



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS



ANDERSON RODRIGUES SABINO

PERSISTÊNCIA DO NEMATÓIDE *Bursaphelenchus cocophilus* (COBB, 1919) BAUJARD, 1989
EM RAÍZES E SOLO DE COQUEIROS PORTADORES DA DOENÇA ANEL-VERMELHO

Rio Largo
Alagoas – Brasil
2010

ANDERSON RODRIGUES SABINO

PERSISTÊNCIA DO NEMATÓIDE *Bursaphelenchus cocophilus* (COBB, 1919) BAUJARD, 1989
EM RAÍZES E SOLO DE COQUEIROS PORTADORES DA DOENÇA ANEL-VERMELHO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Unidade Acadêmica de Ciências Agrárias como
parte dos requisitos para obtenção do título de
Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Adriana Guimarães Duarte

Rio Largo
Alagoas-Brasil
2010

AGRADECIMENTOS

A Deus por me proporcionar outra vitória.

A professora Adriana Guimarães Duarte pela orientação, atenção e dedicação em meu Trabalho de Conclusão de Curso.

Ao professor Ivanildo Soares de Lima pela oportunidade de iniciação científica e dedicação.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório, Emerson Ferreira, Jorge Nichollas, Vanessa França, Vanessa Melo e Hully Monaisy que no decorrer das pesquisas sempre estiveram ao lado.

Ao meu grande amigo Daniel da Silva Torres pelo apoio dado em meu trabalho.

Aos eternos amigos Lucas da Silva Santos, Hugo de Santana Maia, Renato Américo, Renan Brito, Renan Coelho, Ricardo Rafael, Paulo Neto, Madson Hector, Rubens Eduardo, Anderson Lins e demais colegas de curso.

Aos que fazem parte dos sítios Confins e Araújo, no litoral norte de Alagoas, pela colaboração para o desenvolvimento da pesquisa.

Aos meus professores do curso de Agronomia pelos ensinamentos necessários para a minha formação.

E a todos que contribuíram para minha formação.

Dedico

A meus pais Amaro José Sabino e Maria do Carmo Rodrigues Sabino que sempre batalharam para meu desenvolvimento.

A minha esposa Maria Juliana Calheiros Barbosa Reis pelo amor, companheirismo e apoio em todos os momentos.

Aos meus irmãos Adilson Rodrigues Sabino, Andressa Rodrigues Sabino e Jaciele Santana de Melo pela amizade e incentivo.

E aos demais familiares que sempre me apoiaram.

SUMÁRIO

	Páginas
LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE TABELAS.....	vii
RESUMO.....	viii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	8
3.1. Coleta do Material.....	8
3.2. Processamento das Amostras.....	9
3.4. Estimativa do Número de <i>B. cocophilus</i> nas Amostras.....	11
3.5. Análises dos Resultados.....	11
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
4.1. Número de <i>B. cocophilus</i> encontrados nas raízes de coqueiros portadores do anel vermelho.....	12
4.2. Número de <i>B. cocophilus</i> encontrados no solo de coqueiros portadores do anel vermelho.....	14
4.3. Nematóides de vida livre encontrados nas raízes e no solo de coqueiros portadores do anel vermelho.....	15
5. CONCLUSÕES.....	18
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
FIGURA 1: Cultura de <i>Cocos nucifera</i> (Foto: Torres, D.S).....	1
FIGURA 2: Adulto de <i>Rhynchophorus palmarum</i> (Foto: Lima, I.S.).....	3
FIGURA 3: Desenho esquemático de <i>Bursaphelenchus cocophilus</i> (Fonte: May E Lyon, 1975).....	5
FIGURA 4: Sintoma externo da doença anel-vermelho (Foto: Lima, I.S.).....	6
FIGURA 5: Sintoma interno da doença anel-vermelho (Foto: Lima, I.S.).....	7
FIGURA 6: Coleta das amostras (Foto: Lima, I.S.).....	8
FIGURA 7: Separação de raízes e solo de coqueiros doentes (Foto: Torres, D.S).....	9
FIGURA 8: Trituração de amostra de raízes (Foto: Torres, D.S).....	9
FIGURA 9: Etapas da preparação das amostras de solo (Foto: Torres, D.S).....	10
FIGURA 10: (A) Contador de células, (B) microscópio binocular e (C) lâminas de contagem de Peter (Foto: Lima, I.S.).....	11
FIGURA 11: Variação populacional de <i>B. cocophilus</i> em raízes no decorrer dos dias.....	13
FIGURA 12: Variação populacional de <i>B. cocophilus</i> em solo no decorrer dos dias.....	15
FIGURA 13: Variação populacional de nematóides de vida livre em raízes no decorrer dos dias.....	16
FIGURA 14: Variação populacional de nematóides de vida livre em solo no decorrer dos dias.....	17

LISTA DE TABELAS

Páginas

Tabela 1. Percentuais de amostras contaminadas com <i>B. cocophilus</i> em raízes de coqueiros portadores da doença anel-vermelho e média de nematóides recuperados referentes ao período após o corte da planta.....	12
Tabela 2. Percentuais de amostras contaminadas com <i>B. cocophilus</i> em solos de coqueiros portadores da doença anel-vermelho e média de nematóides recuperados referentes ao período após o corte da planta.....	14
Tabela 3. Percentuais de amostras contaminadas com nematóides de vida livre em raízes de coqueiros portadores da doença anel-vermelho e média de nematóides recuperados referente ao período após o corte da planta.....	16
Tabela 4. Percentuais de amostras contaminadas com nematóides de vida livre em solo de coqueiros portadores da doença anel-vermelho e média de nematóides recuperados referente ao período após o corte da planta.....	17

RESUMO

Sabino, A. R. PERSISTÊNCIA DO NEMATÓIDE *Bursaphelenchus cocophilus* (COBB, 1919) BAUJARD, 1989 EM RAÍZES E SOLO DE COQUEIROS PORTADORES DA DOENÇA ANEL-VERMELHO. Rio Largo: UFAL – U. A. CECA, 2010. 29 p. (Trabalho de Conclusão de Curso).

