou se ocorreu após a morte das células da planta. Vale ressaltar, que em muitas interações planta/patógeno, o acúmulo de substâncias, principalmente compostos fenólicos, nos tecidos infectados é uma reação da planta para tentar restringir ou retardar a colonização do patógeno (Rodrigues et al., 2003; Hong et al., 2001). No entanto, nos folíolos de coqueiro analisados, a presença dessas substâncias não apresentou uma barreira efetiva contra a colonização do fungo nas células do parênquima paliçádico e lacunoso. Hifas de *C. torrendiella* foram evidenciadas inclusive no interior dos idioblastos taníferos (Fig. 2E e 2F).

Diferentemente de *C. torrendiella*, a colonização de *C. acrocomae* se concentrou principalmente nas células do floema dos feixes vasculares subjacentes e adjacentes aos estomas. Provavelmente, *C. acrocomae* alcança os feixes vasculares mais afastados dos estomas da LG apenas através dos feixes vasculares anastomosantes, uma vez que, fora do floema, hifas desse fungo foram evidenciadas apenas nas células epidérmicas e nas células parenquimáticas subjacentes aos estomas da LG (Fig. 3). Os feixes anastomosantes ligam os feixes vasculares paralelos nas monocotiledôneas (Esau, 1976).

## RESUMO E CONCLUSÕES

Secções transversais e longitudinais de folíolos de coqueiro com estromas da lixa-pequena (LP) e da lixa-grande (LG) em diferentes estágios de desenvolvimento foram analisadas ao microscópio óptico. Pelo demonstrado neste trabalho, *C. torrendiella* está envolvido diretamente na necrose dos folíolos de coqueiros observados ao redor dos estromas da lixa-pequena, comportando-se de maneira similar a um fungo hemibiotrófico. Em contraste, *C. acrocomiae* colonizou os folíolos de coqueiro de uma forma menos agressiva, não causando um dano significativo ao coqueiro. Supõe-se, aqui, que *C. acrocomiae* afete apenas o transporte de fotoassimilados nas regiões próximas aos estromas da lixa-grande, uma vez que, praticamente todos os elementos de tubos crivados dessa região apresentavam-se totalmente obstruídos pelas hifas do fungo. O presente trabalho foi o primeiro que demonstrou o processo de colonização de *C. torrendiella* e de *C. acrocomiae* nos folíolos de coqueiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, G. N. (2004) *Plant Pathology*. 5ª ed. Florida: Academic Press. 922p.
- Cannon, P.F. (1991) A revision of *Phyllachora* and some similar genera on the host family Leguminosae. *Mycological Papers*, 163, p.302.
- Cannon, P.F. (1996). Systematics and diversity of the Phyllachoraceae associated with Rosaceae, with a monograph of *Polystigma*. *Mycological Research*, 12: 1409-1427.
- Carvalho, R.A.G., Araújo, E., Barreto, A.F., Cardoso, G.D. e Almeida, F.A. (2003) Severidade da lixa-grande do coqueiro-anão e incidência de hiperparasitismo em Parnamirim, Rio Grande do Norte. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 3: 546-548.

- Develey-Rivière, M.-P. E Galiana, E. (2007) Resistance to pathogens and host developmental stage: a multifaceted relationship within the plant kingdom. *New Phytologist*, 175: 405-416.
- Hong, J.K., Lee, Y.K., Jeun, Y.C. e Hwang, B.K. (2001). Histological and ultrastructural study of susceptible and age-related resistance responses of pepper leaves to *Colletotrichum coccodes* infection. *The Plant Pathology Journal*, 17(3): 128-140.
- Index Fungorum. [www.indexfungorum.org](http://www.indexfungorum.org). (acesso em 19/06/2009).
- Oliveira, V.C., Leal, E.C., Costa, J.L.S. (2004) Registro do cultivo in vitro de *Phyllachora torrendiella* e *Sphaerodothis acrocomiae*, agentes causais das lixas do coqueiro. *Fitopatologia Brasileira*, 29:571.
- Panstruga, R. (2003). Establishing compatibility between plants and obligate biotrophic pathogens. *Current Opinion in Plant Biology*, 6:320–326.
- Perfect, S.E. e Green, J.R. (2001) Infection structures of biotrophic and hemibiotrophic fungal plant pathogens. *Molecular Plant Pathology*, 2: 101–108.
- Rodrigues, F.Á., Benhamou, N., Datnoff, L.E., Jones, J.B. e Bélanger, R.R. (2003). Ultrastructural and Cytochemical Aspects of Silicon-Mediated Rice Blast Resistance. *Phytopathology*, 93:535-546.
- Souza, C.A.P., Vitória, N.S., Bezerra, J.L., Luz, E.D.M.N., Inácio, C.A. e Dianese, J.C. (2008) *Camarotella brasiliensis* sp. nov. (Phyllachoraceae) on *Syagrus schizophylla* (Arecaceae) from Brazil. *Mycotaxon*, 103: 313-317.
- Staples, R.C. (2001). Nutrients for a rust fungus: the role of haustoria. *TRENDS in Plant Science*, 6 (11): 496-498.
- Vitória, N.S. (2007). Espécies de *Camarotella* que causam doença foliar no coqueiro e em outras palmeiras. Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 75p. (Dissertação de Mestrado).
- Voegele, R.T. e Mendgen, K. (2003). Rust haustoria: nutrient uptake and beyond. *New Phytologist*, 159: 93-100.
- Warwick, D.R.N. (2001) Colonização de estromas de *Sphaerodothis acocomyae* agente causal da lixa grande do coqueiro por *Acremonium persicinum*. *Fitopatologia Brasileira*, 26: 220.

### 3.3. MÉTODO PARA A QUANTIFICAÇÃO DA SEVERIDADE DA QUEIMA-DAS-FOLHAS DO COQUEIRO

#### RESUMO

A queima-das-folhas do coqueiro (*Botryosphaeria cocogena*) é considerada uma das principais doenças da cultura no Brasil. Os sintomas da doença se manifestam do ápice para a base das folhas, na forma de necrose da ráquis e dos folíolos. As folhas atacadas secam e caem prematuramente, deixando os cachos sem suporte, o que prejudica o amadurecimento normal dos frutos. A quantificação da severidade dessa doença no campo esbarra em limitações práticas. O objetivo neste trabalho foi elaborar uma metodologia para estimar o acúmulo da área foliar, do ápice para a base, em função da distância da base de cada folíolo ao ápice da folha e discutir a possibilidade de utilização desse modelo na quantificação da área foliar com sintomas da queima-das-folhas (QFC). Para tanto, com base em amostra de 30 folhas de coqueiro foram testados modelos por regressão linear e não-linear. Com base no coeficiente de determinação ( $R^2$ ), no quadrado médio do erro e nos gráficos de resíduos, o modelo cúbico foi o que proporcionou melhor ajuste ao conjunto de dados. Considerando como ocorre o desenvolvimento dos sintomas da queima-das-

folhas do coqueiro, a metodologia proposta poderá ser utilizada para estimativas da severidade dessa doença em estudos epidemiológicos e de controle.

Palavras-chave: *Lasiodiplodia theobromae*, *Cocos nucifera*, área foliar, modelo

## METHOD FOR COCONUT LEAF BLIGHT SEVERITY EVALUATION

### ABSTRACT

Coconut leaf blight (*Botryosphaeria cocogena*) is one of the most important diseases on coconut culture in Brazil. The disease symptoms occur from the apex to the base of the leaves as a necrosis in the rachis and in the leaflets. The infected leaves dry and fall prematurely removing bunch support, therefore prejudicing the normal fruit ripening. Coconut leaf blight evaluation is impaired by some practical limitations. The aim of this work was to elaborate a methodology to estimate leaf area accumulation, from the apex to the base, as a function of the distance from the base of each leaflet to the apex of the leaf. For this purpose, a sample composed by 30 coconut leaves was tested on linear and non linear regression models. According to the coefficient of determination ( $R^2$ ), the mean square error and the graphics of the residues, the cubic model showed the best adjustment to the data. Taking coconut leaf blight symptoms development into account, the proposed methodology could be used for estimative of coconut leaf blight severity in the field for epidemiological studies and disease control.

Key-words: *Lasiodiplodia theobromae*, *Cocos nucifera*, leaf area, model

## INTRODUÇÃO

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.) é uma planta típica de clima tropical. No Brasil, a cultura antes concentrada principalmente na região nordeste, atualmente encontra-se também em expansão nos Estados das regiões sudeste, centro-oeste e norte (IBGE, 2009; Gutiérrez Cuenca e Siqueira, 2003). Essa expansão vem ocorrendo principalmente com plantios de coqueiros da variedade *Nana* (coqueiro anão), que são mais produtivos e precoces, quando comparados aos coqueiros da variedade *Typica* (coqueiro gigante) (Gutiérrez Cuenca e Siqueira, 2003). Coqueiros híbridos, resultados do cruzamento entre as variedades *Nana* e *Typica*, apresentam características intermediárias aos progenitores, sendo também de interesse econômico (Aragão et al., 2003).

Independente do local onde o coqueiro é cultivado no Brasil e do tipo de plantio (anão, gigante ou híbrido), um dos principais problemas enfrentados pelos cococultores brasileiros é a doença conhecida como queima-das-folhas do coqueiro (QFC) (Warwick e Leal, 2003; Mariano, 1997), causada pelo fungo *Botryosphaeria cocogena* Subileau, forma perfeita de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon e Maubl (= *Botryodiplodia theobromae*) (Index fungorum, 2007; Subileau et al., 1994). A QFC causa redução da área foliar fotossintética, o que reflete negativamente na produtividade da cultura (Mariano, 1997). Queda prematura e má-formação dos frutos também podem ocorrer (Warwick e Leal, 2003).

Os sintomas da QFC manifestam-se apenas nas folhas mais velhas da copa do coqueiro, na forma de necrose da ráquis e, conseqüentemente, de todos os folíolos que se fixam à mesma na região necrosa. A necrose inicia-se pelo ápice das folhas, expandindo-se, posteriormente, em direção ao estipe da planta, formando o sintoma conhecido como necrose em forma de “V” (Warwick e Leal, 2003; Mariano, 1997; Warwick, 1997). Mesmo sendo esses sintomas peculiares e facilmente identificados, não há até o momento uma forma de se quantificar a área foliar com sintomas da QFC, pois os folíolos sintomáticos deformam-se

rapidamente e se tornam quebradiços. Sendo assim, há necessidade de se desenvolver metodologias alternativas para a quantificação dessa área foliar com sintomas da QFC, uma vez que, essa etapa é pré-requisito em vários setores da fitopatologia, como por exemplo, em estudos epidemiológicos e de controle (Campbell e Madden, 1990).

O coqueiro apresenta uma contínua emissão foliar durante todo o ano. As folhas são emitidas de diferentes ângulos por todos os lados do estipe formando uma espiral (Sobral, 1999). As folhas são do tipo pinadas, sendo constituídas por bainha, pecíolo, ráquis e folíolos. Cada folha apresenta em torno de 150 a 250 folíolos, os quais se fixam à ráquis em posição alternada e oposta, formando duas fileiras paralelas (Ohler, 1984). Como após a emissão, as folhas do coqueiro levam apenas cerca de três meses para sua expansão total e dada a peculiaridade do desenvolvimento dos sintomas da QFC, metodologias alternativas para quantificação da área foliar com sintomas da QFC podem ser desenvolvidas utilizando-se os folíolos assintomáticos.

Estimativas indiretas de área foliar podem ser realizadas a partir de modelos de regressão que utilizam como variáveis independentes diferentes dimensões das folhas, tais como, o comprimento da nervura central, a largura máxima da folha e/ou dos folíolos ou o produto entre o comprimento e a largura (Silva et al., 2008; Tsialtas e Maslaris, 2008; Peksen, 2007; Souza et al., 2005). Dessa forma, o presente trabalho objetivou elaborar e validar um modelo matemático para estimar o acúmulo da área foliar, do ápice para a base das folhas, em função da distância da base de cada folíolo ao ápice da folha, e discutir a possibilidade de utilização desse modelo na estimativa da área foliar com sintomas da QFC.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Para realização deste trabalho foram amostradas folhas de coqueiro de três diferentes áreas da região de Campos dos Goytacazes, RJ, no período de janeiro a agosto de 2008. As áreas foram identificadas como AI (21°48'30" S e 41°

10'42" W), AII (21°48'00" S e 41°10'57" W) e AIII (21°42'59" S e 41°20'33" W). Nessas áreas ocorre o plantio de coqueiros da variedade *Nana*, grupo anão verde, dispostos no espaçamento triangular de 7,5 x 7,5 m e com sistema de irrigação do tipo microaspersão. O solo das áreas AI e AII é classificado como Neossolo Quartzarênico Órtico típico com topografia plana a ligeiramente ondulada. Os coqueiros da área AI foram plantados em 2003 e os da AII em 2000, possuindo assim, respectivamente, cinco e oito anos de plantio no período de coleta das folhas. No entanto, as plantas da AII apresentavam no período de coleta das folhas crescimento e produtividade muito abaixo do normal. Já o coqueiral da AIII encontra-se instalado em um solo Argisolo Amarelo Distrófico fragipânico latossólico com relevo suave ondulado (Souza, 2004). Esse coqueiral tinha aproximadamente 14 anos de implantação no período de coleta das folhas. Buscou-se, assim, selecionar áreas com plantas em diferentes estágios de desenvolvimento, as quais apresentavam folhas de diferentes tamanhos.

Em cada área, uma amostra de trinta folhas foi coletada de dez plantas diferentes, sendo amostradas três folhas por planta. Considerando que os sintomas QFC manifestam-se apenas nas folhas mais velhas, que são as mais baixas da copa do coqueiro, e da inviabilidade de se determinar com precisão a área foliar de folíolos necrosados, procurou-se coletar folhas do terço médio das plantas, evitando-se as que apresentavam algumas deformações oriundas, por exemplo, de ataques de insetos.

Após a coleta, as folhas foram conduzidas ao Laboratório, onde se procedeu a medição, utilizando uma régua com escala milimétrica, da distância entre a base de cada folíolo ao ápice da folha (Fig. 1). Posteriormente, em cada folha amostrada, os folíolos foram numerados e destacados da ráquis. Determinou-se, em seguida, a área foliar de cada folíolo por meio de um medidor de área foliar (LI-3100 area meter, LICOR INC., Lincoln, Nebraska, USA). A área foliar acumulada do ápice para a base da folha foi calculada pela soma das áreas foliares de todos os folíolos compreendidos entre cada D (Fig. 1B).

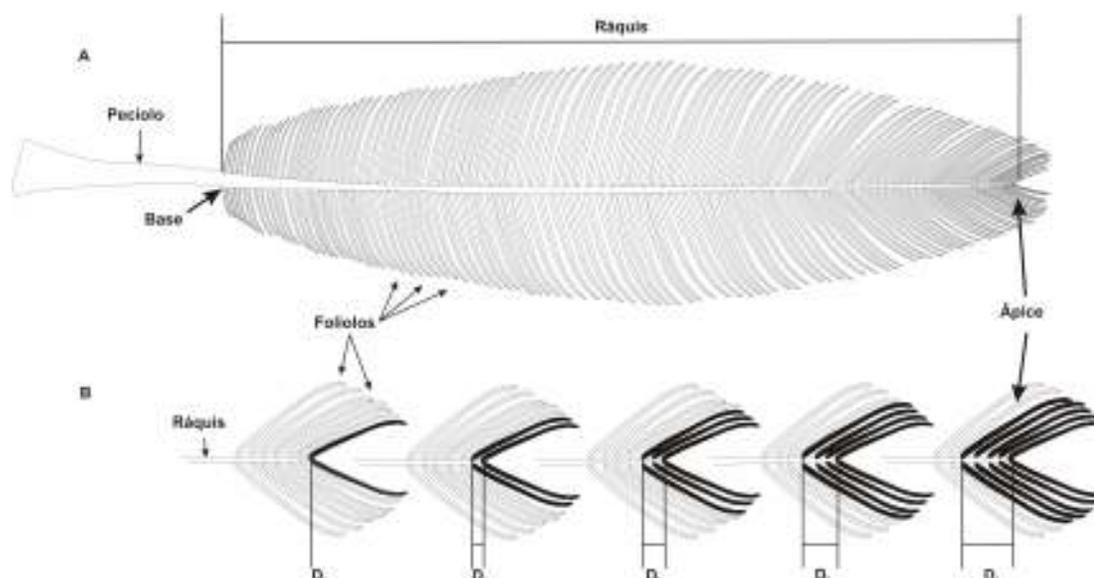


Figura 1: A) Esquema representando uma folha de coqueiro com o pecíolo, a ráquis e os folíolos dispostos ordenadamente aos pares e no mesmo plano da folha. B) Esquema representando como foram feitas as medições da distância da base dos folíolos ao ápice da folha (D). Os folíolos coloridos de preto representam a área foliar acumulada para cada distância (D<sub>0</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub>).