Este trabalho teve como objetivo determinar por quanto tempo o nematóide *Bursaphelenchus cocophilus* pode persistir nas raízes e solo de coqueiros sacrificados, ou seja, obter o período de carência que o produtor deve esperar para plantar um novo coqueiro sem correr o risco de estar realizando num local ainda infestado por nematóides *B. cocophilus*. A estimativa do número de nematóides em cada amostra foi realizada com o auxílio de um microscópio binocular e um contador de células. Nas amostras de raízes, 50 g cada, o pico populacional de *B. cocophilus* foi encontrado aos 51 dias após o corte da planta com uma média de 83,70 nematóides. Das análises das amostras provenientes das raízes, verificou-se que foram encontrados *B. cocophilus* até 125 dias após a planta ser sacrificada. Enquanto que, as amostras provenientes do solo, 100 g cada, apresentaram sempre declínio populacional até nenhum nematóide ser encontrado aos 125 dias após o corte da planta. Quando comparados aos obtidos para *B. cocophilus*, um número muito superior de nematóides de vida livre foi encontrado nas raízes e no solo.

Palavras-chave: *Cocos nucifera*, Nematoda, nematóide de caule.

1. INTRODUÇÃO

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.) é uma palmeira perene originária do Sudeste Asiático e foi introduzida no Brasil em 1553 pelos portugueses (Fig. 1). A planta é considerada uma das árvores mais importantes, por ser uma cultura que gera emprego e renda em vários países do mundo. Seus frutos podem ser consumidos *in natura* ou industrializados na forma de mais de 100 produtos e subprodutos. Além disso, raiz, estipe, inflorescência, folhas e palmito geram diversos subprodutos ou derivados de interesse econômico. O coqueiro também é utilizado como planta paisagística para embelezar praças, canteiros públicos, chácaras e fazendas.



Figura 1: Cultura de *Cocos nucifera* (Foto: Torres, D.S).

De acordo com o último levantamento da Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação (FAO), em 2005, observa-se que a Indonésia é o maior produtor mundial, seguido por Filipinas e Índia. O Brasil é o quarto maior produtor mundial com uma produção pouco superior a três milhões de toneladas, em uma área colhida de 280,8 mil ha (FAO, 2006).

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), em 2006, o país produziu 1.985.478 milheiros de coco, 4,5% menos que na safra anterior. A Bahia é o principal produtor nacional, com 628.376 milheiros de frutos, o que significou uma redução na produção de 11,9% relativamente à safra de 2005. Além da Bahia, os demais principais estados produtores

foram, em ordem da quantidade colhida, Pará, Ceará, Espírito Santo, Pernambuco e Sergipe. Em conjunto, eles concentraram 87,8% da produção nacional. Pelos dados da Cooperativa dos Produtores de Coco do Estado de Alagoas (PROCOCO) em 2009, Alagoas possuía 5.300 produtores e 12,5 mil hectares plantados com coqueiros.

O coqueiro possui um tronco cilíndrico de cerca de 45 cm de diâmetro e pode atingir 30 m de altura, não possui raiz principal, mas sim um sistema fasciculado. O caule é ereto do tipo estipe, muito desenvolvido e bastante resistente. A folha do coqueiro é do tipo penada, sendo constituída pelo pecíolo, que se continua pela ráquis, onde se prendem numerosos folíolos. Possui inflorescências paniculada, axilares, protegidas por brácteas grandes, chamadas espatas. A espata ao completar seu desenvolvimento (três a quatro meses) abre-se, liberando a inflorescência, que é formada pelo pedúnculo, espigas e flores. Cada espiga possui, em sua base, algumas flores femininas e numerosas flores masculinas nos dois terços terminais. Os frutos desenvolvem-se em cachos podendo-se encontrar, numa mesma planta, frutos de diferentes estágios de desenvolvimento. O fruto é uma drupa, formado por uma epiderme lisa (epicarpo), que envolve o mesocarpo espesso e fibroso, ficando mais para o interior uma camada dura (endocarpo). A semente, envolvida pelo endocarpo, é constituída por uma camada fina de cor marrom (tegumento) que fica entre o endocarpo e o albúmen líquido. Próximo a um dos orifícios do endocarpo, e envolvido pelo albúmen sólido, encontra-se o embrião (Passos, 1998).

O coqueiro possui raízes mais grossas (raiz primárias) responsáveis pela fixação da planta, que são produzidas continuamente a partir do tronco. Dessas raízes primárias partem as secundárias, de onde se originam as terciárias que produzem radicelas, sendo os verdadeiros órgãos de absorção, uma vez que as raízes do coqueiro não possuem pêlos absorventes (Passos, 1998)

A cultura do coqueiro é atacada por diversas doenças que variam de importância de uma região para outra. Dentre as principais moléstias encontra-se o anel-vermelho, uma doença letal causada pelo nematóide *Bursaphelenchus cocophilus* (Cobb. 1919) Baujard, 1989 para o coqueiro e outras palmeiras de importância econômica como o dendê (*Elaeis guineensis*) (Giblin-Davis, 1990; Warwick & Leal, 2003). O principal agente de transmissão da doença é *Rhynchophorus palmarum* Linnaeus, 1764 (Coleoptera: Curculionidae), conhecido como broca-do-olho-do-coqueiro (Fig. 2). Além de ser o vetor da doença, esse inseto é a mais importante praga da cultura, uma vez que a larva e o adulto se alimentam dos tecidos da planta (Ferreira *et al.*, 1998).



Figura 2: Adulto de *Rhynchophorus palmarum* (Foto: Lima, I.S.)

As plantas infectadas pelo nematóide entram em fermentação e putrefação, exalando odores que atraem os insetos vetores. Estes penetram na planta, perfurando os tecidos tenros da gema apical e desta forma ficam contaminados interna e externamente com nematóide. Entretanto, a oviposição de fêmeas em coqueiros já infectados é provavelmente a maneira mais comum de ação do vetor. As plantas saudáveis são contaminadas, principalmente, no ato da oviposição das fêmeas, ou ainda pelas fezes que são depositadas nas axilas foliares (Griffith, 1974). O corte de folhas de palmeiras em geral exala compostos que atraem a broca. Esse inseto tem atividade diurna, principalmente nas horas mais frescas, sendo capaz de se deslocar 1,6 km por dia (Hagley, 1965). A transmissão pode ocorrer ainda via contato direto, entre a raiz de uma planta contaminada e a de uma saudável, ou também através das ferramentas de corte como facão, no ato da colheita da planta, ou pelo corte de raízes (Warwick, 2005).

Como medida de controle, é importante a redução da população do inseto vetor, bem como a eliminação de plantas infectadas. Como medida preventiva de controle do anel-vermelho deve-se evitar qualquer corte da planta que libere voláteis atrativos ao *R. palmarum*, desaconselha-se, portanto, gradagens profundas e corte de folhas ainda verdes. As plantas doentes devem ser eliminadas imediatamente e, como em geral, essas plantas abrigam larvas de *R. palmarum*, é necessário que sejam queimadas (Chichila, 1988; Warwick, 2005). Segundo Duarte *et al.* (2008), o número de nematóides encontrados em raízes coletadas na base do estipe de coqueiro doentes foi consideravelmente maior que o encontrado em raízes situadas entre um e três metros de distância do estipe. No entanto, não existem informações sobre a persistência de nematóides nas raízes. Daí, a necessidade de se iniciar um trabalho visando obter informações para determinar por quanto tempo o agricultor necessita esperar para poder plantar uma nova árvore de coqueiro sem correr o risco de realizá-lo num local ainda infestado por nematóides *Bursaphelenchus cocophilus*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A doença do anel-vermelho existe em diversas regiões onde se cultiva o coqueiro, atacando todas as variedades, do gigante ao anão. O nematóide *B. cocophilus* depende, basicamente, de seus vetores biológicos para colonizar novas plantas hospedeiras (Sanchez & Cerda, 1993). Os nematóides se difundem pela ação de insetos, principalmente pelo coleóptero *R. palmarum*, podendo ser transportados por eles das plantas atacadas para as sadias. Os frutos e as mudas deles provenientes podem também disseminar o parasito, caso tenham sido colhidos de pés afetados (Griffith & Koshy, 1990; Giblin-Davis, 2001). Segundo Warwick & Bezerra (1992) a transmissão do nematóide pode ocorrer ainda em contato direto, entre a raiz de uma planta contaminada e a de uma sadia. Fragmentos de tecidos de coqueiro infestados, caindo ao solo nas proximidades de uma palmácea susceptível, podendo dar início à doença (Lordello, 1992). Segundo Tihohod (1993) o nematóide consegue migrar no solo de uma planta para a outra quando as condições de umidade são boas. Franco (1964) relatou que a contaminação também pode ocorrer por meio das ferramentas de corte, como o facão no ato da colheita ou pelo corte de raízes durante as operações de gradagem. Duarte *et al.* (2008), observaram que os nematóides podem ser encontrados nos tecidos dos pecíolos, portanto, práticas profiláticas de assepsia devem ser realizadas com a finalidade de eliminar a possibilidade de transmissão por ocasião da colheita.

O nematóide é encontrado, principalmente, nos espaços intercelulares, os machos e fêmeas do *B. cocophilus* medem menos de 15,5 μm de diâmetro e de 775 a 1369 μm de comprimento (Fig. 3). O tamanho do estilete dos adultos é de 11 a 15 μm . O corpo da fêmea é estreito em ambas as extremidades e a cutícula é marcada por finas estrias transversais. A cabeça é ligeiramente marcada, arredondada, com lábios distintos; possui a região do lábio mais estreita que os nódulos, e lábios sem anelação ou estrias. Estilete bucal com 12 a 14 μm , fino, com nós basais pouco visíveis, sendo demarcado por alargamento da porção posterior, que é dilatada na base. Possui bulbo esofágico médio bem desenvolvido e anel nervoso com cerca de um corpo e meio de largura, atrás do bulbo mediano. Poro excretor, um pouco abaixo do anel nervoso; dista cerca de 94 a 95 μm da extremidade da cabeça. Glândulas esofageais correspondendo nove vezes a largura do corpo, atrás do bulbo. A porção anterior do intestino é um tubo fino que se une ao esôfago logo atrás do bulbo (Franco, 1964).

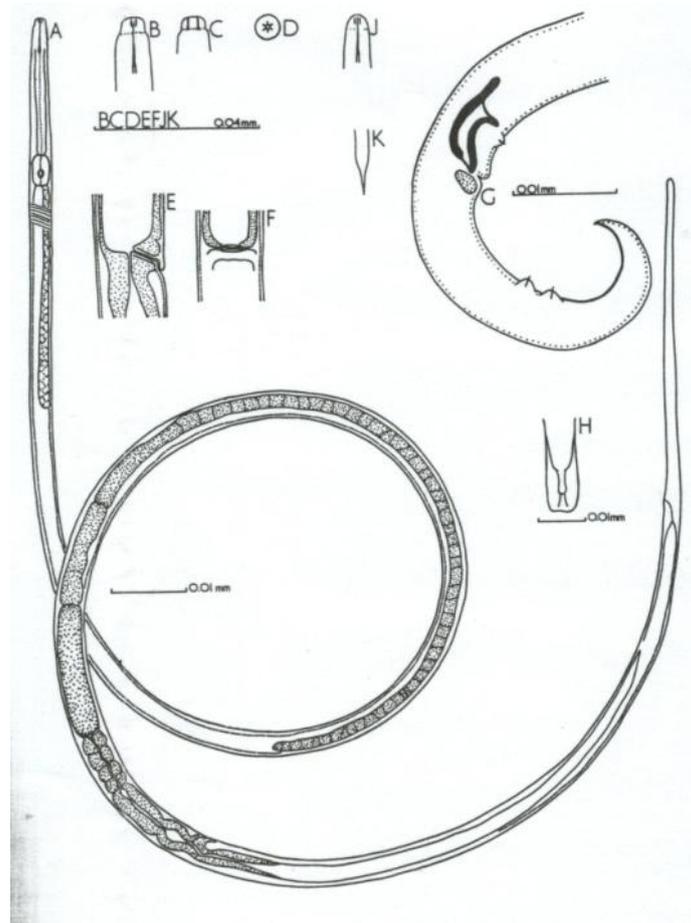


Figura 3: Desenho esquemático de *Bursaphelenchus cocophilus*
(Fonte: MAY e LYON, 1975)

O ciclo de vida do nematóide é realizado no interior do hospedeiro, sendo possível achar qualquer estágio nas raízes, caule e pecíolo das folhas. O nematóide é um endoparasito e o intervalo de tempo requerido para realizar o ciclo completo oscila entre nove e 10 dias, sendo que o terceiro estágio juvenil é o infectivo (Tihohod, 1993). A longevidade do nematóide sobre a superfície do inseto varia de dois a seis dias, e no tubo digestivo até 10 dias e a sobrevivência de *B. cocophilus* no solo esterilizado ou em água em condições normais de temperatura, é de aproximadamente sete dias (Hagley, 1963; Blair, 1966).

No estágio inicial da doença, os sintomas externos são caracterizados pela cor amarelo-ouro das folhas basais, que começam na ponta e avançam em direção à ráquis, tornando-se necrosadas e se quebram na base. No estágio mais avançado, a copa se apresenta com um aspecto amarelo-ouro, com exceção de um tufo central de folhas verdes, as quais se dobram, secam e as plantas morrem (Fig. 4) (Ferreira *et al.* 1998).