Em seguida, foi feita uma análise gráfica dos dados obtidos em cada área visando caracterizar a população amostrada. Baseando-se no formato da curva de incremento da área foliar em função da distância da base de cada folíolo ao ápice da folha optou-se, então, por submeter o conjunto dos dados de todas as folhas da área A1 à análise de regressão linear e não-linear. Foram analisados os seguintes modelos: linear de ordem cúbica ( $Y=a+bx+cx^2+dx^3$ ); Gompertz ( $Y=\exp[\ln(a)*\exp(-b*x)]$ ) e Potencial ( $Y=a*\exp(b*x)$ ). Em cada modelo, Y representou a área foliar acumulada (variável dependente) e X a distância da base de cada folíolo ao ápice da folha (variável independente). A significância dos parâmetros da regressão foi avaliada pelo teste F, em nível de 5% de probabilidade.

Baseando-se na metodologia de Monteiro (2009) para medição da parte necrosada da ráquis, os valores absolutos da distância da base de cada folíolo ao ápice da folha, obtidos de cada folha da área A1, foram também transformados em valores percentuais, em relação ao comprimento total da ráquis. Em seguida, o novo conjunto de dados foi submetido à análise de regressão linear e não-linear, utilizando-se os mesmos modelos citados anteriormente. Nesse caso, a área foliar

acumulada foi considerada como variável dependente e a distância, em porcentagem, da base de cada folíolo ao ápice da folha como variável independente.

O modelo mais adequado a cada conjunto de dados foi selecionado considerando-se o maior coeficiente de determinação ajustado ( $R^2$ ), o menor quadrado médio do erro (QME) e a menor variância dos resíduos (Área foliar real menos área foliar estimada).

A validação dos modelos foi realizada mediante análise de correlação de Pearson, a 5% de significância, entre os valores reais da área foliar acumulada, obtidos das folhas amostradas nas áreas All e AIII, e os valores estimados pelo modelo. A adequação do modelo foi avaliada por meio do coeficiente de correlação ( $r$ ) e pela variância dos resíduos.

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio dos programas Statistica (Statsoft South America, 2008) e do SAEG (1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises de regressão linear e não-linear para estimativa da área foliar acumulada em função da distância da base de cada folíolo ao ápice da folha, em valores absolutos, obtidos da área I, bem como, os gráficos dos resíduos para cada modelo estão representados na figura 2. Todas as análises de regressão foram estatisticamente significativas, pelo teste F ( $p < 0,01$ ). Todos os modelos testados apresentaram alto coeficiente de correlação ( $R^2 > 97$ ), indicando que mais de 97% das variações na área foliar acumulada podem ser explicadas pelos modelos. O modelo cúbico apresentou o maior  $R^2$  ( $R^2=98,45$ ), seguido pelo modelo potencial ( $R^2=98,2$ ) e pelo modelo Gompertz ( $R^2=97,6$ ). Todos os modelos também apresentaram baixo quadrado médio do erro (QME). Entretanto, ao analisar os gráficos dos resíduos, constatou-se que o modelo Potencial (Fig. 2B e 2E) e o modelo Gompertz (Fig. 2C e 2F) apresentaram tendência de superestimar a área foliar acumulada até cerca de um metro do ápice da folha. Fato esse, mais acentuado no modelo Gompertz. Já no

modelo cúbico (Fig. 2A e 2D), observou-se um padrão aleatório de distribuição dos desvios, sendo também, as diferenças entre a área foliar real e a estimada mais próxima de zero. Portanto, as estimativas da área foliar acumulada pelo modelo cúbico foram as que mais se aproximaram dos valores reais, quando comparado aos modelos Potencial e Gompertz. Observou-se, contudo, valor negativo no intercepto no modelo cúbico ( $a=-0,00453461$ ), o que levaria a uma estimativa negativa da área foliar acumulada para valores da distância da base de cada folíolo ao ápice da folha igual a zero. No entanto, ao testar a significância dos parâmetros da regressão, pelo teste F ( $p<0,01$ ), constatou-se valor estatisticamente não significativo apenas para o intercepto ( $p=0,77$ ). Dessa forma, o mesmo pode ser desconsiderado do modelo cúbico.

O modelo cúbico, mais adequado ao conjunto de dados da A1, foi validado em outras duas áreas. Os coeficientes de correlação ( $r$ ) entre os valores reais da área foliar acumulada, obtidos das folhas amostradas nas áreas AII e AIII, e os valores estimados pelo modelo foram de 0,99 para as duas áreas. Mesmo para AII, cujos tamanhos das folhas foram inferiores aos observados nas áreas AI (Fig. 2) e AIII (Fig. 3A). As folhas da AII apresentaram área foliar variando de 2.52 m<sup>2</sup> a 3.38 m<sup>2</sup> (Fig. 3B), distribuídos entre 162 a 188 folíolos por folha, enquanto que, a área das folhas amostradas das áreas AI e AIII variaram de 3.72 m<sup>2</sup> a 5.70 m<sup>2</sup>. O número de folíolos por folha nas áreas AI e AIII ficou entre 180 e 206. O comprimento total da ráquis também foi menor nas folhas da área AII.

Embora haja essa grande variação nas folhas amostradas, a adequação do modelo cúbico às diferentes áreas pode ser explicada porque o formato da curva de incremento da área foliar (m<sup>2</sup>), ou seja, da soma das áreas dos folíolos, no sentido do ápice para a base das folhas, para as três áreas, foi similar (Fig. 2 e 3). Constatou-se que até os primeiros 65 cm do ápice o incremento na área foliar foi lento, intensificando-se em seguida, chegando ao máximo na região mediana da ráquis. A partir desse ponto, a taxa de incremento na área foliar foi diminuindo gradualmente, atingindo valores mínimos na região da base das folhas. Esse padrão se manteve em todas as folhas de coqueiro amostradas, independente do tamanho das folhas, do número de folíolos por folha e da idade das plantas.

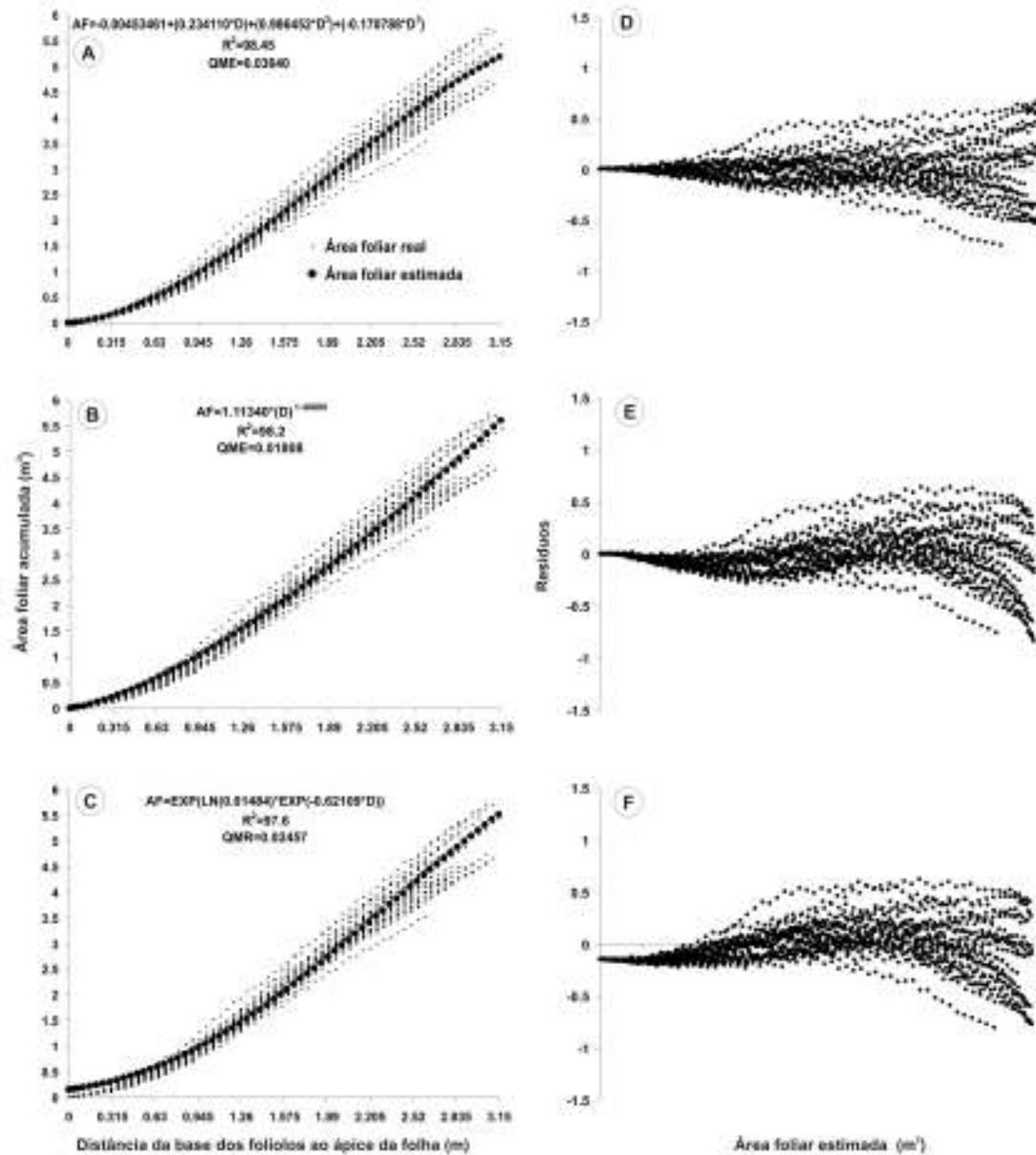


Figura 2: A-C: Área foliar acumulada (AF) em função da distância da base dos folíolos ao ápice da folha (D). A) modelo de regressão linear de ordem cúbica; B: modelo potencial; C: modelo Gompertz. Análise dos resíduos referentes ao modelo cúbico (D), ao modelo potencial (E) e ao modelo Gompertz (F).

Sugere-se, portanto, que a área foliar acumulada, do ápice para a base da folha de coqueiro, possa ser estimada através do modelo cúbico ( $AF = -0.00453461 + 0.23411 \cdot D + 0.986452 \cdot (D^2) - 0.170788 \cdot (D^3)$ ), utilizando como variável independente a distância da base de cada folíolo ao ápice da folha (D). Estimativas indiretas, não-destrutivas, de área foliar têm sido estabelecidas para várias espécies: *Metroxylon sagu* (Nakamura et al., 2009), *Beta vulgaris* (Tsiltas e Maslaris, 2008); *Vitis vinifera* (Tsiltas et al., 2008); *Helianthus annuus* (Tsiltas e Maslaris, 2008); *Bactris gasipaes* (Ramos et al., 2008), *Vicia faba* L. (Peksen, 2007), *Mangifera indica* L. (Araújo et al., 2005), *Gossypium hirsutum* L. var. *latifolium*. (Monteiro et al., 2005), *Cucumis sativus* L. (Blanco e Folegatti, 2005), *Phaseolus vulgaris* L. (Queiroa et al., 2003).

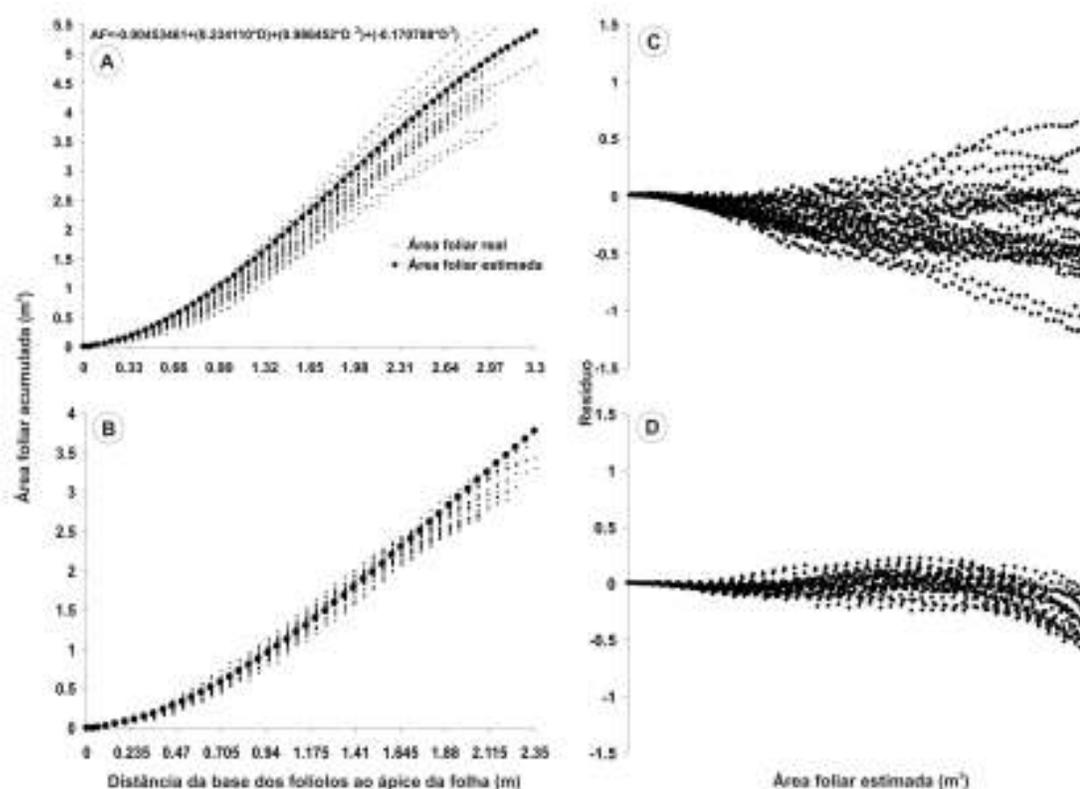


Figura 3: Área foliar acumulada (AF) em função da distância da base dos folíolos ao ápice das folhas (D) para a área AIII (A) e para a área AII (B). C e D: Gráfico dos resíduos referentes à AIII (C) e a AII (D).

Propõe-se aqui, que a área foliar com sintomas da QFC também possa ser estimada através do modelo cúbico:  $AF = -0.00453461 + 0.23411 * D + 0.986452 * (D^2) - 0.170788 * (D^3)$ , uma vez que, o incremento na área com sintomas da QFC em uma folha de coqueiro, ou seja, a soma das áreas de todos os folíolos necrosados, acompanha o acúmulo da área foliar, do ápice para a base, representado nas figuras 2 e 3. Os sintomas da QFC manifestam-se inicialmente no ápice das folhas, progredindo-se ascendentemente, desse ponto em direção ao estipe da planta (Warwick e Leal, 2003; Mariano, 1997; Subileau et al., 1994). Salienta-se, que não foi possível validar esse modelo em folhas com sintomas da QFC, pois os folíolos sintomáticos deformam-se rapidamente e tornam-se quebradiços, impedindo, dessa forma, a medição direta da área foliar necrosada para fins de comparação. Entretanto, com a necrose da ráquis, todos os folíolos que se prendem à mesma, na região necrosada, tornam-se, também, totalmente necrosados. Assim sendo, o formato da curva de incremento da área foliar sintomática ( $m^2$ ) é o mesmo formato da curva de incremento da área foliar assintomática ( $m^2$ ) (Fig. 2 e 3). Dessa forma, o valor de D, no modelo acima, representaria a distância da base do último folíolo totalmente necrosado ao ápice da folha.

Não há até o momento uma metodologia que possa estimar a severidade QFC no campo de maneira acurada e precisa. Ram (1994 e 1990) avaliou o efeito de fungicidas no controle da QFC contando-se o número de folhas com sintomas da doença. Metodologia semelhante foi utilizada por Ram (1989) em estudos epidemiológicos da mesma doença. Já Warwick e Leal (2006), utilizaram a porcentagem de folhas com sintomas da doença (incidência) para avaliar o efeito de fungicidas no desenvolvimento da QFC. No entanto, a estimativa da área foliar com sintomas da doença é fundamental em estudos epidemiológicos e de avaliação de estratégias de controle, onde envolvem doenças foliares (Campbell e Madden, 1990).