Figura 4: Sintoma externo da doença anel-vermelho (Foto: Lima, I.S.).

A coloração avermelhada do anel deve-se a distúrbios metabólicos produzidos pela atividade dos nematóides (Fig. 5), elevando o teor de gás carbônico no interior dos tecidos e, como consequência, altera os complexos enzimáticos, como o dos glicosídeos, dando origem aos pigmentos antociânicos (Tihohod, 1993). Os danos causados pelos nematóides nos vasos xilemáticos induzem ao aparecimento de tiloses, que é o crescimento irregular das células do parênquima para dentro do xilema, causando uma oclusão vascular. A oclusão vascular em monocotiledôneas é irreversível, uma vez que não existem tecidos de câmbio para reparar, assim as plantas de coqueiro portadoras da doença anel vermelho geralmente morrem após alguns meses (Giblin-Davis, 2001). Em coqueiros os sintomas são observados 28 dias após a inoculação, com o pico populacional de nematóides ocorrendo 42 dias após (Goberdhan, 1964). Thurston (1984) e Bratfwaite & Siddiqi (1975), relataram que os coqueiros infectados por *B. cocophilus* levam de 23 a 28 dias para manifestar os primeiros sintomas da doença, e de 3 a 4 meses para morrerem. Blair (1970) e Giblin-Davis (1990) observaram que, em estado natural, a infestação se inicia nos entrenós da coroa do coqueiro, onde os tecidos são mais tenros e alcançam desenvolvimento máximo entre cinco e sete anos de idade.



Figura 5: Sintoma interno da doença anel-vermelho (Foto: Lima, I.S.).

As tentativas de controle do nematóide têm sido frustradas porque *B. cocophilus* é um parasita de pouca mobilidade, e quando as plantas manifestam os sintomas de enfermidade, o dano já é irreversível (Sanchez & Cerda, 1993). Atualmente, o controle da doença é realizado combatendo-se o adulto de *R. palmarum* e através de práticas culturais. A utilização de iscas atrativas continua sendo aperfeiçoada, e, com a adição do feromônio de agregação (Rincoforol), se tornou a medida mais eficiente. A eliminação e queima imediata das plantas, contaminadas, também é recomendada (Ferreira *et al.*, 1998).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho de campo, que consistiu na coleta do material, foi conduzido no litoral norte de Alagoas no sítio Araújo e no sítio Confins, localizados nos municípios de Porto de Pedras e São Miguel dos Milagres, respectivamente, no período de outubro de 2009 a abril de 2010. Ambos distam em torno de 100 km de Maceió. A preparação e processamento das amostras foram realizados no Laboratório de Ecologia e Comportamento de Insetos (LECOM) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

3.1. Coleta do Material

As amostras foram coletadas de plantas em estágio avançado da doença, identificada através de seus sintomas característicos. Logo após, as plantas foram cortadas e o material com solos e raízes foram retiradas com o auxílio de uma enxada e de um cavador a uma profundidade não superior a 40 cm, sendo colocadas em sacos plásticos (Fig. 6).



Figura 6: Coleta das amostras (Foto: Lima, I.S.).

Foram eliminadas duas plantas doentes, uma em cada município, com idades aproximadas de quatro a cinco anos, das quais foram coletadas amostras no dia do corte e após 24, 51, 98, 125 e 176 dias. Obteve-se um total de 72 amostras de raízes e 72 amostras de solo.

As amostras coletadas de cada planta foram levadas ao LECOM/UFAL onde, as raízes e solos foram separados (Fig. 7). Após a separação, as raízes foram lavadas em água corrente para retirar todo o solo. Em seguida as raízes foram cortadas em pequenos pedaços, em torno de 2 cm, para facilitar sua posterior trituração e colocadas em sacos plásticos devidamente etiquetados. As amostras foram constituídas de 12 unidades com 50 gramas de raízes, sendo seis unidades de cada

planta. Já o solo foi peneirado e dividido em 12 amostras com 100 g cada, sendo seis unidades de cada planta, e colocados em sacos plásticos devidamente etiquetados.

As amostras de raízes e solo foram mantidas refrigeradas entre 3 e 5 °C até o processamento (Duarte *et al.*, 2008).



Figura 7: Separação de raízes e solo de coqueiros doentes (Foto: Lima, I.S).

3.2. Processamento das Amostras

Todas as amostras foram processadas no LECOM/UFAL. Os nematóides das amostras de raízes foram extraídos de acordo com a metodologia, modificada, proposta por Hussey e Barkey (1973), mediante trituração de partes vegetais em liquidificador. Em seguida, os nematóides foram separados dos resíduos vegetais pela técnica proposta por Coolon & D'Herde (1972), utilizando-se a centrifugação.

As amostras de raízes foram colocadas, seguindo sua ordem de identificação, em um liquidificador com cerca de 100 mL de água destilada e, foram trituradas por cerca de 30 segundos (Fig. 8).



Figura 8: Trituração de amostra de raízes (Foto: Torres, D.S).

Após a trituração, todo o material proveniente foi colocado em uma peneira granulométrica de 60 mesh, sobreposta a uma outra de 400 mesh. Com o auxílio de uma ducha, o material foi lavado na peneira de 60 mesh, que em seguida foi retirada. Com a ajuda de uma pisseta, o material que fica depositado na peneira de 400 mesh foi coletado. Este foi colocado em tubos de plástico e

mantido na vertical com o auxílio de um suporte de madeira. Após cada processamento todo o material envolvido foi lavado para que não houvesse contaminação de uma amostra na outra. Em seguida cada tubo de plástico foi pesado, e o seu conteúdo completado com água destilada até 27 g. Depois os tubos foram levados para centrifugação. Os tubos permaneceram na centrífuga por 4,5 minutos a uma velocidade de 1700 rpm. Posteriormente os tubos foram retirados da centrífuga e a parte líquida foi transferida para um becker. Na massa que ficou no fundo dos tubos, adicionou-se sacarose até atingir 30 g. Os tubos foram novamente centrifugados por um período de 1,5 minutos a 1700 rpm. Novamente, a parte líquida dos tubos foi transferida para seus respectivos beckers. Mais uma vez, adicionou-se sacarose até atingir 30 g e submetidos a uma terceira centrifugação, a 1700 rpm durante 1 minuto. Mais uma vez o sobrenadante foi colocado nos beckers. As soluções contidas nos beckers foram uma a uma levadas para a peneira de 400 mesh. Por fim, os materiais foram lavados com o auxílio de uma ducha, e em seguida, com pisseta, foram transferidos para seus recipientes de vidro e adicionado TAF (5% de trietanolamina, 5% de álcool, 75% de água e 15% de formol), para adequada conservação (Fig. 9).

As amostras de solo foram colocadas, seguindo sua ordem de identificação, em uma peneira de 20 mesh e lavado, com o auxílio de uma ducha, em água corrente de maneira que todo o conteúdo proveniente desta lavagem fosse armazenado em um balde, mexendo-se a solução por 1 minuto e aguardando mais 30 segundo. Em seguida, foi colocado a solução contida no balde na peneira de 400 mesh. Por meio da ducha, o material presente na peneira foi lavado e o conteúdo restante foi colocado em tubos de plástico e mantido na vertical com o auxílio de um suporte de madeira. Todas as etapas posteriores foram feitas igualmente às realizadas para as amostras de raízes (Fig. 9).



Figura 9. Etapas da preparação das amostras de solo (Foto: Torres, D.S).

3.3. Estimativa do Número de *B. cocophilus* nas Amostras

Com o auxílio de uma proveta foram determinados quantos mL, existiam em cada amostra de raízes e solo. A homogenização foi realizada soprando-se o líquido com o auxílio de uma pipeta. A estimativa do número de *B. cocophilus* em cada amostra foi realizada com o auxílio de um microscópio binocular Leica modelo CME com aumento de 100X (Fig. 10A) e de um contador de células Kácil modelo CCS-01 (Fig. 10B). Foram utilizadas duas lâminas de contagem de Peter (Fig. 10C), cada uma contendo 1,0 mL da amostra. De posse das duas leituras foi determinada uma estimativa para cada amostra através da regra de três simples. Dessa forma, foi obtido um número aproximado de nematóides presentes em cada amostra. Após a contagem, as lâminas foram lavadas para evitar contaminação.

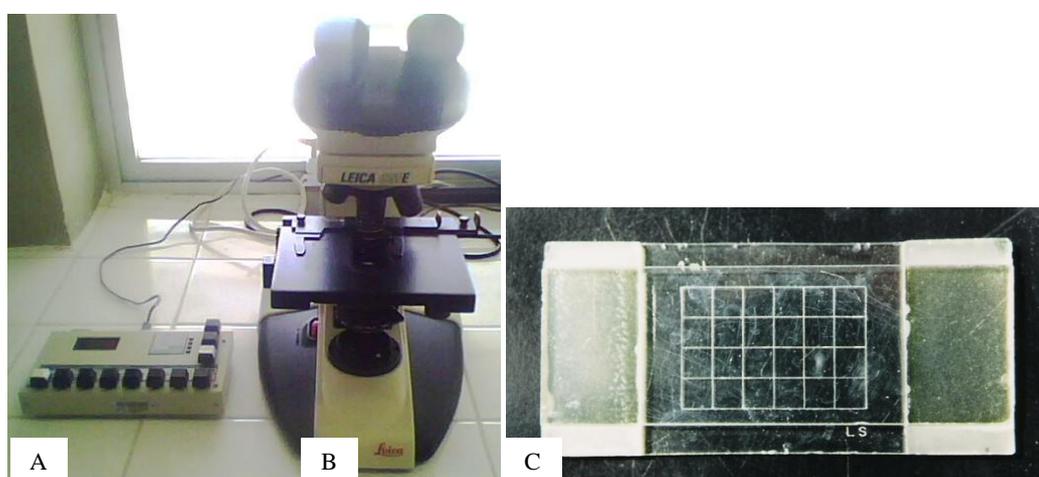


Figura 10: (A) Contador de células, (B) microscópio binocular e (C) lâminas de contagem de Peter
(Foto: Lima, I.S.)

3.4. Análises dos Resultados

Para verificar as possíveis diferenças significativas entre as amostras, todas as médias foram analisadas estatisticamente e comparadas pelo teste de TUKEY a 5% de probabilidade de erro.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Número de *B. cocophilus* encontrados nas raízes de coqueiros portadores do anel vermelho.

Os resultados deste trabalho indicaram que 83,33% das amostras de raízes, coletadas no dia do corte do coqueiro, estavam contaminadas com *B. cocophilus*, apresentando uma média de 59,10 ± 12,41 (Tabela 1). Esses resultados foram compatíveis com apresentados por Blair e Dinther (1981), que afirmaram que o número de nematóides encontrados em raízes de plantas doentes são geralmente muito baixo. Porém, os dados obtidos do dia do corte da planta foram consideravelmente inferiores aos encontrados por Duarte *et al.* (2008), que observaram 95,8% de contaminação com uma média de 519 nematóides em amostras de raízes.

Tabela 1. Percentuais de amostras contaminadas com *B. cocophilus* em raízes de coqueiros portadores da doença anel-vermelho e média de nematóides recuperados referentes ao período após o corte da planta.

Período Após o Corte	Nº de Amostras	Amostras Contaminadas	Nº Máximo	Nº Mínimo	Média	Média ± E.P.
0 dia	12	10 (83,33%)	133	0	59,10 ab	59,10 ± 12,41
24 dias	12	9 (75,00%)	95	0	32,08 bc	32,08 ± 9,58
51 dias	12	12 (100,00%)	148,75	18	83,70 a	83,70 ± 11,25
98 dias	12	8 (66,66%)	34	0	10,12 c	10,12 ± 2,96
125 dias	12	6 (50,00%)	34	0	7,79 c	7,79 ± 3,07
176 dias	12	0 (0,00%)	0	0	0,00 c	0,00 ± 0,00

As médias provenientes das amostras coletadas no dia do corte, não diferiram estatisticamente das amostras coletadas aos 24 e 51 dias após o corte. No entanto, estas últimas diferiram estatisticamente entre si (Tabela 1).