Ressalta-se que a maioria dos erros absolutos observados para as estimativas da área foliar acumulada obtida com auxílio do modelo cúbico ficou dentro da faixa de -10% a +10% (Fig. 2A, 2D e 3), valores esses, aceitáveis para quantificação de doenças de plantas (Nutter Jr. e Worawitlikit, 1989; Tormelin e Howell, 1988). Destaca-se, ainda, que houve maior dispersão da área foliar acumulada à medida que se aproxima da base das folhas. Esse padrão foi

observado em todos os modelos analisados (Fig. 2 e 3). Como a QFC provoca queda prematura das folhas infectadas (Mariano, 1997; Warwick e Leal, 2003), raramente são observadas folhas na copa do coqueiro com mais de 70% da ráquis necrosada. Fatos esses, que corroboram a utilização do modelo cúbico para a quantificação da área foliar com sintomas da QFC.

Eventualmente, mesmo as folhas mais baixas da copa da planta encontram-se a uma altura superior a dois metros do solo, pois o coqueiro-anão pode atingir até 10 m de altura (Aragão et al., 2003). Nesse caso, a medição direta da parte necrosada da ráquis (PNR), como sugerido acima, pode se tornar uma tarefa laboriosa. Com o intuito de facilitar as avaliações no campo, Monteiro (2009) propôs uma metodologia para determinar a PNR de forma indireta. A metodologia consiste em posicionar uma régua, de escala conhecida, à distância da folha, de modo a enquadrar visualmente toda a extensão da ráquis na régua. A partir disso, mede-se a PNR e o valor obtido é transformado em porcentagem, considerando que o valor máximo da graduação da régua corresponde a 100%. No entanto, Monteiro (2009) não estimou a área foliar com sintomas da QFC referente à PRN.

De acordo com os resultados apresentados na figura 4, a área foliar acumulada, do ápice para a base da folha, também pode ser estimada utilizando-se como base nos valores da distância da base de cada folíolo ao ápice da folha em porcentagem (DP). Um modelo cúbico também foi o mais adequado ao conjunto dos dados. Portanto, a área foliar acumulada, do ápice para a base da folha de coqueiro, também pode ser estimada através do modelo cúbico, utilizando como variável independente a distância da base de cada folíolo ao ápice da folha em porcentagem. O padrão de maior dispersão da área foliar acumulada à medida que se afasta do ápice das folhas também foi observado (Fig 4B). No entanto, o modelo cúbico desenvolvido para a área AI não foi considerado satisfatório para estimar a área foliar acumulada, em função da DP, para as áreas AII e AIII. Portanto, para fins de quantificação da área foliar com sintomas da QFC, utilizando-se medições de comprimento da ráquis em percentual, sugere-se o desenvolvimento de modelos específicos para cada área.

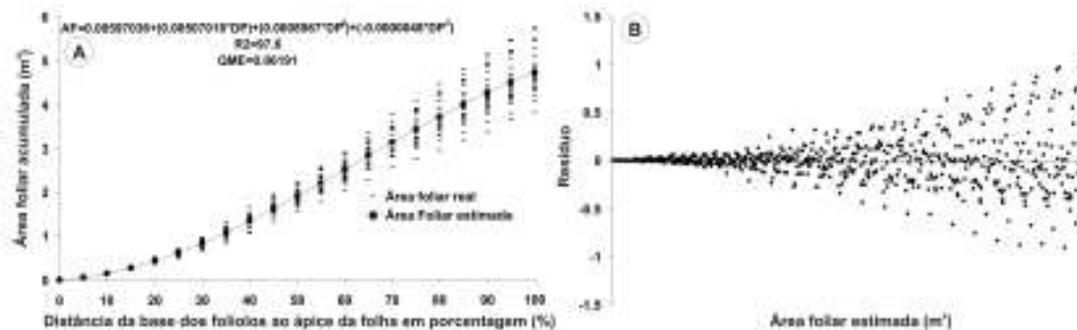


Figura 4: A: Área foliar acumulada (AF) em função da distância da base dos folíolos ao ápice da folha em porcentagem (DP) do tamanho total da ráquis. B: Gráfico dos resíduos referente ao modelo cúbico.

Assim, para fins de quantificação de área foliar com sintomas da QFC, fica a critério de cada pesquisador utilizar o modelo cúbico que utiliza como variável independente a distância da base de cada folíolo ao ápice da folha em valores absolutos ou em porcentagem.

## RESUMO E CONCLUSÕES

No presente trabalho, objetivou-se elaborar e validar um modelo matemático para estimar o acúmulo da área foliar, do ápice para a base das folhas, em função da distância da base de cada folíolo ao ápice da folha, e discutir a possibilidade de utilização desse modelo na estimativa da área foliar com sintomas da QFC. Analisando-se os resultados apresentados neste trabalho, pode-se concluir que: o incremento na área foliar, do ápice para a base da folha, pode ser estimado através de um modelo cúbico, utilizando-se como variável independente a distância da base de cada folíolo ao ápice da folha. Esse modelo também pode ser utilizado para a estimativa da área foliar com sintomas da QFC.

A adoção dessa metodologia para a quantificação da área foliar com sintomas da QFC apresenta-se como uma ferramenta bastante oportuna, haja vista a falta de um sistema padrão de quantificação da mesma. As principais vantagens desse método consistem em estimativas precisas da severidade da

doença, aliado ao baixo custo de operação, além de ser um método relativamente simples e rápido de ser executado. O método poderá ser empregado em estudos epidemiológicos e de controle da doença.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agritempo. Sistema de Monitoramento Agrometeorológico. [www.agritempo.gov.br/agroclima/sumario](http://www.agritempo.gov.br/agroclima/sumario). Acesso em 02-11-06.
- Aragão, W.M., Ribeiro, F.E., Tupinambá, E.A. e Siqueira, E.R. (2003) Variedades e híbridos. *In: Ferreira, J.M.S, Fontes, H.R., Ribeiro, F.E. e Fernandes, M.F. Coco: Produção. Aspectos Técnicos*. Embrapa Informações tecnológicas, Brasília, DF, 11-13.
- Araújo, E.C.E., Santos, E.P., e Prado, C.H.B.A. (2005) Estimativa de Área Foliar *Mangifera indica* L. Cultivar cvs. Tommy Atkins e Haden, Utilizando Dimensões Lineares. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 27 (2): 308-309.
- Blanco, F.F. e Folegatti, M.V. (2005) Estimation of leaf area for greenhouse cucumber by linear measurements under salinity and grafting. *Scientia Agrícola*, 62 (4): 305-309.
- Campbell, C.L. e Madden, L.V. (1990) *Introduction to plant disease epidemiology*. New York. John Wiley e Sons. 532p.
- Freire, F.C.O., Viana, F.M.P., Cardoso, J.E., e Santos, A.A. (2004). Novos Hospedeiros do fungo *Lasiodiplodia theobromae* no estado do Ceará. *Comunicado técnico*, 91, 6p.
- Gutiérrez Cuenca, M.A. e Siqueira, L.A (2003). Aspectos econômicos da cocoicultura. *In: Ferreira, J.M.S, Fontes, H.R., Ribeiro, F.E. e Fernandes, M.F. Coco: Produção. Aspectos Técnicos*. Embrapa, Informações tecnológicas, Brasília, DF, p. 11-13.
- Halfeld-Vieira, B. e Nechet, K.L. (2005). Queda de frutos em coqueiro causada por *Lasiodiplodia theobromae* em Roraima. *Fitopatologia Brasileira*, 30: 203.
- IBGE (2009). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br). Acesso em 28-02-2009.
- Mariano, R.L.R. (1997) Doenças do coqueiro (*Cocos nucifera* L.). *In: Bergamin Filho, A., Camargo, L.E.A. e Rezende, J.A.M. (Eds.). Manual de Fitopatologia, Doenças de plantas cultivadas*. São Paulo: Agronômica Ceres, 2: 297-311.

- Monteiro, C.M.P. (2009) *Aplicação axilar de fungicidas sistêmicos no controle da queima-das-folhas do coqueiro (Cocos nucifera)*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 72p.
- Monteiro, J.E.B.A., Sentelhas, P.C., Chiavegato, E.J., Guiselini, C., Santiago, A.V., Prela, A. (2005) Estimação da área foliar do algodoeiro por meio de dimensões e massas das folhas. *Bragantia*, 64: 15-24.
- Nakamura, S., Nitta, Y., Watanabe, M. e Goto, Y. (2009) A method for estimating sago palm (*Metroxylon sagu* Rottb.) leaf area after trunk formation. *Plant Prod. Sci.* 12: 58-62.
- Nutter Jr., F.W. e Worawitlikit, O. (1989) Disease.Pro: A computer program for evaluating and improving a person ability to assess disease proportion. *Phytopathology*, 79:1135. (Abstract).
- Ohler, J.G. (1984) *Coconut, tree of life*. Rome: FAO Plant Production and Protection, paper 57, 446p.
- Aragão, W.M., Ribeiro, F.E., Tupinambá, E.A. e Siqueira, E.R. (2003) Variedades e híbridos. In: Ferreira, J.M.S, Fontes, H.R., Ribeiro, F.E. e Fernandes, M.F. *Coco: Produção. Aspectos Técnicos*. Embrapa Informações tecnológicas, Brasília, DF, p. 11-13.
- Peksen, E. (2007) Non-destructive leaf area estimation model for faba bean (*Vicia faba* L.). *Scientia Horticulturae*, 113: 322–328.
- Queiroa, J.F., Romano, E.D.U., Souza, J.R.P. e Miglioranza, E. (2003). Estimativa da área foliar do Feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) por meio da largura máxima do folíolo central. *Horticultura Brasileira*, 21 (1): 64-68.
- Ram, C. (1993) Características culturais, esporulação e virulência do "strain" do *Botryodiplodia theobromae*, agente causal da queima-das-folhas do coqueiro (*Cocos nucifera*). *Fitopatologia Brasileira*, 18 (2):143-146.
- Ram, C. (1994) Dosagens e intervalos de aplicação da mistura de fungicidas no controle da queima-das-folhas (*Lasiodiplodia theobromae*) do coqueiro. *Fitopatologia Brasileira*, 19: 238-240.
- Ram, C. (1990) Efeito de fungicidas no controle da lixa-pequena (*Catacauma torrendiella*) e queima-das-folhas (*Lasiodiplodia theobromae*) do coqueiro (*Cocos nucifera*) em Sergipe. *Fitopatologia Brasileira*, 15: 289-291.
- Ram, C. (1989) Epidemiologia e controle químico da “queima-das-folhas” (*Botryodiplodia theobromae*) do coqueiro (*Cocos nucifera*). *Fitopatologia Brasileira*, 14: 215-220.

- Ramos, A., Bovi, M.L.A. Folegatti, M.V. e Diotto, A.V. (2008) Estimativas da área foliar e da biomassa aérea da pupunheira por meio de relações alométricas. *Horticultura Brasileira*, 26: 138-143.
- SAEG (1998). *Sistema para análises estatísticas e genéticas*: Versão 4.0. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes.
- Souza, E.F., Araújo, M.C., Posse, R.P., Detmann, E., Bernardo, S., Berbert, P.A. e Santos, P.A. (2005) Estimating the total leaf area of the green dwarf coconut tree (*Cocos nucifera* L.). *Scientia Agricola*, 62 (6): 97-600.
- Souza, M.S. (2004) *Caracterização do intervalo hídrico ótimo de três solos da região Norte Fluminense*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal), Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, 72p.
- Silva, M.C.C, Fontes, P.C.R. e Viana, R.G. (2008) Estimativa da área da folha da batateira utilizando medidas lineares. *Horticultura Brasileira*, 26: 083-087.
- Subileau, C., Renard, J.L. e Lacoste, L. (1994) *Botryosphaeria cocogena* nov. sp. Agente causal du dessèchement foliaire du cocotier au Brésil. *Mycotaxon*, 51: 5-14.
- Tormelin, J.R. e Howell, T.A. (1988) Distrain: a computer program for training people to estimate disease severity on cereal leaves. *Plant Disease*, 72:455-459.
- Tsialtas, J.T., Koundouras, S. e Zioziou, E. (2008) Leaf area estimation by simple measurements and evaluation of leaf area prediction models in Cabernet-Sauvignon grapevine leaves. *Photosynthetica*, 46 (3): 452-456.
- Tsialtas, J.T. e Maslaris, N. (2008) Leaf area prediction model for sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars. *Photosynthetica*, 46 (2): 291-293.
- Warwick, D.R.N. e Leal, M.L.S. (2006) Avaliação de fungicidas no controle da queima-das-folhas (*Botryosphaeria cocogena*) na cultura do coqueiro. Embrapa – Tabuleiros Costeiros. Disponível em [www.cpatc.embrapa.br](http://www.cpatc.embrapa.br).
- Warwick, D.R.N. e Leal, E.C. (2003) Principais doenças foliares. In: Ferreira, J.M.S. *Coco: Fitossanidade*. Embrapa/CPATC, Embrapa Informações tecnológicas, Brasília, DF, 41-50.

#### **4.4. EPIDEMIOLOGIA DA QUEIMA-DAS-FOLHAS DO COQUEIRO-ANÃO NA REGIÃO DE CAMPOS DOS GOYTACAZES**

##### **RESUMO**

A queima-das-folhas (QFC), causada por *Botryosphaeria cocogena*, é atualmente uma das principais doenças do coqueiro no Brasil. Embora seja de ocorrência generalizada no país, pouco se sabe a respeito dos aspectos epidemiológicos da QFC. O objetivo neste trabalho foi caracterizar a QFC na região de campos dos Goytacazes. Para tanto, mensalmente foi quantificada a severidade da queima-das-folhas em três diferentes áreas da região. Com os dados obtidos foram plotadas curvas de progresso da doença ao longo do ano. Variáveis climáticas oriundas de registros horários de temperatura, umidade relativa, precipitação pluviométrica e molhamento foliar foram correlacionados com a severidade da QFC. A QFC ocorreu nas três áreas com 100% das plantas apresentando sintomas da doença, em todas as épocas do ano. Analisando-se o progresso da QFC ao longo do ano não foi possível detectar uma época do ano mais favorável à ocorrência da doença. No entanto, constatou-se que a maioria

das correlações significativas entre variáveis climáticas e severidade da QFC ocorreu no intervalo compreendido entre 14 a 21 dias precedentes a cada data específica. Essas informações são fundamentais para determinar e recomendar estratégias de manejo integrados da QFC.

**Palavras-chave:** variáveis climáticas, *Lasiodiplodia theobromae*, *Cocos nucifera*, *Botryosphaeria cocogena*

## COCONUT LEAF BLIGHT EPIDEMIOLOGY IN CAMPOS DOS GOYTACAZES REGION

### ABSTRACT

Leaf blight (QFC), caused by *Botryosphaeria cocogena*, is currently one of the main coconut disease in Brasil. Although being of general occurrence in the country, less is known about QFC epidemiological aspects. This work aimed to characterize QFC in Campos dos Goytacazes region. For this purpose, monthly leaf blight severity was evaluated in three distinct areas of the region. Using the data obtained, it was plotted disease progress curves along the year. Climate variables from hourly register of temperature, relative humidity, rainfall and leaf wetness were correlated with QFC severity. The QFC took place in the three analyzed areas with 100% of plants showing disease symptoms, in every period of the year. Analyzing QFC progress along a year, it was not possible to detect a most favorable season for disease occurrence. Nevertheless, it was verified that the most of the significative correlations between climate variables and QFC severity occurred in intervals included with 14 to 21 days preceding each evaluation. This information is essential to determine and to propose strategies for QFC integrated management.

Key-words: climate variables, *Lasiodiplodia theobromae*, *Cocos nucifera*, *Botryosphaeria cocogena*

## INTRODUÇÃO

A queima-das-folhas (QFC), causada pelo fungo *Botryosphaeria cocogena* Subileau, forma perfeita de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon e Maubl (= *Botryodiplodia theobromae*) (Index fungorum, 2007; Subileau et al., 1994), é atualmente uma das mais importantes doenças do coqueiro no Brasil. Essa doença está restrita ao Brasil e à Guiana Francesa. No Brasil, encontra-se disseminada nas principais regiões produtoras de coco, estando associadas com perdas significativas de produtividade (Mariano, 1997).

O fungo *L. theobromae* provoca necrose e morte das folhas mais baixas da copa do coqueiro (Warwick e Leal, 2003; Mariano, 1997). Sobre as lesões formam-se principalmente picnídios pretos e ostiolados. Sob condições ambientais favoráveis, os conídios são liberados na forma de cirros (Warwick e Leal, 2003). A abundante massa de esporos produzida durante todo o ano, principalmente entre seis e dez horas da manhã (Correia e Costa, 2005), torna o fungo de fácil disseminação pelo vento. A fase teliomórfica no Brasil ocorre apenas no Pará e nas épocas chuvosas em Sergipe (Warwick, 1997).

O fungo *L. theobromae* é incapaz de penetrar diretamente nos tecidos do hospedeiro. A ocorrência da QFC no campo pode estar associada à presença das estruturas estromáticas formadas pelos fungos *Camarotella torrendiella* e *C. acrocomiae*, agentes causais da lixa-pequena e da lixa-grande, respectivamente. Tais estruturas atuam como “porta-de-entrada” para *L. theobromae* (Mariano, 1997; Souza Filho, 1979).

A QFC atinge as principais lavouras produtoras de coco da região norte fluminense. Na ausência, de cultivares ou híbridos resistentes (Warwick e Leal, 2003), outras medidas de controle têm sido recomendadas, como o uso de fungicidas (Warwick e Leal, 2006; Ram, 1994; Ram, 1990; Ram, 1989), entretanto, sem resultados expressivos. Aplicações de fungicidas nas axilas das

folhas surgem como uma alternativa viável e eficiente para o controle da QFC (Mariano, 2009).

Apesar da importância da QFC para o coqueiro no Brasil, poucos estudos epidemiológicos básicos foram realizados. Há alguns relatos na literatura que apontam uma relação entre maior incidência da queima-das-folhas com a ocorrência de períodos com temperaturas altas e umidade relativa baixa (Warwick e Leal, 2003, Ram, 1989). Sendo assim, o objetivo neste trabalho foi investigar a influência de variáveis climáticas sobre o progresso da queima-das-folhas do coqueiro em diferentes áreas da região de Campos dos Goytacazes.

## MATERIAL E MÉTODOS

O progresso da queima-das-folhas (QFC) do coqueiro foi acompanhado em três diferentes áreas da região de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro. O clima da região, de acordo com classificação climática de Köppen, é caracterizado como tropical úmido, com verão chuvoso e inverno seco. A precipitação pluvial média anual é em torno de 1080 mm, sendo novembro, dezembro e janeiro os meses mais chuvosos e junho, julho e agosto os meses mais secos do ano. A temperatura média anual situa-se entre 24 e 25 °C (Agritempo, 2006).

A Área I, localizada no campus experimental do Colégio Agrícola Antônio Sarlo (21°42'59" S e 41°20'33" W), possui 182 coqueiros da variedade Anã, dispostas em espaçamento de 7 x 7 m. O sistema de irrigação é do tipo microaspersão com um aspersor por planta. O solo desse coqueiral é Argisolo Amarelo Distrófico fragipânico latossólico com relevo suave ondulado (Souza, 2004). As plantas avaliadas tinham aproximadamente treze anos de pós-plantio no início da condução do experimento (fevereiro de 2007).

As outras duas áreas (Área II e Área III) estudadas localizaram-se em uma mesma propriedade particular (Fazenda Tai). Essa propriedade possui cerca de 14 mil pés de coco dispostos no espaçamento 7,5 x 7,5 m. O sistema de irrigação é do tipo microaspersão. O solo predominante é Neossolo Quartzarênico Órtico típico com topografia plana a ligeiramente ondulada. Os coqueiros da área II

foram plantados em fevereiro de 2003 e os da área III em Março de 2000, possuindo assim, respectivamente, quatro e sete anos de plantio no início da condução do experimento (junho de 2007). Contudo, as plantas da área III apresentavam crescimento e produtividade muito abaixo do normal.

### **Quantificação da severidade da QFC**

As avaliações foram realizadas mensalmente em dezoito plantas marcadas na área I, nove plantas na área II e nove plantas na área III. Cada planta consistiu em uma unidade experimental.

A quantificação da severidade da QFC foi realizada com base na distância da base do último folíolo totalmente necrosado ao ápice da folha (CRN), conforme esquema proposto na figura 1. Os valores de CRN de cada folha foram usados para a estimativa da área foliar necrosada, utilizando-se a fórmula  $AFN = -0.00453461 + 0.23411 * CRN + 0.986452 * (CRN^2) - 0.170788 * (CRN^3)$ , proposta no capítulo 3.

A área foliar necrosada total (AFNT), em cada planta, foi calculada pela soma das áreas necrosadas de todas as folhas avaliadas da planta. Foram determinados também a área foliar total de cada planta (AFT) e o número de folhas emitidas por planta por mês. A AFT de cada planta foi estimada em função do comprimento das ráquis das três últimas folhas e do número total de folhas da copa do coqueiro (Souza et al., 2005). Com os valores da AFT e da AFNT determinou-se a porcentagem de área foliar com sintomas da QFC (severidade), para cada planta. Com os valores de severidade de cada planta foram calculadas as severidades médias por mês de cada área.

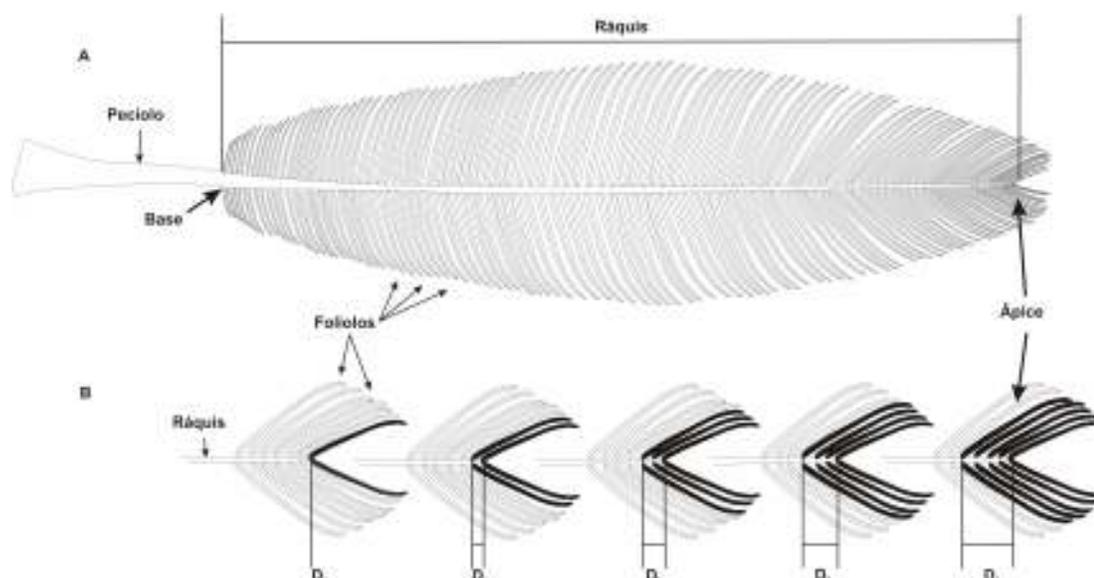


Figura 1: A) Esquema representando uma folha de coqueiro com o pecíolo, a ráquis e os folíolos dispostos ordenadamente aos pares e no mesmo plano da folha. B) Esquema representando como foram feitas as medições da distância da base dos folíolos ao ápice da folha. Os folíolos coloridos de preto representam a área foliar necrosada para cada distância ( $D_0$ ,  $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$ ,  $D_4$ ).

### Variáveis climáticas

Para se analisar a influência dos fatores climáticos sobre a QFC, dados horários de temperatura ( $T$  °C), umidade relativa do ar (UR%) e precipitação pluviométrica ( $P$  mm) foram obtidos do INMET (Instituto Nacional de Meteorologia), na estação meteorológica de Campos dos Goytacazes, instalada a cerca de 100 m da área I. Na propriedade particular, uma mini-estação automática foi instalada, no entanto, problemas relacionados com a bateria solar e com alguns sensores impossibilitaram as coletas diárias dos dados. Para fins comparativos com a severidade da QFC das áreas II e III foram utilizados os dados meteorológicos coletados na estação do INMET.

Os dados de molhamento foliar (MF) na área I foram registrados em uma mini-estação climatológica munida de um coletor de dados digital, SpecWare®, modelo WatchDog – 450, Spectrum Technologies. O abrigo para o coletor foi instalado entre as plantas de coqueiro da área I, à altura de 1,5m, com o sensor de molhamento foliar fixado a um suporte de madeira, na altura das folhas mais baixas da copa do coqueiro.

De posse dos registros horários dos dados meteorológicos, obtiveram-se as seguintes variáveis: Temperatura mínima em °C (T Min); temperatura máxima em °C (T Max.), umidade relativa máxima em % (UR Max.), umidade relativa mínima em % (UR Min), número de horas com umidade relativa maior que 90% (Hr UR>90), número de horas com temperatura menor que 20 °C (Hr T<20), número de horas com temperatura entre 20 °C e 25 °C (Hr T 20-25), número de horas com temperatura entre 25 °C e 30 °C (Hr T 25-30), número de horas com temperatura maior que 30 °C (Hr T >30), número de horas com temperatura menor que 20 °C e umidade relativa UR>90% (Hr T<20 °C e UR>90), número de horas com temperatura entre 20 °C e 25 °C e umidade relativa UR>90% (Hr T 20-25 °C e UR>90), número de horas com temperatura entre 25 °C e 30 °C e umidade relativa UR>90% (Hr T 25-30 e UR>90), número de horas com temperatura maior que 30 °C e umidade relativa UR>90% (Hr T >30 °C e UR>90), número de horas com molhamento foliar (Hr MF) e precipitação em mm (P). Para T Min, T Max, %UR Min, %UR Max e Hr UR>90% os valores foram separados em período diurno (7 às 18h) e noturno (19 às 6h).

### **Análises estatísticas**

Com os valores médios da severidade da queima-das-folhas foram traçadas curvas de progresso da doença ao longo do ano, para as três áreas amostradas. Foram efetuadas análises de correlação de Pearson's entre a severidade da queima-das-folhas e os valores médios de T Max., T Min., UR Max. e UR Min. ou com número de horas acumuladas de exposição de Hr T<20, Hr T 20-25, Hr T 25-30, Hr T >30, Hr T<20 °C e UR>90, Hr T 20-25 °C e UR>90, Hr T 25-30 e UR>90, Hr T >30 °C e UR>90 e Hr MF. Para tanto, foram considerados os seguintes intervalos de tempo anteriores a cada data de quantificação da severidade da doença: 1 a 7 dias, 1 a 15 dias, 1 a 30 dias, 7 a 14 dias e 14 a 21 dias. Já para precipitação, foram efetuadas análises de correlação entre a severidade da doença e a quantidade de chuva (mm) acumulada em cada

intervalo citado anteriormente. As análises estatísticas foram processadas com o auxílio do SAEG (1998).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As curvas de progresso da queima-das-folhas do coqueiro (QFC) nas três áreas encontram-se representadas nas figuras 2, 3, 4 e 5. A QFC ocorreu nas três áreas com 100% das plantas apresentando sintomas da doença, em todas as épocas do ano. Verificou-se que número médio de horas diárias com umidade relativa acima de 90% foi superior a 3 h em praticamente todos os meses de 2007 e 2008. Esse fato, aliado à presença constante de esporos do fungo durante todo o ano (Correia e Costa, 2005) pode ter contribuído para a ocorrência da doença em todos os meses do ano.

Analisando-se as curvas de progresso da doença ao longo dos anos de 2007 e de 2008, observou-se que as maiores severidades da QFC foram registradas principalmente nos meses mais frios e com pouca pluviosidade (Fig. 2, 3, 4 e 5). Na área II os maiores valores da severidade dessa doença foram registrados nos meses de agosto (9%) e setembro (9,1%) de 2007 e de julho (9,2%) de 2008. Tendência semelhante foi constatada na área III, com maiores valores da severidade da doença ocorrendo nos meses de agosto (4,9 %) de 2007 e julho (9%) de 2008. Na área I, houve pouca oscilação da QFC ao longo do ano de 2007. No entanto, em 2008, a severidade da doença atingiu 9,7% em outubro e 9,8% em novembro (9,8 %). Predominaram durante esses meses, temperaturas entre 20 a 25 °C. Temperaturas menores que 20 °C prevaleceram nos meses de junho, julho e agosto, com duração média diária em torno de 10 h. Nesse período praticamente não foi registrada temperaturas maiores que 30 °C (Fig. 2B e 3B). As chuvas foram frequentes e relativamente bem distribuídas apenas nos meses de novembro a abril, atingindo uma lâmina acumulada de aproximadamente 1100 mm no ano de 2007 (Fig. 3C) e 1800 mm no ano de 2008 (Fig. 5C). Porém, apesar da reduzida pluviosidade nos meses de maio a outubro, foram registradas nesses meses em média 9 h diárias com MF (Fig. 3B e 5B). O

desenvolvimento de muitas doenças de plantas está associado à ocorrência de prolongados períodos de molhamento foliar (Campbell e Madden, 1990).

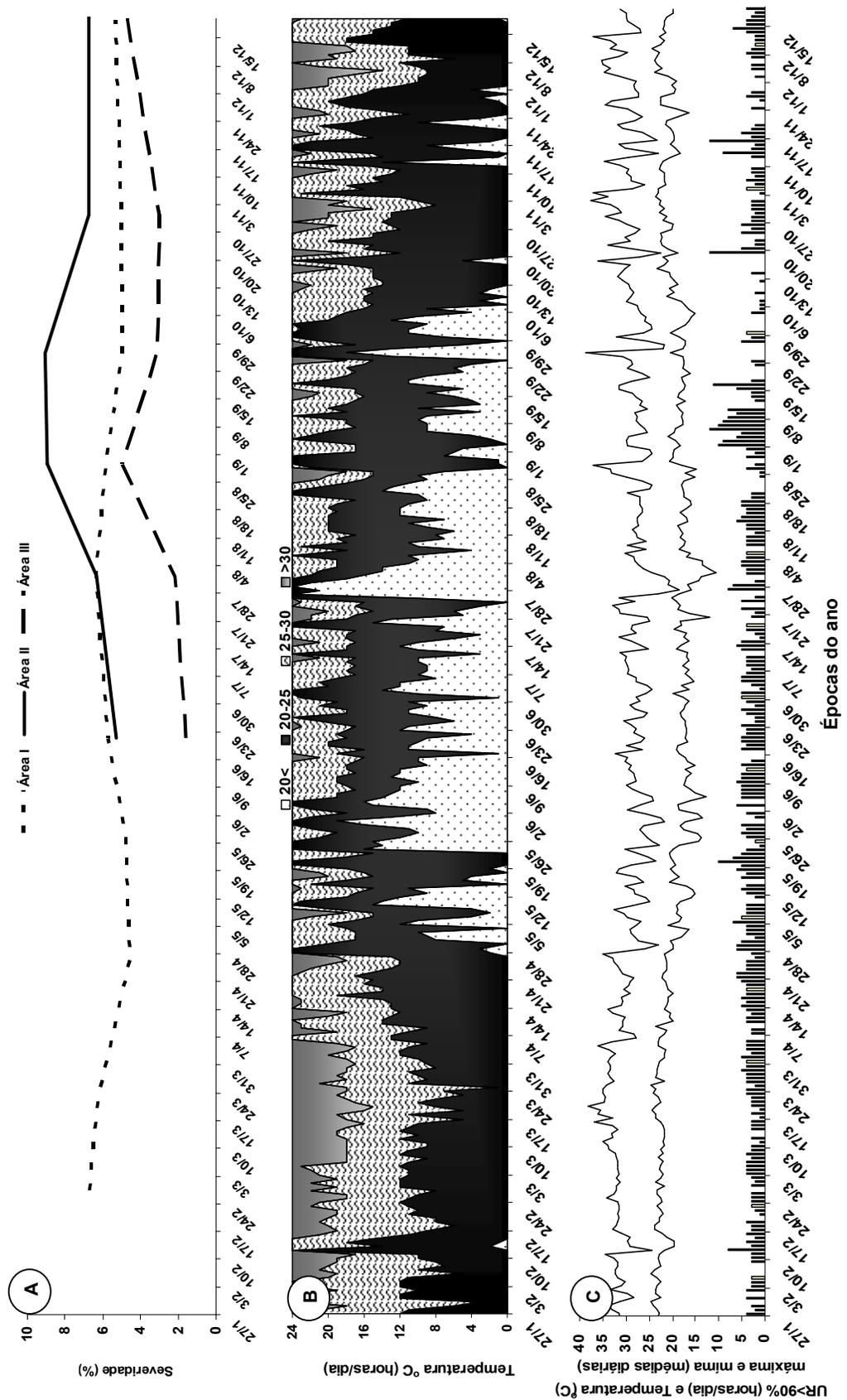


Figura 2: A: Progresso da queima-das-folhas do coqueiro (QFC) na Área I, na Área II e na Área III; B: Horas diária com temperaturas < 20 °C, de 20 e 25 °C, de 25-30 °C e > 30 °C; C: Horas com umidade relativa (UR) maior que 90% (barras) associadas a temperaturas máximas e mínimas. Ano de 2007.