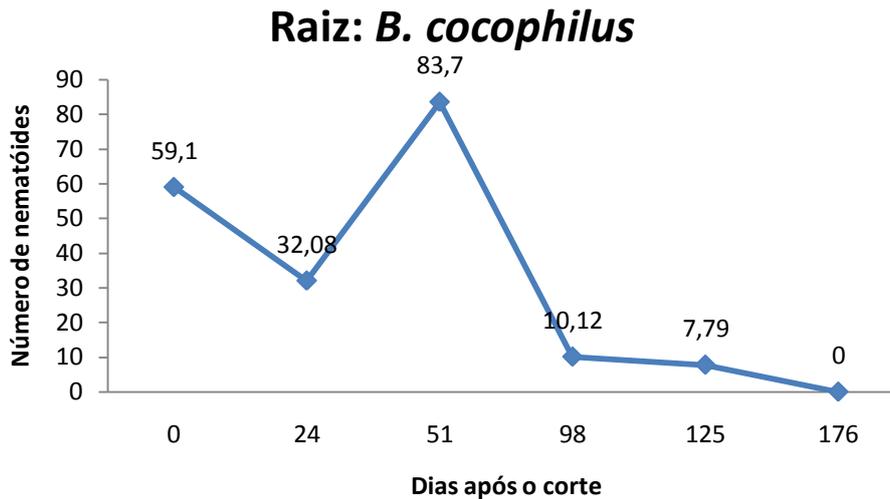


Figura 11. Variação populacional de *B. cocophilus* em raízes no decorrer dos dias.

É possível observar que as amostras coletadas aos 24 dias após o corte também não diferiu estatisticamente das amostras coletadas aos 98, 125 e 176 dias após o corte. Já as amostras coletadas aos 51 dias após o corte, também diferiu estatisticamente das amostras coletadas aos 24, 98, 125 e 176 dias após o corte (Tabela 1).

Aos 176 dias após o corte da planta, não foi verificada a ocorrência de nematóides *B. cocophilus*.

Os resultados deste trabalho mostram que além das medidas de controle proposta por Ferreira *et al.* (1998) onde, recomendou a eliminação imediata das plantas, efetuando o corte e a queima das plantas contaminadas com a doença, deve-se obedecer ao período de carência de pelo menos 170 dias para realizar um novo plantio. Pois, segundo Griffith (1968) uma pequena quantidade de nematóides é suficiente para o completo estabelecimento da doença.

Através deste trabalho, sugere-se que há a necessidade de se obter formas de diminuição do período de carência, pois 170 dias é um tempo muito grande a ser perdido pelo produtor.

4.2. Número de *B. cocophilus* encontrados no solo de coqueiros portadores do anel vermelho.

Os resultados desta análise indicaram que nas amostras coletadas no dia do corte foram encontrados $54,41 \pm 13,09$ *B. cocophilus* onde, 83,33% das amostras de solo estavam contaminadas (Tabela 2). Neste período foi encontrado em uma única amostra 142,5 nematóides. Esses números são bastante semelhantes aos encontrados no mesmo período nas amostras de raízes (Tabela 1). Mas, esses dados não são similares aos obtidos por Kastelein (1987) que achou uma quantidade de nematóides entre zero e 20/100 g de solo na área de coqueiros infetados.

Tabela 2. Percentuais de amostras contaminadas com *B. cocophilus* em solos de coqueiros portadores da doença anel-vermelho e média de nematóides recuperados referentes ao período após o corte da planta.

Período Após o Corte	Nº de Amostras	Amostras Contaminadas	Nº. Máximo	Nº Mínimo	Média	Média \pm E.P
0 dia	12	10 (83,33%)	142,5	0	54,41 a	$54,41 \pm 13,09$
24 dias	12	10 (83,33%)	93,5	0	24,70 b	$24,70 \pm 7,08$
51 dias	12	5 (41,66%)	24	0	7,58 b	$7,58 \pm 2,84$
98 dias	12	4 (33,33%)	17	0	4,41 b	$4,41 \pm 1,99$
125 dias	12	0 (0,00%)	0	0	0,00 b	$0,00 \pm 0,00$
176 dias	12	0 (0,00%)	0	0	0,00 b	$0,00 \pm 0,00$

As amostras correspondentes ao dia do corte da planta diferiram estatisticamente das demais amostras. No entanto, não houve diferença estatística entre as amostras de 24, 51, 98, 125 e 176 dias (Tabela 2).

Diferentemente das amostras de raízes (Tabela 1), não foi constatado, nas amostras de solo, aumento na população de *B. cocophilus* após a planta ser sacrificada. Passados 98 dias do corte da planta, não se encontrou tais nematóides. O constante declínio populacional (Fig. 13) pode ser explicado pelo fato de que sem a planta ou um inseto vetor, *B. cocophilus* pouco sobrevivem, sugerindo uma relação obrigatória com ambos os hospedeiros. Este declínio na população confirmou os resultados obtidos por Martyn (1953) onde, ele afirmou que *B. cocophilus* não se multiplica em grandes populações no solo.

Nas amostras correspondentes aos 125 e 176 dias após o corte da planta não foram encontrados estes nematóides (Tabela 2).

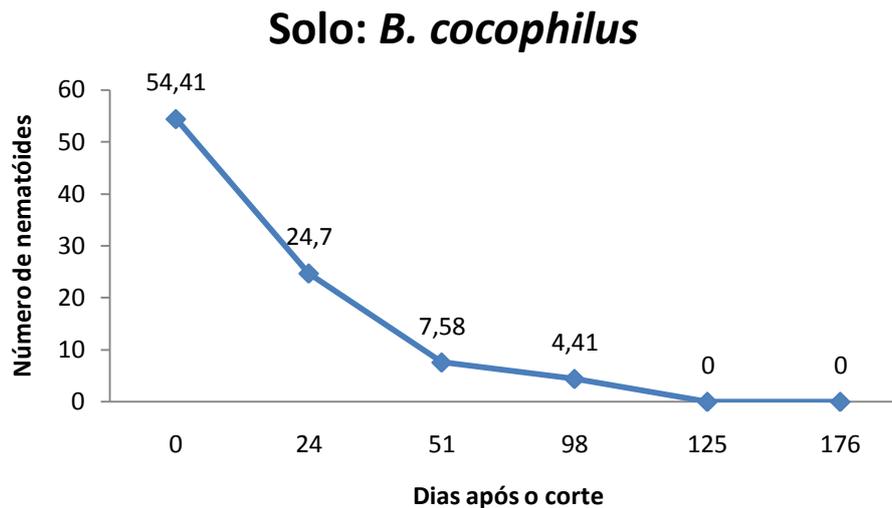


Figura 12. Variação populacional de *B. cocophilus* em solo no decorrer dos dias.

4.3. Nematóides de vida livre encontrados nas raízes e no solo de coqueiros portadores do anel vermelho.

Os resultados das análises de raízes e solo indicaram que do dia do corte da planta ao último dia de coleta, ou seja, de 0 a 176 dias foram encontrados nematóides de vida livre em 100,00% das amostras. Para as amostras de raízes o número máximo de nematóides de vida livre encontrado foi de 1.700,5. Já nas amostras de solo o máximo encontrado foi de 1.592. O pico populacional das amostras de raízes ocorreu aos 24 dias após o corte da planta (Fig. 14), o mesmo ocorreu para as amostras de solo aos 51 dias (Fig. 15).