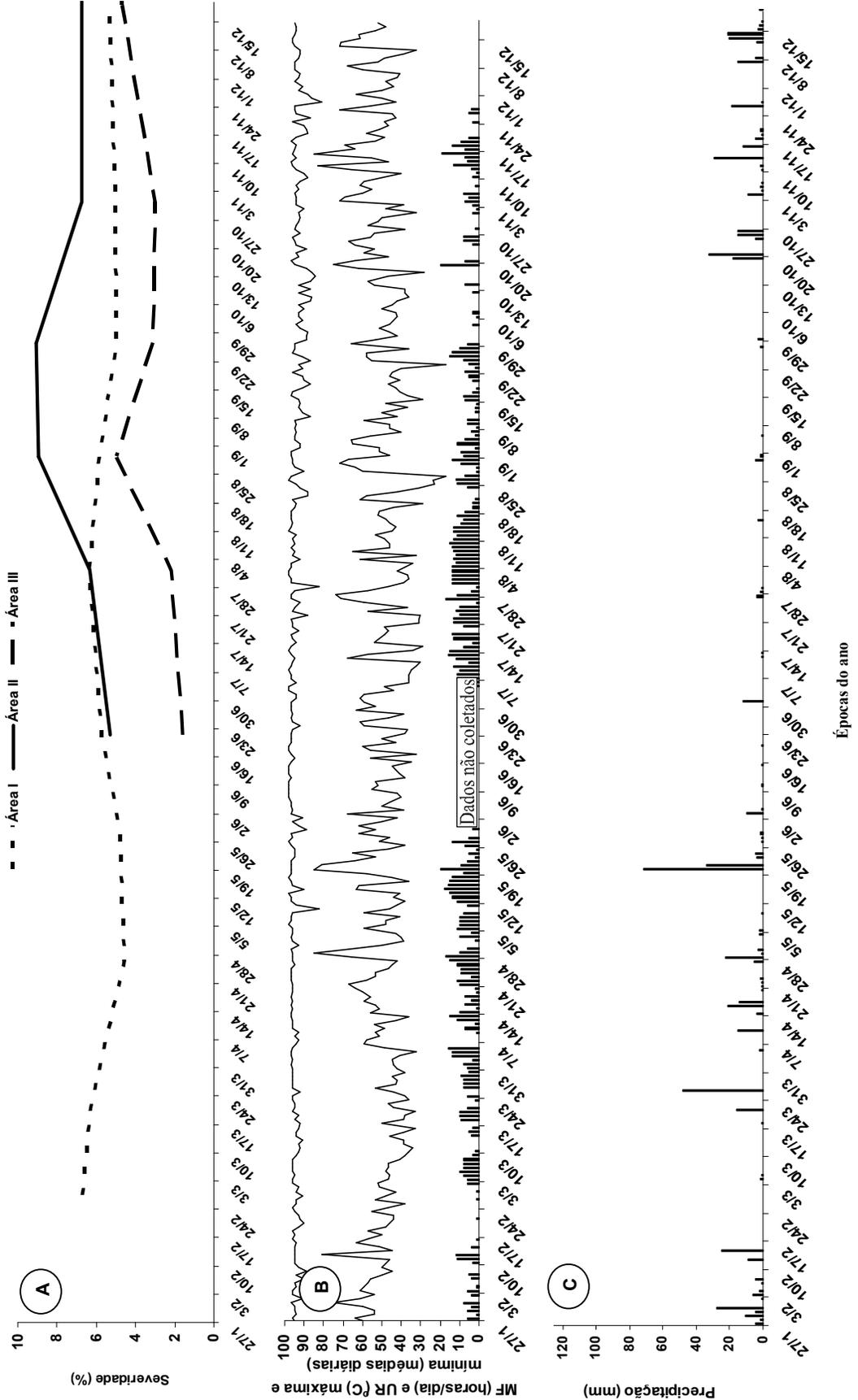


Figura 3: A: Progresso da queima-das-folhas do coqueiro (QFC) na Área I, na Área II e na Área III; B: Horas com molhamento foliar (MF) (barras) associadas a temperaturas máximas e mínimas; C: Precipitação pluvial. Ano de 2007.

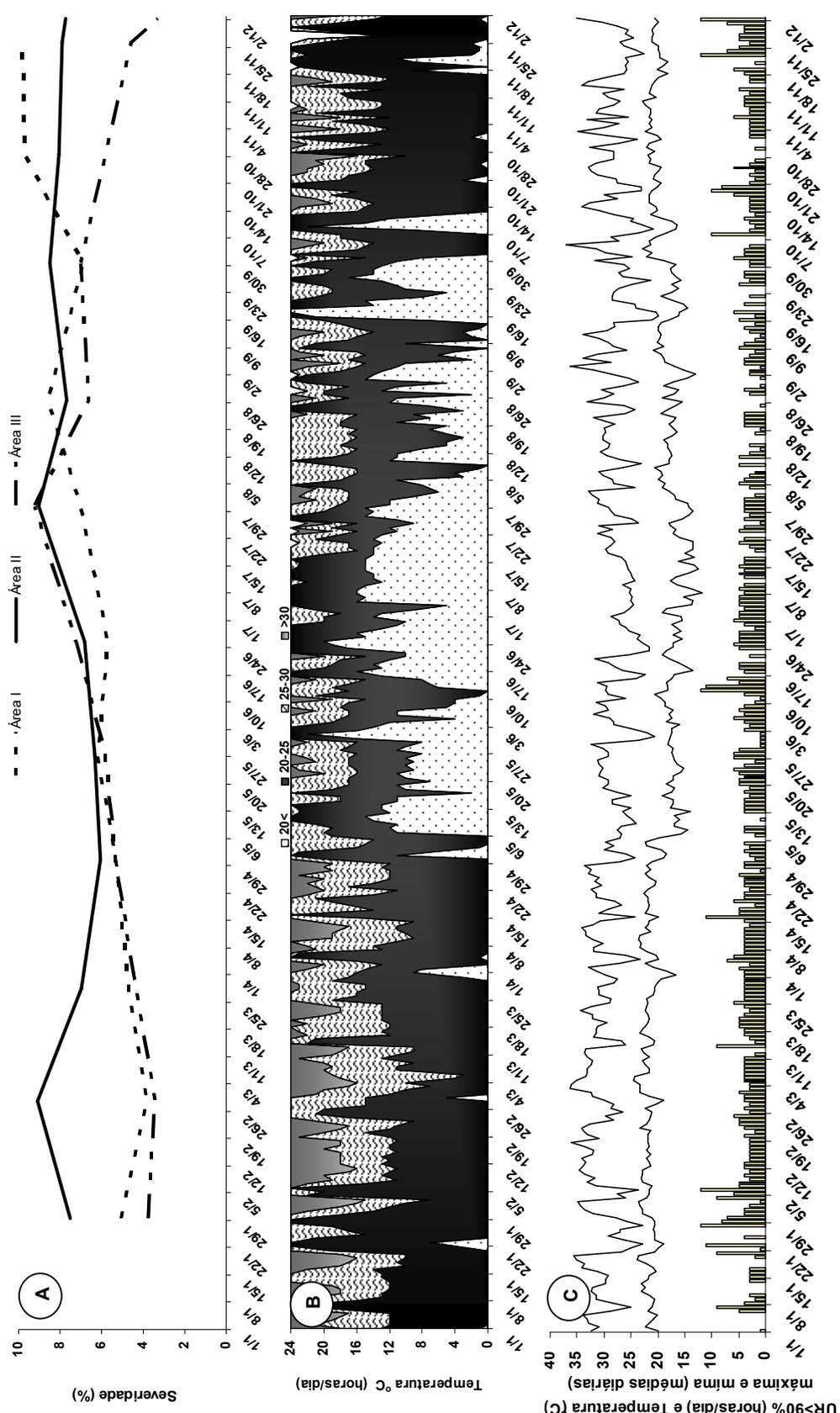


Figura 4: A: Progresso da queima-das-folhas do coqueiro (QFC) na Área I, na Área II e na Área III; B: Horas diária com temperaturas < 20 °C, de 20 e 25 °C, de 25-30 °C e > 30 °C; C: Horas com umidade relativa (UR) maior que 90% (barras) associadas a temperaturas máximas e mínimas. Ano de 2008.

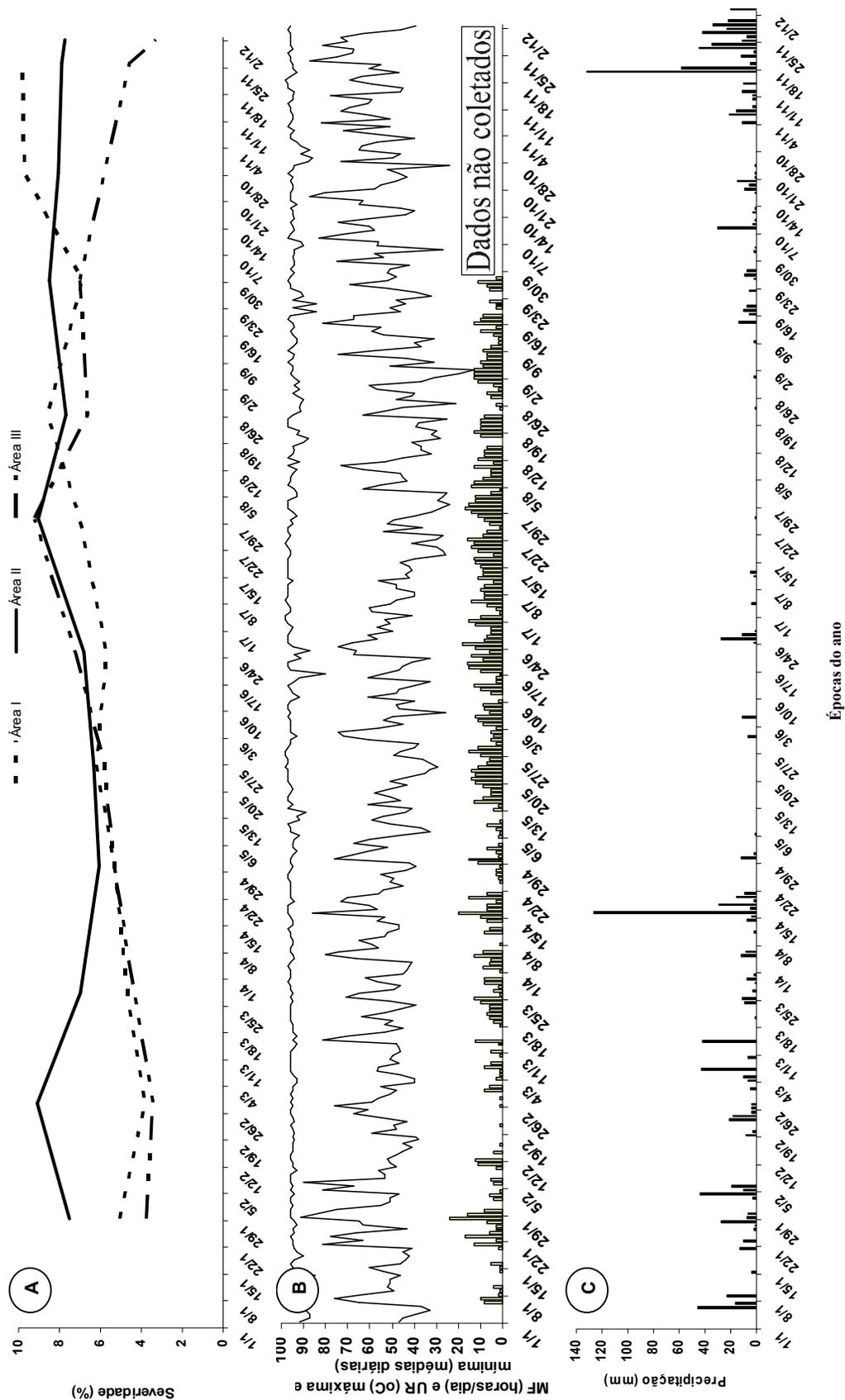


Figura 5: A: Progresso da queima-das-folhas do coqueiro na Área I, na Área II e na Área III; B: Horas com molhamento foliar (MF) (barras) associadas a temperaturas máximas e mínimas; C: Precipitação pluvial. Ano de 2008.

Verificou-se, contudo, que os picos de máxima severidade da doença coincidentemente foram observados nos meses onde as plantas apresentavam maior área foliar assintomática (Fig. 6), justificado pelo maior número de folhas por planta (Tabela 1). Por outro lado, nos meses onde foram observadas as menores severidades da doença, as plantas apresentaram menor área foliar assintomática (Fig. 6) e menor número de folhas por planta (Tabela 1). Normalmente, o coqueiro apresenta menor número de folhas por planta nas épocas mais secas do ano. Sob tais condições, a desfolha é maior e ocorre menor taxa de emissão foliar (Passos et al., 2007). Como as áreas AI, AII e AIII possuem sistema de irrigação por microaspersão, outros fatores, além da pluviosidade, podem ter contribuído para a diminuição na área foliar assintomática observada principalmente nos períodos mais chuvosos.

Foi registrado maior número de horas diárias com temperaturas acima de 25 °C nos meses de novembro a abril (Fig. 2B e 4B). Esse período coincide com os meses mais chuvosos (Fig. 3C e 5C), com a menor área foliar assintomática dos coqueiros e com as menores severidades da QFC (Fig. 6). Duas explicações são possíveis para esse fato. A primeira é que as temperaturas mais elevadas podem ter aumentado a senescência e, conseqüentemente, a queda precoce das folhas mais velhas do coqueiro, diminuindo, assim, o número de folhas por planta, o número de folhas com sintomas da QFC, a área foliar assintomática das plantas e a severidade da QFC. Ressalta-se, que os sintomas da QFC se manifestaram sempre nas folhas mais velhas, ou seja, nas folhas mais baixas da copa das plantas (Warwick e Leal, 2003; Mariano, 1997). A segunda explicação possível, que pode estar ligada ou não à primeira, é o fato de a QFC causar queda precoce das folhas do coqueiro (Mariano, 1997). Nesse caso, as temperaturas mais elevadas podem ser mais favoráveis ao fungo *L. theobromae*, promovendo, assim, um desenvolvimento mais rápido dos sintomas da QFC e, conseqüentemente, a queda das folhas mais baixas da copa das plantas.

Tabela 1: Valores médios mensais do número de folhas por planta (NFP), da porcentagem de folhas com sintomas da QFC por planta (IQP), da posição ou número da folha onde são observados os primeiros sintomas da QFC (PFSQ) e do número de folhas emitidas por planta (NFE) para as Áreas I, II e III.

Anos/Meses	Área I				Área II				Área III			
	NFP	PFSQ	IQP	NFE	NFP	PFSQ	IQP	NFE	NFP	PFSQ	IQP	NFE
2007	Fev.	23.82	19.24	22.22	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mar.	23.17	18.67	23.50	-	-	-	-	-	-	-	-
	Abr.	22.94	18.56	21.55	-	-	-	-	-	-	-	-
	Mai.	23.94	18.94	23.58	-	-	-	-	-	-	-	-
	Jun.	24.89	19.17	25.67	19.63	13.38	35.03	1.13	15.29	12.14	25.23	1.00
	Jul.	24.72	18.83	25.17	21.00	13.44	37.57	1.67	15.71	12.00	28.18	0.71
	Ago.	24.17	18.56	24.14	21.33	13.33	40.63	1.33	15.43	12.29	24.07	1.14
	Set.	23.44	19.11	20.85	19.11	13.67	31.98	1.11	15.29	12.57	23.36	0.71
	Out.	22.00	18.67	17.93	19.44	14.56	30.86	1.33	15.71	11.71	28.18	0.71
	Nov.	-	-	-	19.44	14.78	29.14	0.44	15.86	11.86	30.63	0.57
	Dez.	22.88	19.47	16.45	20.56	16.33	25.41	1.78	14.86	11.57	25.00	1.00
	2008	Jan.	23.76	19.65	17.08	21.11	15.78	27.89	1.11	14.33	10.50	27.91
Fev.		23.65	19.29	16.92	20.67	15.67	27.42	1.00	15.00	10.50	32.22	0.83
Mar.		24.29	19.35	20.58	20.67	14.89	32.26	1.67	15.43	11.14	33.33	1.14
Abr.		25.53	19.41	23.50	21.00	15.22	31.75	0.67	15.57	11.14	33.03	0.57
Mai.		25.76	19.59	25.57	21.67	16.00	30.77	1.56	15.86	11.57	31.53	0.71
Jun.		24.47	19.59	22.36	22.33	15.67	33.33	1.00	16.43	12.29	28.70	0.86
Jul.		24.29	17.53	28.81	20.89	13.78	35.11	0.44	15.43	12.29	24.07	0.86
Ago.		23.53	17.59	26.00	19.78	12.44	38.20	0.67	15.57	11.29	28.44	0.71
Set.		21.82	16.35	25.07	19.44	12.11	40.57	0.56	14.57	11.00	28.43	0.57
Out.		22.18	17.24	23.87	18.89	12.33	39.41	1.33	14.43	10.71	29.70	0.71
Nov.		22.88	17.88	23.39	19.63	13.38	35.03	1.13	15.29	12.14	25.23	1.00

“- “ Dados não registrados

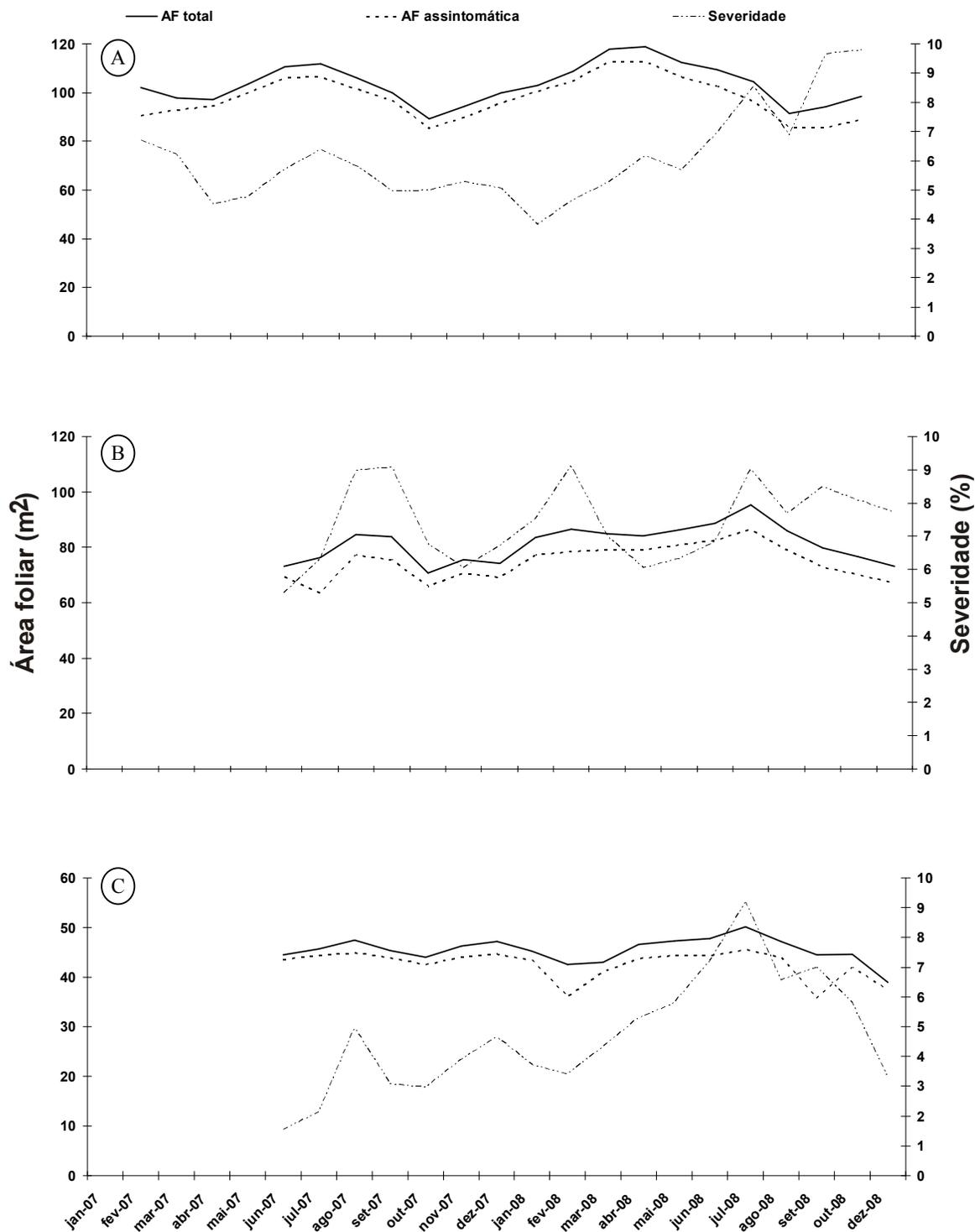


Figura 6: Área foliar total e Área foliar assintomática versus porcentagem de área foliar necrosada (severidade) para a Área I (A), Área II (B), e Área III (C), ao longo de 2007 e 2008.

Não foi observada uma relação entre as épocas do ano e o início dos sintomas da QFC. No entanto, houve uma relação entre número de folhas por planta e início dos sintomas da QFC (Tabela 1). Na área I, em média, os primeiros sintomas da QFC manifestaram-se a partir das folhas 16 a 18, sendo que, o número médio de folhas por planta ao longo do ano variou de 22 a 26. Por outro lado, na área II, onde o número de folhas por planta ao longo do ano ficou em torno de 20, os primeiros sintomas da QFC foram constatados em média na folha 14. Na área III, as plantas, apesar de terem sido plantadas três anos antes das plantas da área II, apresentavam crescimento muito abaixo do normal, com cerca de 15 folhas por planta, em média. Nessas plantas os primeiros sintomas da doença foram observados em média na folha 12. Assim, possivelmente o início dos sintomas da QFC está relacionado com o início da senescência das folhas do coqueiro.

As plantas apresentaram uma contínua emissão foliar durante todas as épocas do ano (Tabela 1). Os coqueiros emitiram, em média, 13 folhas por ano, com exceção das plantas da área III, que emitiram, em média, cerca de nove folhas ao ano, o que está de acordo com Comboim Neto (2002), que relata a emissão de uma nova folha a cada 25 dias, quando o coqueiro é cultivado em condições ideais. Plantas sob condição de estresse reduz o número de folhas emitidas (Comboim Neto, 2002), decorrente do aumento no intervalo de emissão foliar (Ferreira Neto et al., 2007). Não foi diagnosticada até o momento a causa do baixo desenvolvimento e produtividade das plantas da área III. Sabe-se, pelo histórico da área, que outras culturas, como cana-de-açúcar, que já foram cultivadas na mesma área, também apresentaram crescimento e produtividade anormal. A condição de estresse submetida às plantas da área III também foi evidenciada no número de folhas por planta. As plantas dessa área apresentaram, em média, 15 folhas na copa. Com relação à QFC, Warwick et al., 1993 relataram que plantas de coqueiro sob estresse são mais suscetíveis a ocorrência e desenvolvimento da QFC. Já que, *L. lasiodiplodia* é um fungo oportunista, geralmente associado a processos de infecção em plantas estressadas e submetidas a ferimentos (Mariano, 1997). Entretanto, o progresso da QFC nas plantas da área III foi similar aos observados para as áreas I e II (Fig. 2 e 4).

Pelo que se observa na tabela 2, na área I houve correlação significativa e positiva entre a severidade da QFC com umidade relativa máxima ( $r=0,55$   $P=0,01$ ) e umidade relativa mínima ( $r=0,54$   $P=0,01$ ), com valores médios ocorridos no período diurno entre 14 e 21 dias anterior a cada avaliação. Fato esse, também observado no período noturno. Nesse mesmo período houve também correlação significativa e negativa entre severidade e temperatura máxima durante o período diurno ( $r=-0,38$   $P=0,05$ ) e noturno ( $r=-0,38$   $P=0,05$ ). No entanto, para todas as demais variáveis, excetuando-se o número de horas com temperatura entre 25 e 30 °C e umidade relativa  $UR>90\%$  no período de 1 a 7 dias ( $r=-0,4$  e  $P=0,04$ ), as correlações não foram significativas para nenhum dos períodos avaliados. Não foi registrado a ocorrência de temperaturas maiores que 30 °C e  $UR>90\%$  durante a condução do experimento.

Na tabela 3, estão representados somente os coeficientes de correlação para as áreas II e III referentes ao período entre 14 e 21 dias anterior às avaliações, pois não houve correlação significativa para todas as demais variáveis nos outros períodos (1-7, 1-15, 1-30 e 7-14). O comportamento da QFC nas áreas II e III em relação à temperatura no período da noite apresentou consistência com os resultados observados na área I. Não foi possível, contudo, estabelecer uma faixa de temperatura mais favorável à ocorrência da doença. Percebe-se, no entanto, que de modo geral há uma tendência de as temperaturas mais amenas serem favoráveis à ocorrência da doença. Sendo que, as faixas de temperatura que apresentaram correlação significativa e negativa com a severidade da doença foram as de 20 e 25 ( $r=-0,58$   $P=0,01$ ), na área III e, as de 25 a 30 ( $r=-0,48$   $P=0,03$ ), na área II. Houve também correlação significativa e positiva entre a severidade da doença e número de horas com temperatura menor que 20 °C com umidade relativa  $UR>90\%$  na área II ( $r=0,50$   $P=0,02$ ) e na área III ( $r=0,55$   $P=0,01$ ). Na área III, observou-se correlação significativa e negativa entre doença e precipitação ( $r=-0,46$   $P=0,03$ ), fato esse não observado nas áreas I e II.

Tabela 2: Coeficientes de Pearson's ( $r$ ) e o nível de significância ( $P$ ) para a relação entre a porcentagem de área foliar com sintomas da queima-das-folhas (severidade %) versus temperatura máxima (T Max.), temperatura mínima (T Min.), umidade relativa máxima (UR Max.), umidade relativa mínima (UR Min), número de horas com umidade relativa maior que 90% (Hr UR>90), número de horas com temperatura menor que 20 °C (Hr T<20), número de horas com temperatura entre 20 °C e 25 °C (Hr T 20-25), número de horas com temperatura entre 25 °C e 30 °C (Hr T 25-30), número de horas com temperatura maior que 30 °C (Hr T >30), número de horas com temperatura menor que 20 °C e umidade relativa UR>90% (Hr T<20 °C e UR>90), número de horas com temperatura entre 20 °C e 25 °C e umidade relativa UR>90% (Hr T 20-25 °C e UR>90), número de horas com temperatura entre 25 °C e 30 °C e umidade relativa UR>90% (Hr T 25-30 e UR>90), número de horas com temperatura maior que 30 °C e umidade relativa UR>90% (Hr T >30 °C e UR>90), número de horas com molhamento foliar (Hr MF), precipitação (P). (Área I)

Variáveis climáticas		Severidade (%)									
		1-7 dias		1-15 dias		1-30 dias		7-14 dias		14-21 dias	
		$r$	$P$	$r$	$P$	$r$	$P$	$R$	$P$	$r$	$P$
Diurna	T Min.	-0,17	0,23	-0,22	0,16	-0,29	0,11	-0,29	0,11	-0,35	0,06
	T Max.	-0,18	0,22	0,21	0,17	-0,29	0,12	-0,28	0,13	-0,38	0,05
	UR Max	-0,23	0,16	-0,07	0,38	-0,10	0,34	-0,05	0,42	0,55	0,01
	UR Min.	-0,25	0,13	-0,08	0,36	-0,11	0,32	-0,09	0,42	0,54	0,01
	Hr UR> 90	-0,12	0,30	-0,05	0,41	-0,23	0,16	-0,13	0,29	0,16	0,26
Noturna	T Min.	-0,25	0,13	-0,31	0,09	-0,31	0,09	-0,29	0,11	-0,32	0,09
	T Max.	-0,27	0,12	0,34	0,08	-0,34	0,08	-0,32	0,09	-0,38	0,05
	UR Max	-0,14	0,28	-0,03	0,45	0,04	0,44	0,05	0,42	0,48	0,02
	UR Min.	0,14	0,28	-0,01	0,49	0,06	0,40	-0,06	0,36	0,50	0,01
	Hr UR> 90	-0,25	0,14	-0,14	0,29	-0,14	0,28	-0,04	0,44	0,34	0,07
Hr T<20		0,18	0,22	0,20	0,21	0,23	0,17	0,18	0,23	0,24	0,16
Hr T 20-25		-0,01	0,48	0,02	0,47	0,05	0,42	0,02	0,47	0,25	0,14
Hr T 25-30		-0,33	0,07	-0,35	0,07	-0,31	0,09	-0,20	0,21	-0,31	0,09
Hr T >30		-0,08	0,37	-0,26	0,14	-0,36	0,06	-0,34	0,08	-0,50	0,01
Hr T<20 e UR>90		0,14	0,26	0,15	0,26	0,22	0,17	0,15	0,26	0,26	0,13
Hr T 20-25 °C e UR>90%		-0,19	0,20	-0,10	0,34	-0,18	0,22	-0,03	0,44	0,04	0,43
Hr T 25-30 e UR>90		-0,40	0,04	-0,35	0,06	-0,25	0,14	-0,12	0,30	-0,23	0,15
Hr T >30 e UR>90		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P (mm)		0,19	0,21	0,20	0,21	0,11	0,33	0,19	0,22	0,04	0,44
Hr MF		0,19	0,23	0,25	0,17	0,40	0,6	0,23	0,19	0,34	0,09

“-“ Dados não registrados

Tabela 3: Coeficientes de Pearson's ( $r$ ) e o nível de significância ( $P$ ) para a relação entre a porcentagem de área foliar com sintomas da queima-das-folhas (severidade %) versus temperatura máxima (T Max.), temperatura mínima (T Min.), umidade relativa máxima (UR Max.), umidade relativa mínima (UR Min), número de horas com umidade relativa maior que 90% (Hr UR>90), número de horas com temperatura menor que 20 °C (Hr T<20), número de horas com temperatura entre 20 °C e 25 °C (Hr T 20-25), número de horas com temperatura entre 25 °C e 30 °C (Hr T 25-30), número de horas com temperatura maior que 30 °C (Hr T >30), número de horas com temperatura menor que 20 °C e umidade relativa UR>90% (Hr T<20 °C e UR>90), número de horas com temperatura entre 20 °C e 25 °C e umidade relativa UR>90% (Hr T 20-25 °C e UR>90), número de horas com temperatura entre 25 °C e 30 °C e umidade relativa UR>90% (Hr T 25-30 e UR>90), número de horas com temperatura maior que 30 °C e umidade relativa UR>90% (Hr T >30 °C e UR>90), número de horas com molhamento foliar (Hr MF), precipitação (P). (Área II e III)

Variáveis climáticas		Severidade (%)			
		Área II		Área III	
		14-21 dias		14-21 dias	
		$r$	$P$	$r$	$P$
Diurna	T Min.(°C)	-0,35	0,09	-0,45	0,03
	T Max. (°C)	-0,34	0,09	-0,44	0,04
	%UR Max	-0,07	0,40	-0,18	0,24
	%UR Min.	-0,11	0,33	-0,23	0,19
	Hr UR> 90%	0,12	0,32	-0,08	0,38
Noturna	T Min.(°C)	-0,42	0,05	-0,49	0,02
	T Max. (°C)	-0,43	0,04	-0,48	0,03
	%UR Max	0,04	0,43	-0,03	0,44
	%UR Min.	0,06	0,41	-0,14	0,30
	Hr UR> 90%	0,22	0,20	0,09	0,36
	Hr T<20 °C	0,43	0,04	0,55	0,01
	Hr T 20-25 °C	-0,33	0,09	-0,58	0,01
	Hr T 25-30 °C	-0,48	0,03	-0,34	0,09
	Hr T >30 °C	-0,08	0,39	-0,24	0,17
	Hr T<20 °C e Hr UR>90%	0,50	0,02	0,55	0,01
	Hr T 20-25 °C e Hr UR>90%	-0,22	0,20	-0,37	0,07
	Hr T 25-30 °C e Hr UR>90%	-0,10	0,35	-0,06	0,41
	Hr T >30 °C e Hr UR>90%	-	-	-	-
	P (mm)	-0,01	0,49	-0,46	0,03

“-“ Dados não registrados

Há alguns relatos na literatura que apontam uma relação entre maior intensidade da QFC com a ocorrência de períodos com temperaturas altas e umidade relativa baixa (Warwick e Leal, 2003, Ram, 1989). Uma possível explicação para a não concordância dos dados apresentados aqui com os da literatura pode estar na forma de se quantificar a intensidade dessa doença. Muitos trabalhos que envolvem a quantificação da intensidade da QFC se baseiam na incidência (Warwick e Leal, 2006; Ram, 1994; Ram, 1989). Há de se considerar que o presente estudo foi o primeiro que realmente apresentou a oscilação da severidade da QFC ao longo do ano e que demonstrou a importância das condições climáticas para a doença, principalmente nos períodos entre 14 e 21 dias precedentes a cada data de avaliação.