Os números deste trabalho demonstraram também que os nematóides de vida livre são merecedores de novos estudos, com o objetivo de verificar as espécies presentes nos coqueirais. No entanto, Lordello (1992) relatou que a maioria dos nematologistas não dedica qualquer atenção aos nematóides de vida livre. O mesmo afirmou ser evidente que, do ponto de vista econômico, esses nematóides apresentam importância secundária, quando comparadas aos verdadeiros parasitos de plantas.

Tabela 3. Percentuais de amostras contaminadas com nematóides de vida livre em raízes de coqueiros portadores da doença anel-vermelho e média de nematóides recuperados referente ao período após o corte da planta.

Período Após o Corte	Nº de Amostras	Amostras Contaminadas	Nº Máximo	Nº Mínimo	Média ± E.P.
0 dia	12	12 (100,00%)	285	19	142,35 ± 24,13
24 dias	12	12 (100,00%)	1700,5	342	958,62 ± 134,62
51 dias	12	12 (100,00%)	1674	204	628,43 ± 112,68
98 dias	12	12 (100,00%)	833	100	440,33 ± 67,91
125 dias	12	12 (100,00%)	532	119	282,45 ± 42,22
176 dias	12	12 (100,00%)	684	198	379,37 ± 46,65

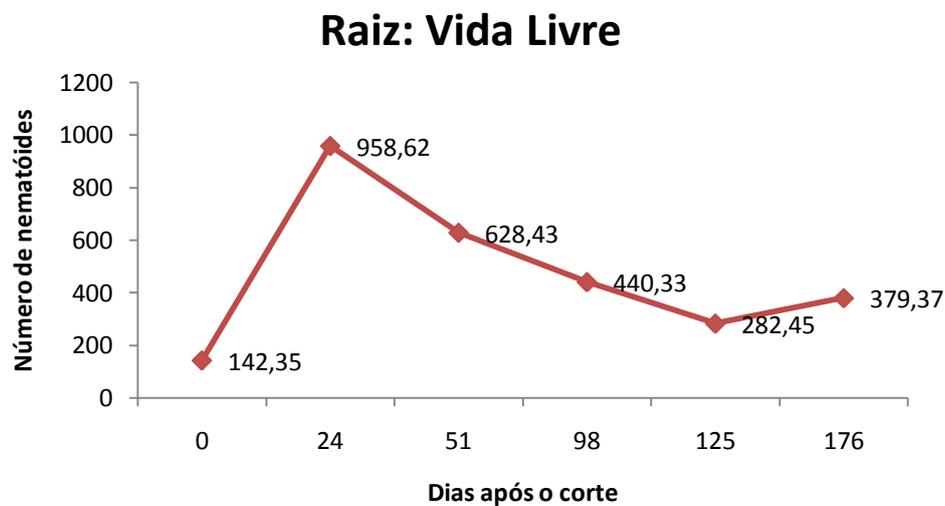


Figura 13. Variação populacional de nematóides de vida livre em raízes no decorrer dos dias.

Tabela 4. Percentuais de amostras contaminadas com nematóides de vida livre em solo de coqueiros portadores da doença anel-vermelho e média de nematóides recuperados referente ao período após o corte da planta.

Período Após o Corte	Nº de Amostras	Amostras Contaminadas	Nº Máximo	Nº Mínimo	Média ± E.P
0 dia	12	12 (100,00%)	1312,5	216	687,08 ± 98,93
24 dias	12	12 (100,00%)	858,5	224	519,62 ± 49,88
51 dias	12	12 (100,00%)	1592	684	1020,16 ± 91,07
98 dias	12	12 (100,00%)	1139	256,5	726,16 ± 66,39
125 dias	12	12 (100,00%)	639	195,5	396,29 ± 42,86
176 dias	12	12 (100,00%)	272	56	121,33 ± 17,17

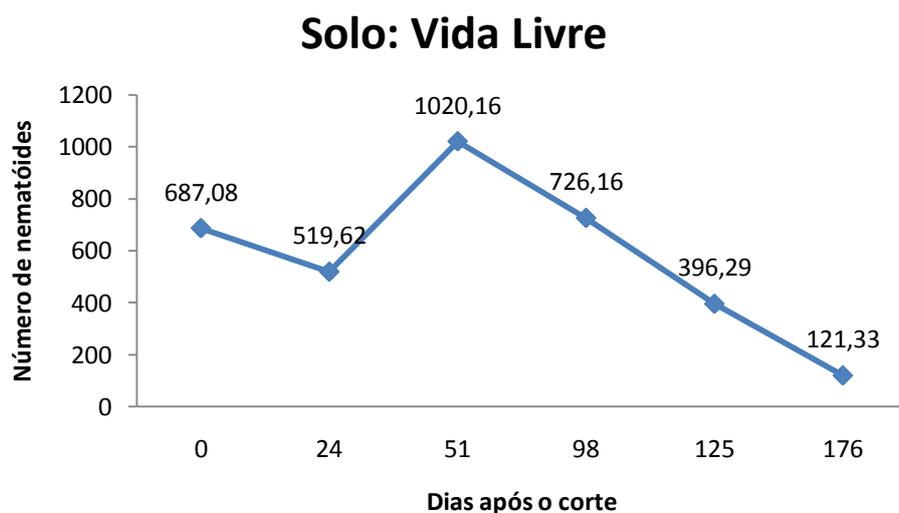


Figura 14. Variação populacional de nematóides de vida livre em solo no decorrer dos dias.

5. CONCLUSÕES

- a) Em 83,33% das amostras de raízes e de solo, coletadas no dia do corte do coqueiro, estavam contaminadas com *Bursaphelenchus cocophilus*.
- b) Não se verifica a ocorrência de nematóides *B. cocophilus* nas amostras de raízes aos 176 dias após o corte da planta.
- c) A partir dos 125 dias após o corte da planta, não se verificou a presença de *B. cocophilus* nas amostras de solo.
- d) Além da eliminação imediata das plantas contaminadas, efetuando o corte e a queima das plantas contaminadas com a doença, deve-se obedecer ao período de carência de pelo menos 170 dias para realizar um novo plantio.
- e) É encontrada uma grande quantidade de nematóides de vida livre nas amostras de raízes e solo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAUJARD, P. Remarques sur les genres des sous-familles Bursaphelenchinae Paramonov, 1964 et Rhadinaphelenchinae Paramonov, 1964 (Nematoda: Aphelenchoididae). Revue Nématol. V. 12, n. 3 p 323-323, 1989.
- BLAIR, G.P. Studies on red ring disease of coconut palm. Oléagineux, n.25, p. 19-22, 1966.
- BLAIR, G.P. Studies on red ring disease of coconut palm. Oléagineux, Paris, p. 19-22, 1970
- BRATFWAITE, C.M. & M.R. SIDDIQI. Description of *Rhadinaphelenchus cocophilus*. In Description of plant-parasitic nematodes. Alban-Commonwealth, Institute of Hemintology, UK. Vol.5, 1975.
- CHINCHILA, C.M. El síndrome del anillo rojo-hoja pequeña em palma aceitera y coctero. Costa rica, Oil Palm Operations. (Bol. Téc.) p. 125, 1988.
- COBB, N.A. A new discovered nematode *Aphelenchus cocophilus* n. sp. Connected with a serious disease of the coconut palm. W. Indian Bull., n. 17, p .203-210, 1919.
- COOLEN, W.A.; D'HERDE, C.J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent: Nematology and Entomology Research Station, 1972. 77p.
- DUARTE, A.G.; LIMA, I.S.; ARAÚJO JÚNIOR, J.V.; DUARTE, A.G.; ALBUQUERQUE, A.L.S.; CRUZ, M.M. Disposição do nematóide *Bursaphelenchus cocophilus* (Cobb) baujard, em coqueiros portadores da doença anel-vermelho. Rev. Bras. Frutic. Vol.30 n.3 p. 622-627, 2008.
- FAO. Informes sobre a produção de cocos. Disponível em: www.todafruta.com.br Acesso em: 16 de Junho de 2010.
- FERREIRA, J. M. S.; WARWICH, D. R. N. & SIQUEIRA, L. A. (eds). A cultura do coqueiro no Brasil. Brasília-DF. EMBRAPA-CPATC. 1998. 2ª ed. p. 292.
- FRANCO, E. Estudo sobre o anel-vermelho do coqueiro. Aracaju, Inspetoria de Defesa Fitossanitária, p. 264 (publicação, 6). 1964.
- GIBLIN-DAVIS, R.M. The red ring nematode and its vetores. Nematology. 1990. (Circular 181).
- GIBLIN-DAVIS, R.M. Insects of borers. In: HOWARD, F.W.; MOORE, D.; GIBLIN-DAVIS, R.M.; ABAD, R.G. Insects on palms. Wallingford-Oxon, England: CABI Publishing, 2001. 414p.
- GRIFFITH, R. The relationship between the red ring nematode and the palm weevil. Journal Agricultural Society Trinidad and Tobago, Wageningen, v.68, p. 342-356, 1968.
- GRIFFITH, R. The use of smaller palm weevil, *Rhynchophorus palmarum* L. in the forecasting of red ring disease out-breaks. J. Agric. Soc. Trinidad and Tobago 74: 149-158, 1974.

- GRIFFITH, R. & KOSHY, P. K. Nematode parasite of coconut and other palm. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J., eds. Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. CAB International, p. 363-386, 1990.
- GOBERDHAN, B. Observations on coconut palms artificially infected by the nematode *Rhadinaphelenchus cocophilus* (Cobb, 1919) Goodey, 1960. J. Helminthol. 38: 25-30, 1964.
- HAGLEY, E. A. C. The role of the palm weevil, *Rhynchophorus palmarum*, as a vector of red ring disease of coconuts. I. Results of preliminary investigations. J. Econ. Entomol., v.56, n.3, p. 375-380, 1963.
- HAGLEY, E. A. C. On the live history and habitats of the palm weevil *Rhynchophorus palmarum* (L.) Ann. Ent. Soc. Am., v.58, p. 22-28, 1965.
- HUSSEY R.S.; BARKER, K.R.A. Comparison of methods for collecting inocula of *Meloidogyne* spp. Including a new technique. Plant Disease Reporter, Washington, v.57, n.12, p.1025-1028. 1973.
- IBGE. Produção agrícola municipal 2006. Disponível em: www.ibge.gov.br Acesso em: 11 de junho de 2010.
- KASTELEIN, P. Observations on red ring disease of coconut palm in Surinam. De Surin. Landb. 33: 40-53, 1987.
- LORDELLO, L. G. E. Nematóides das plantas cultivadas. Nobel, São Paulo, 1992. 8ª. Ed. p. 75-314.
- MARTYN, E. Red ring disease of coconut in Trinidad and Tobago. Trop. Agric. 30: 43-45. 1953.
- MAY, W. F. & LYON, H. H. Pictorial Key to Genera of Plant-parasitic Nematodes. Fourth edition, Revised. Cornell University. New York. 219 p. 1975
- PASSOS, E. E. M. Morfologia do coqueiro. In: A cultura do coqueiro no Brasil. FERREIRA, J. M. S.; WARWICK, D. R. N. E SIQUEIRA, L.A. (eds) EMBRAPA/CPATC. Brasília-DF. 2ª edição. p. 189-267. 1990.
- PROCOCO. Produtores de coco querem revitalizar a cadeia produtiva. Disponível em: www.agricultura.al.gov.br Acesso em: 17 de junho de 2010.
- SANCHEZ, P. A.; CERDA, H. El complejo *Rhynchophorus palmarum* (L) (Coleoptera: Curculionidae) – *Bursaphelenchus cocophilus* (Cobb) (Tylenchida: Aphelenchoididae), em palmeras. Bol. Entomol. Venez. N. S., v.8, n.1, p.1-18, 1993.
- THURSTON, H. Red ring disease of coconut. In: THURSTON, H. Tropical plant disease. St Paul: American Phytopathology Society. p.161-164, 1984.
- TIHOHOD, D. Nematologia agrícola aplicada. Jaboticabal, FUNEP, 1993. 372 p.
- WARWICK, D.R.N. & BEZERRA, A.P.T. Possible root transmission of the red ring nematode (*Radinaphelenchus cocophilus*) to coconut palms. Plant Dis., n.76, p.809-811, 1992.

WARWICK, D.R.N. & LEAL, E. C. Principais doenças letais In: FERREIRA, J.M.S., (ed.). Coco Fitossanidade. Brasília-DF, EMBRAPA, p.51-62, 2003.

WARWICK, D.R.N. Comunicado técnico 38: Principais características do anel-vermelho e murcha-de-fitomonas. Aracaju-SE, EMBRAPA, 2005. 8p.