Outros experimentos devem ser realizados objetivando esclarecer quando acontece a infecção e qual o período de suscetibilidade dos tecidos do coqueiro ao fungo *L. theobromae*. Sugere-se, também, que sejam realizados estudos semelhantes aos apresentados neste trabalho, no entanto, por períodos mais longos e em lavouras com diferentes datas de plantio, sendo esses estudos necessários para se determinar em qual estágio de desenvolvimento os coqueiros se tornam suscetíveis ao fungo e para esclarecer as variações no comportamento da QFC apresentadas nas três diferentes áreas. Outro fato a ser investigado é o dano causado pela QFC ao coqueiro nas diferentes épocas do ano.

## **RESUMO E CONCLUSÕES**

O presente trabalho foi conduzido com objetivos de acompanhar o progresso da queima-das-folhas do coqueiro (QFC) ao longo do ano e investigar a influência de variáveis climáticas sobre o progresso dessa doença em diferentes áreas da região de Campos dos Goytacazes. Com base nos resultados obtidos neste trabalho não foi possível estabelecer uma época do ano mais favorável à ocorrência da QFC, bem como, detectar variáveis climáticas com relação direta com severidade da QFC. No entanto, constatou-se que a maioria das correlações

significativas entre variáveis climáticas e severidade da QFC ocorreu no intervalo de 14 a 21 dias precedente a cada data específica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Campbell, C.L. e Madden, L.V. (1990) *Introduction to plant disease epidemiology*. New York. John Wiley e Sons. 532p.
- Comboim Neto, L.F. (2002) *Coqueiro anão verde: influência de diferentes lâminas de irrigação e de porcentagens de área molhada no desenvolvimento, na produção e nos parâmetros físicos-químicos do fruto*. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola), Viçosa – MG, Universidade Federal de Viçosa - UFV, 121p.
- Correia, M. S. e Costa, J.L.S. (2005). Dispersão anemórfica do fungo *Lasiodiplodia theobromae* em plantações de coqueiro. *Fitopatologia brasileira*, 30: 150-154.
- Ferreira Neto, M., Gheyi, H.R., Fernandes, P.D., Holanda, J.S. e Blanco, F.F. (2007) Emissão foliar, relações iônicas e produção do coqueiro irrigado com água salina. *Ciência Rural*, 6: 1675-1681.
- Mariano, R.L.R. (1997) *Doenças do Coqueiro (Cocos nucifera L.)*. In: Bergamin Filho A., Kimati H., Amorim L., eds. Manual de Fitopatologia; v.:2; Ceres; p. 297-311.
- Passos, C.D., Passos, E.E.M. e Aragão, W.M. (2007) Comportamento fenológico do coqueiro anão verde nos tabuleiros costeiros de Sergipe. *Revista Brasileira de Biociências*, 5(2): 393-395.
- Ram, C. ( 1994) Dosagens e intervalos de aplicação da mistura de fungicidas no controle da queima-das-folhas (*Lasiodiplodia theobromae*) do coqueiro. *Fitopatologia Brasileira*, 19: 238-240.
- Ram, C. (1990) Efeito de fungicidas no controle da lixa-pequena (*Catacauma torrendiella*) e queima-das-folhas (*Lasiodiplodia theobromae*) do coqueiro (*Cocos nucifera*) em Sergipe. *Fitopatologia Brasileira*, 15: 289-291.
- Ram, C. (1989) Epidemiologia e controle químico da “queima-das-folhas” (*Botryodiplodia theobromae*) do coqueiro (*Cocos nucifera*). *Fitopatologia Brasileira*, 14: 215-220.
- SAEG (1998). Sistema para análises estatísticas e genéticas: Versão 4.0. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes

- Souza, E.F., Araújo, M.C., Posse, R.P., Detmann, e., Bernardo, S., Berbert, P.A. e Santos, P.A. (2005) Estimating the total leaf area of the green dwarf coconut tree (*Cocos nucifera* L.). *Scientia Agricola*, 62 (6): 597-600.
- Souza Filho, B.F., Santos Filho, H.P. e Robbs, C.F. (1979) Etiologia da "queima" das folhas do coqueiro. *Fitopatologia Brasileira*, 4: 5-10.
- Souza, M.S. (2004) Caracterização do intervalo hídrico ótimo de três solos da região Norte Fluminense. Tese (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF. 76p.
- Subileau, C., Renard, J.L. e Lacoste, L. *Botryosphaeria cocogena* nov. sp. Agente causal du dessèchement foliaire du cocotier au Brésil. *Mycotaxon*, p.5-14. 1994.
- Warwick, D.R.N. (1997) Coco (*Cocos nucifera* L.): Controle de doenças. In: Vale, F.X.R., Zambolim, L. *Controle de doenças de plantas. Grandes culturas*. v. 2, Viçosa, MG, 765-785.
- Warwick, D.R.N. e Leal, M.L.S. (2006) Avaliação de fungicidas no controle da queima-das-folhas (*Botryosphaeria cocogena*) na cultura do coqueiro. Embrapa – Tabuleiros Costeiros. Disponível em [www.cpatc.embrapa.br](http://www.cpatc.embrapa.br).
- Warwick, D.R.N. e Leal, E.C. (2003) Principais doenças foliares. In: Ferreira, J.M.S. *Coco: Fitossanidade*. Embrapa/CPATC, Embrapa Informações tecnológicas, Brasília, DF, 41-50.
- Warwick, D.R.N., Passos, E.E.M., Leal, E.C. e Bezerra, A.P.O. (1993) Influence of water stress on the severity of coconut leaf blight caused by *Lasiodiplodia theobromae*. *Oléagineux*, 48 (6): 279-282.

#### 4. RESUMO E CONCLUSÕES

No presente trabalho, incluíram-se estudos anatômicos e histoquímicos de folíolos de coqueiro assintomáticos, bem como, a caracterização do processo de colonização dos fungos *Camarotella torrendiella* e *Camarotella acrocomiae* nos folíolos de coqueiro e aspectos epidemiológicos da queima-das-folhas do coqueiro (QFC).

As investigações anatômicas e histoquímicas dos folíolos assintomáticos foram realizadas com auxílio da microscopia eletrônica de varredura e da microscopia óptica. Para a caracterização do processo de colonização de *C. torrendiella* e de *C. acrocomiae* em folíolos de coqueiro, fragmentos de folíolos com estromas da lixa-pequena (LP) e da lixa-grande (LG) em diferentes estágios de desenvolvimento foram fixados, desidratados e incluídos em resina. Secções desse material foram analisadas ao microscópio óptico. Para o estudo epidemiológico da QFC primeiramente foi elaborada uma metodologia para estimar a área foliar com sintomas da doença medindo-se apenas a parte necrosada da ráquis. Para tanto foram testados modelos por regressão linear e não-linear. O progresso da QFC foi estudado em três diferentes áreas na região de Campos dos Goytacazes, RJ. Com os valores médios da severidade da QFC, obtidos de avaliações mensais, foram traçadas curvas de progresso da doença ao longo do ano, para as três áreas amostradas. Para avaliar o efeito de variáveis meteorológicas sobre a ocorrência e o progresso da QFC, coletaram-se dados horários de temperatura, umidade relativa, precipitação e molhamento foliar em

uma estação altomotizada do INMET (Instituto Nacional de Meteorologia), instalada em Campos dos Goytacazes.

Com base nos resultados apresentados neste trabalho pode-se concluir que:

- O fungo *Camarotella torrendiella* provavelmente está envolvido diretamente na necrose dos tecidos observados ao redor dos estromas da lixa-pequena, comportando-se de maneira similar a um fungo hemibiotófico.
- O fungo *Camarotella acrocomiae* coloniza os folíolos de coqueiro de uma forma menos agressiva, não causando um dano significativo ao coqueiro. Aparentemente, o fungo altera o transporte de água e de fotoassimilados nas regiões próximas aos estromas da lixa-grande.
- A área foliar com sintomas QFC pode ser estimada de forma indireta a partir de uma equação linear de ordem cúbica que utiliza como variável independente o comprimento da ráquis necrosada.
- A QFC ocorreu nas três áreas com 100% das plantas apresentando sintomas da doença, em todas as épocas do ano. Não foi possível detectar uma época do ano mais favorável à ocorrência da QFC. No entanto, constatou-se que a maioria das correlações significativas entre variáveis climáticas e severidade da queima-das-folhas ocorreu no intervalo compreendido entre 14 a 21 dias precedentes a cada data específica.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrios, G. N. (2004) *Plant Pathology*. 5ª ed. Florida: Academic Press. 922p.

AgriTempo. Sistema de Monitoramento Agrometeorológico. [www.agritempo.gov.br/agroclima/sumario](http://www.agritempo.gov.br/agroclima/sumario). Acesso em 02-11-06.

Aragão, W.M., Ribeiro, F.E., Tupinambá, E.A. e Siqueira, E.R. (2003) Variedades e híbridos. *In: Ferreira, J.M.S, Fontes, H.R., Ribeiro, F.E. e Fernandes, M.F. Coco: Produção. Aspectos Técnicos*. Embrapa Informações tecnológicas, Brasília, DF, p. 11-13.

Araújo, E.C.E., Santos, E.P., e Prado, C.H.B.A. (2005) Estimativa de Área Foliar *Mangifera indica* L. Cultivar cvs. Tommy Atkins e Haden, Utilizando Dimensões Lineares. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 27 (2): 308-309.

Bezerra, J.L. (1989) Doenças em palmáceas. *In: Ferreira, F.A. Patologia florestal: Principais doenças florestais do Brasil*. Viçosa, Sociedade de Investigações Florestais, p. 485-487.

Björkman, C., Dalin, P. e Ahrné, K. (2008) Leaf trichome responses to herbivory in willows: induction, relaxation and costs. *New Phytologist*, 179: 176–184.

Blanco, F.F. e Folegatti, M.V. (2005) Estimation of leaf area for greenhouse cucumber by linear measurements under salinity and grafting. *Scientia Agrícola*, 62 (4): 305-309.

Campbell, C.L. e Madden, L.V. (1990) *Introduction to plant disease epidemiology*. New York. John Wiley e Sons. 532p.

Cannon, P.F. (1991) A revision of *Phyllachora* and some similar genera on the host family Leguminosae. *Mycological Papers*, 163, 302p.

- Cannon, P.F. (1996). Systematics and diversity of the Phyllachoraceae associated with Rosaceae, with a monograph of *Polystigma*. *Mycological Research*, 12: 1409-1427.
- Carrijo, O.A., Liz, R.S. e Makishima, N. (2002) Fibra da casca do coco verde como substrato agrícola. *Horticultura Brasileira*, Brasília, 20 (4): 533-535.
- Carvalho, R.A.G., Araújo, E., Barreto, A.F., Cardoso, G.D. e Almeida, F.A. (2003) Severidade da lixa-grande do coqueiro-anão e incidência de hiperparasitismo em Parnamirim, Rio Grande do Norte. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 3: 546-548.
- Ceita, G.D.O., Macêdo, J.N.A., Santos, T.B., Alemanno, L., Gesteira, A.S., Micheli, F., Mariano, A.C., Gramacho, K.P., Silva, D.C., Meinhardt, L., Mazzafera, P., Pereira, G.A.G. e Cascardo, J.C.M. (2007) Involvement of calcium oxalate degradation during programmed cell death in *Theobroma cacao* tissues triggered by the hemibiotrophic fungus *Moniliophthora pemiciosa*. *Plant Science*, 173: 106-117.
- Chaimsohn, F.P., Montiel, M., Villalobos, E. e Urpí, J.M. (2008) Anatomía micrográfica del folíolo de la palma neotropical *Bactris gasipaes* (Arecaceae). *Revista de biología tropical*, v. 56:951-959.
- Child, R. (1974) Coconuts. London: Longman, 335p.
- Comboim Neto, L.F. (2002) *Coqueiro anão verde: influência de diferentes lâminas de irrigação e de porcentagens de área molhada no desenvolvimento, na produção e nos parâmetros físicos-químicos do fruto*. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola), Viçosa – MG, Universidade Federal de Viçosa - UFV, 121p.
- Cooper-Driver, G.A. e Bhattacharya, M. (1998) Role of phenolics in plant evolution. *Phytochemistry*, 38: 1165-1174.
- Correia, M. S. e Costa, J.L.S. (2005). Dispersão anemórfica do fungo *Lasiodiplodia theobromae* em plantações de coqueiro. *Fitopatologia brasileira*, 30: 150-154.
- Croxdale, J. (1998) Stomatal patterning in monocotyledons: Tradescantia as a model system. *Journal of Experimental Botany*, 49: 279–292.
- Develey-Rivière, M.-P. E Galiana, E. (2007) Resistance to pathogens and host developmental stage: a multifaceted relationship within the plant kingdom. *New Phytologist*, 175: 405-416.
- Dias, B.C. (1980) Subsídios ao grupo de trabalho para a elaboração de diretrizes da política nacional do coco (*Cocos nucifera*, L.) Maceió: CEPLAC, 15p.
- Ekundayo, J.A. e Haskins, R.H. (1969) Pycnidium production by *Botryodiplodia theobromae*. II. Development of the pycnidium and fine structure of the maturing. *Canadian Journal of Botany*, v.47, p.1423-1426.

- Etuk, S.E., Akpabio, L.E. e Akpabio, K.E. (2005) Determination of thermal properties of *Cocos nucifera* trunk for predicting temperature variation with its thickness. *The Arabian Journal for Science and Engineering*, 30: 121-126.
- FAO. Food and Agriculture organization of the United Nations. <http://www.fao.org>. Acesso em 07/08/2009.
- Ferreira Neto, M., Gheyi, H.R., Fernandes, P.D., Holanda, J.S. e Blanco, F.F. (2007) Emissão foliar, relações iônicas e produção do coqueiro irrigado com água salina. *Ciência Rural*, 6: 1675-1681.
- Fontes, H.R. e Wanderley, M. (2006) Situação atual e perspectivas para a cultura do coqueiro no Brasil. Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 16p. (Documentos/Embrapa Tabuleiros Costeiros, 94).
- Fontes, H.R. e Wanderley, M. *Situação atual e perspectivas para a cultura do coqueiro no Brasil*. Aracajú: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 16p. 2006. (Documentos/Embrapa Tabuleiros Costeiros, 94).
- Franceschi, V. (2001) Calcium oxalate in plants. *TRENDS in Plant Science*, 6: 331. 2001.
- Franceschi, V.R. e Nakata, P.A. (2005) Calcium Oxalate in Plants: Formation and Function. *Annual Review of Plant Biology*, 56: 41-71.
- Freire, F.C.O., Viana, F.M.P., Cardoso, J.E. e Santos, A.A. (2004). *Novos Hospedeiros do fungo Lasiodiplodia theobromae no estado do Ceará*. Comunicado técnico 91, 6p.
- Gomes, R.P. (1992) O coqueiro-da-baía. 6ª ed., São Paulo: Nobel, 111p.
- Guerfel, M., Baccouri, O., Boujnah, D. Chaïbi e Zarrouk, M. (2009) Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*. 119: 257-263.
- Guevara, L. e Jáuregui, D. (2008) Anatomía floral de *Cocos nucifera* L. (Arecaceae, arecoideae). *Acta Botánica Venezuelica*, 31 (1): 35-48.
- Gunn, B. (2004). The phylogeny of the Cocoeae (Arecaceae) with emphasis on *Cocos nucifera*. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 91: 505-522.
- Gutiérrez Cuenca, M.A. e Siqueira, L.A (2003). Aspectos econômicos da cocoicultura. *In: Ferreira, J.M.S, Fontes, H.R., Ribeiro, F.E. e Fernandes, M.F. Coco: Produção. Aspectos Técnicos*. Embrapa Informações tecnológicas, Brasília, DF, p. 11-13.
- Gutiérrez Cuenca, M.A. e Siqueira, L.A (2003). Aspectos econômicos da cocoicultura. *In: Ferreira, J.M.S, Fontes, H.R., Ribeiro, F.E. e Fernandes, M.F.*

- Coco: Produção. Aspectos Técnicos. Embrapa Informações tecnológicas, Brasília, DF, p. 11-13.
- Gutschick, V. (1999) Research reviews biotic and abiotic consequences of differences in leaf structure. *New Phytologist*, 143: 3-18.
- Halfeld-Vieira, B. e Nechet, K.L. (2005). Queda de frutos em coqueiro causada por *Lasiodiplodia theobromae* em Roraima. *Fitopatologia Brasileira*, 30: 203.
- Hanley, M.E., Lamont, B.B., Fairbanks, M.M. e Rafferty, C.M. (2007) Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 8: 157–178.
- Henderson, F.M. (2006) Morphology and anatomy of palm seedlings. *The Botanical Review*. 72(4): 273-329.
- Herderson, A. e Rodrigues, D. (1999) Raphides in palm anthers. *Acta Bot. Venez.* 22(1): 45-55. 1999.
- Hong, J.K., Lee, Y.K., Jeun, Y.C. e Hwang, B.K. (2001). Histological and ultrastructural study of susceptible and age-related resistance responses of pepper leaves to *Colletotrichum coccodes* infection. *The Plant Pathology Journal*, 17(3): 128-140.
- Hyde, K.D. e Cannon, P.F. (1999). Fungi causing tar spots on palms. *Mycological Papers*. 114p.
- IBGE (2009). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br). Acesso em 28-02-2009.
- Index Fungorum. [www.indexfungorum.org](http://www.indexfungorum.org). (acesso em 19/06/2009).
- Janes, H.G. (1998) Stomatal control of photosynthesis and transpiration. *Journal of Experimental Botany*, 49: 387–398.
- Kakani, V.G., Reddy, K.R., Zhao, D. e Mohammed, A.R. (2003) Effects of ultraviolet-B radiation on Cotton (*Gossypium hirsutum* L.) morphology and anatomy. *Annals of Botany*, 91:817-826.
- Kikuchi, T.Y.P., Potiguara, R.C.V. e Santos, P.P. (2007) Caracterização istoquímica e ultra-estrutural do estipe de *Socratea exorrhiza* (Mart.) H. Wendl. (Arecaceae). *Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi. Ciências Naturais*, 2(2): 61-68.
- Korth, K.L., Doege, S.J., Park, S.H. Goggin, F.L. Wang, Q., Gomez, S.K., Liu, G., Jia, L. e Nakata, P.A. (2006) *Medicago truncatula* mutants demonstrate the role of plant calcium oxalate crystals as an effective defense against chewing insects. *Plant Physiology*, 141: 188-195.
- Kunst, L. e Samuels, A.L. (2003) Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax. *Progress in Lipid Research*, 42: 51–80.

- Liakoura, V., Stefanou, M., Manetas, Y., Cholevas, C. e Karabourniotis, G. (1997) Trichome density and its UV-B protective potential are affected by shading and leaf position on the canopy. *Environmental and Experimental Botany*, 38: 223-229.
- Lorenzi, H., Souza, H.M. de, Costa, J.T. de M., Cerqueira, L.S.C. de, Ferreira, E. (2004) *Palmeiras brasileiras e exóticas cultivadas*. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 432p.
- Lux, A., Luxová, M., Hattori, T., Inanaga, S., e Sugimoto, Y. (2002) Silicification in sorghum (*Sorghum bicolor*) cultivars with different drought tolerance. *Physiologia Plantarum*, 115: 87-92.
- Macedo, E.G., Santos Filho, B.G., Potiguara, R.C.V. e Santos, D.S.B. (2005) Anatomia e arquitetura foliar de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Araceae) espécie da várzea Amazônica. *Bol. Mus. Para. Emílio Goeldi, ser. Ciências Naturais*, Belém 1(1): 19-43.
- Mariano, R.L.R. (1997) Doenças do coqueiro (*Cocos nucifera* L.). In: Bergamin Filho, A., Camargo, L.E.A. e Rezende, J.A.M. (Eds.). *Manual de Fitopatologia, Doenças de plantas cultivadas*, São Paulo: Agronômica Ceres, 2: 297-311.
- Mariano, R.L.R. (1997). Doenças do coqueiro (*Cocos nucifera* L.). In: Bergamin Filho, A., Camargo, L.E.A. e Rezende, J.A.M. (Eds.). *Manual de Fitopatologia, Doenças de plantas cultivadas*, São Paulo: Agronômica Ceres, 2: 297-311.
- Minorsky, P. (1998) Latitudinal Differences in Coconut Foliar Spiral Direction: A Re-evaluation and Hypothesis. *Annals of Botany*, 82: 133-140.
- Molano-Flores, B. (2001) Herbivory and calcium concentrations affect calcium oxalate crystal formation in leaves of *Sida* (Malvaceae). *Annals of Botany*, 88: 387-391.
- Monteiro, C.M.P. (2009) *Aplicação axilar de fungicidas sistêmicos no controle da queima-das-folhas do coqueiro (Cocos nucifera)*. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, 72p.
- Monteiro, J.E.B.A., Sentelhas, P.C., Chiavegato, E.J., Guiselini, C., Santiago, A.V., Prela, A. (2005) Estimação da área foliar do algodoeiro por meio de dimensões e massas das folhas. *Bragantia*, 64: 15-24.
- Nakamura, S., Nitta, Y., Watanabe, M. e Goto, Y. (2009) A method for estimating sago palm (*Metroxylon sagu* Rottb.) leaf area after trunk formation. *Plant Prod. Sci.* 12: 58-62.
- Nakata, P.A. (2003) Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants. *Plant Science*, 164: 901-909.

- Neto, M.A.M., Conceição, A.C., Mendes, A.S., Costa, R.C.L. e Lobato, A.K.S. (2009) Accumulation of raphides crystals in *Euterpe oleracea* Mart. embryo. *Research Journal of Botany*, 4 (1): 40-47.
- Nicholson, R.L. (1992) Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 30: 369-389.
- Nutter Jr., F.W. e Worawitlikit, O. (1989) Disease.Pro: A computer program for evaluating and improving a person ability to assess disease proportion. *Phytopathology*, 79:1135. (Abstract).
- Ohler, J.G. (1984) *Coconut, tree of life*. Rome: FAO Plant Production and Protection, paper 57, 446p.
- Oliveira, V.C., Leal, E.C., Costa, J.L.S. (2004) Registro do cultivo in vitro de *Phyllachora torrendiella* e *Sphaerodothis acrocomiae*, agentes causais das lixas do coqueiro. *Fitopatologia Brasileira*, 29:571.
- Panstruga, R. (2003). Establishing compatibility between plants and obligate biotrophic pathogens. *Current Opinion in Plant Biology*, 6:320–326.
- Passos, E.E.M. (1999) Ecofisiologia do coqueiro. In: São José, A.R., Souza, I.V.B., Moura, J.I.L. e Rebouças, T.N.H. *Coco: Produção e Mercado*. UESB, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, Bahia, p. 36-43.
- Passos, E.E.M. (2003a) Aspectos botânicos. In: Ferreira, J.M.S, Fontes, H.R., Ribeiro, F.E. e Fernandes, M.F. *Coco: Produção. Aspectos Técnicos*. Embrapa Informações tecnológicas, Brasília, DF, p. 14-17.
- Passos, E.E.M. (2003b) Exigências climáticas. In: Ferreira, J.M.S, Fontes, H.R., Ribeiro, F.E. e Fernandes, M.F. *Coco: Produção. Aspectos Técnicos*. Embrapa Informações tecnológicas, Brasília, DF, p. 19-20.
- Passos, M.A. e Mendonça, M.S. (2006) Epiderme dos segmentos foliares de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) em três fases de desenvolvimento. *Acta Amazônica*, v. 36: 431-436.
- Peksen, E. (2007) Non-destructive leaf area estimation model for faba bean (*Vicia faba* L.). *Scientia Horticulturae*, 113: 322–328.
- Pérez, M. e S. Rebollar. (2003) Anatomía y usos de las hojas maduras de tres especies de *Sabal* (Arecaceae) de la Península de Yucatán, México. *Rev. Biol. Trop.* 51: 333–344.
- Perfect, S.E. e Green, J.R. (2001) Infection structures of biotrophic and hemibiotrophic fungal plant pathogens. *Molecular Plant Pathology*, 2: 101–108.
- Pintaud, J.C., Millán, B. e Kahn, F. (2008) The genus *Hexopetion* Burret (Arecaceae). *Rev. Peru. Bot.* 15(supl. 1): 49-54.

- Prychid, C.J. e P.J. Rudall. (1999) Calcium oxalate crystals in monocotyledons: a review of their structure and systematics. *Annals of Botany*, 84: 725 - 739.
- Prychid, C.J., Rudall, P.J. e Gregory, M. 2004. Systematics and biology of silica bodies in Monocotyledons. *The Botanical Review*, 69: 377-440.
- Queiroa, J.F., Romano, E.D.U., Souza, J.R.P. e Miglioranza, E. (2003). Estimativa da área foliar do Feijão-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) por meio da largura máxima do folíolo central. *Horticultura Brasileira*, 21 (1): 64-68.
- Ram, C. ( 1994) Dosagens e intervalos de aplicação da mistura de fungicidas no controle da queima-das-folhas (*Lasiodiplodia theobromae*) do coqueiro. *Fitopatologia Brasileira*, 19: 238-240.
- Ram, C. (1989) Epidemiologia e controle químico da "queima-das-folhas" (*Botryodiplodia theobromae*) do coqueiro (*Cocos nucifera*). *Fitopatologia Brasileira*, 14: 215-220.
- Ram, C. (1990) Efeito de fungicidas no controle da lixa-pequena (*Catacauma torrendiella*) e queima-das-folhas (*Lasiodiplodia theobromae*) do coqueiro (*Cocos nucifera*) em Sergipe. *Fitopatologia Brasileira*, 15: 289-291.
- Ram, C. (1993) Características culturais, esporulação e virulência do "strain" do *Botryodiplodia theobromae*, agente causal da queima-das-folhas do coqueiro (*Cocos nucifera*). *Fitopatologia Brasileira*, 18 (2):143-146.
- Ram, C. (1993) Micoflora associada à queima-das-folhas do coqueiro. *Fitopatologia Brasileira*, 14 (1): p.36-38.
- Ram, C. (1994) Dosagens e intervalos de aplicação da mistura de fungicidas no controle da queima-das-folhas (*Lasiodiplodia theobromae*) do coqueiro. *Fitopatologia Brasileira*, 19: 238-240.
- Ramos, A., Bovi, M.L.A. Folegatti, M.V. e Diotto, A.V. (2008) Estimativas da área foliar e da biomassa aérea da pupunheira por meio de relações alométricas. *Horticultura Brasileira*, 26: 138-143.
- Rodrigues, F.Á., Benhamou, N., Datnoff, L.E., Jones, J.B. e Bélanger, R.R. (2003). Ultrastructural and Cytochemical Aspects of Silicon-Mediated Rice Blast Resistance. *Phytopathology*, 93:535-546.
- Ruiz, N., Ward, D. e Saltz, D. (2002) Calcium oxalate crystals in leaves of *Pancratium sickenbergeri*: constitutive or induced defence? *Funcional Ecology*, 16: 99-105.
- SAEG (1998). Sistema para análises estatísticas e genéticas: Versão 4.0. Viçosa: Fundação Arthur Bernardes.
- Silva, M.C.C, Fontes, P.C.R. e Viana, R.G. (2008) Estimativa da área da folha da batateira utilizando medidas lineares. *Horticultura Brasileira*, 26: 083-087.

- Silva, R.J.F. e Potiguara, R.C.V. (2008) Aplicações taxonômicas da anatomia foliar de espécies amazônicas de *Oenocarpus* Mart. (Arecaceae). *Acta Botânica Brasileira*, 22(4):999-1014.
- Sobral, L.F. (1999) Nutrição e adubação do coqueiro. In: São José, A.R., Souza, I.V.B., Moura, J.I.L. e Rebouças, T.N.H. Coco, produção e mercado. Vitória da Conquista-BA, DFZ/UESB, p. 91-109.
- Souza Filho, B.F., Santos Filho, H.P. e Robbs, C.F. (1979) Etiologia da "queima" das folhas do coqueiro. *Fitopatologia Brasileira*, 4: 5-10.
- Souza, C.A.P., Vitória, N.S., Bezerra, J.L., Luz, E.D.M.N., Inácio, C.A. e Dianese, J.C. (2008) *Camarotella brasiliensis* sp. nov. (Phyllachoraceae) on *Syagrus schizophylla* (Arecaceae) from Brazil. *Mycotaxon*, 103: 313-317.
- Souza, E.F., Araújo, M.C., Posse, R.P., Detmann, e., Bernardo, S., Berbert, P.A. e Santos, P.A. (2005) Estimating the total leaf area of the green dwarf coconut tree (*Cocos nucifera* L.). *Scientia Agricola*, 62 (6): 597-600.
- Souza, M.S. (2004) *Caracterização do intervalo hídrico ótimo de três solos da região Norte Fluminense*. Tese (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF, 72p.
- Staples, R.C. (2001). Nutrients for a rust fungus: the role of haustoria. *TRENDS in Plant Science*, 6 (11): 496-498.
- Stauffer, F.W., C.B. Asmussen, A. Henderson e P.K., Endress. (2003) A revision of *Asterogyne* (Arecaceae: Arecoideae: Geonomeae). *Brittonia*, 55: 326–356.
- Subileau, C., Renard, J.L. e Denetiere, B. (1993) *Phyllachora torrendiella* (Batista) com. nov. responsable de la maladie verruqueuse du cocotier. *Mycotaxon*, p.175-185.
- Subileau, C., Renard, J.L. e Lacoste, L. (1994) *Botryosphaeria cocogena* nov. sp. Agente causal du dessèchement foliaire du cocotier au Brésil. *Mycotaxon*, p.5-14.
- Sunitha, V., Ranga Rao, G.V., Lakshmi, K.V., Saxena, K.B., Rao, V.R. e Reddy, Y.V.R. (2008) Morphological and biochemical factors associated with resistance to *Maruca vitrata* (Lepidoptera: Pyralidae) in short-duration pigeonpea. *International Journal of Tropical Insect Science*, 28: 45-52.
- Tay, A.C. e Furukawa, A. (2008) Variations in leaf stomatal density and distribution of 53 vine species in Japan. *Plant Species Biology*, 23: 2-8.
- Tormelin, J.R. e Howell, T.A. (1988) Distrain: a computer program for training people to estimate disease severity on cereal leaves. *Plant Disease*, 72:455-459.

- Treutter, D. (2006) Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environ. Chem. Lett.*, 4:147–157.
- Tsialtas, J.T. e Maslaris, N. (2008) Leaf area prediction model for sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars. *Photosynthetica*, 46 (2): 291-293.
- Tucci, M.L.A., Bovi, M.L.A., Machado, S. e Spiering, S.H. (2000) Stomatal frequency and size in leaves of peijibaye (*Bactris gasipaes* Kunth). *Acta Hort.*, 516: 145–154.
- Virtual Palm Encyclopedia, In: [www.plantapalm.com/vpe/vpe\\_index.htm](http://www.plantapalm.com/vpe/vpe_index.htm). Acesso em 23-01-2009.
- Vitória, N. S., J. L. Bezerra, et al. (2008). "*Camarotella torrendiella* com. nov. e *C. acrocomiae*: agentes etiológicos das lixas do coqueiro." *Tropical Plant Pathology* 33(4): 295-301.
- Vitória, N.S. (2007). Espécies de *Camarotella* que causam doença foliar no coqueiro e em outras palmeiras. Tese de Mestrado – Ilhéus – BA, Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC, 75p.
- Voegelé, R.T. e Mendgen, K. (2003). Rust haustoria: nutrient uptake and beyond. *New Phytologist*, 159: 93-100.
- Warwick, D.R.N. (1997) Coco (*Cocos nucifera* L.): Controle de doenças. In: Vale, F.X.R., Zambolim, L. *Controle de doenças de plantas. Grandes culturas*. v. 2, Viçosa, MG, 765-785.
- Warwick, D.R.N. (2001) Colonização de estromas de *Sphaerodothis acocomiae* agente causal da lixa grande do coqueiro por *Acremonium persicinum*. *Fitopatologia Brasileira*, 26: 220.
- Warwick, D.R.N. e Leal, E.C. (2000) Occurrence of coconut 'Lixas' in brasilian native palms in the coastal plain. *Palms*, 44 (1): 9-13.
- Warwick, D.R.N. e Leal, E.C. (2003) Principais doenças foliares. In: Ferreira, J.M.S. *Coco: Fitossanidade*. Embrapa/CPATC, Embrapa Informações tecnológicas, Brasília, DF, 41-50.
- Warwick, D.R.N. e Leal, M.L.S. (2006) Avaliação de fungicidas no controle da queima-das-folhas (*Botryosphaeria cocogena*) na cultura do coqueiro. Embrapa – Tabuleiros Costeiros. Disponível em [www.cpatc.embrapa.br](http://www.cpatc.embrapa.br). (Acesso em 19/06/2009).
- Warwick, D.R.N. e Leal, M.L.S. (2006) Avaliação de fungicidas no controle da queima-das-folhas (*Botryosphaeria cocogena*) na cultura do coqueiro. Embrapa – Tabuleiros Costeiros. Disponível em [www.cpatc.embrapa.br](http://www.cpatc.embrapa.br). (Acesso em 19/06/2009).

- Warwick, D.R.N., Passos, E.E.M., Leal, E.C. e Bezerra, A.P.O. (1993) Influence of water stress on the severity of coconut leaf blight caused by *Lasiodiplodia theobromae*. *Oléagineux*, 48 (6): 279-282.
- Zona, S. (2004) Raphides in palm embryos and their systematic distribution. *Annals of Botany*, 93: 415 - 421.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)