

APRIMORAMENTO DO CONHECIMENTO CIENTÍFICO E DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIAS PARA O CONTROLE DAS PRINCIPAIS DOENÇAS DO COQUEIRO



República Federativa do Brasil

Fernando Henrique Cardoso
Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Marcus Vinícius Pratini de Moraes
Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Conselho de Administração

Márcio Fortes de Almeida
Presidente

Alberto Duque Portugal
Vice-Presidente

Dietrich Gerhard Quast
José Honório Accarini
Sérgio Fausto
Urbano Campos Ribeiral
Membros

Diretoria Executiva da Embrapa

Alberto Duque Portugal
Diretor-Presidente

Dante Daniel Giacomelli Scolari
Bonifácio Hideyuki Nakasu
José Roberto Rodrigues Peres
Diretores

Embrapa Tabuleiros Costeiros

Lafayette Franco Sobral
Chefe-Geral

Maria de Fátima Silva Dantas
Chefe-Adjunto de Administração

Maria de Lourdes da Silva Leal
Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento



ISSN 1678-1953

Novembro, 2002

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Embrapa Tabuleiros Costeiros

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Documentos 39

APRIMORAMENTO DO CONHECIMENTO CIENTÍFICO E DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIAS PARA O CONTROLE DAS PRINCIPAIS DOENÇAS DO COQUEIRO

Jefferson Luis da Silva Costa
Virgínia Carla de Oliveira
Francisco Marto Pinto Viana
Edna Castilho Leal
Dulce Regina Nunes Warwick

Aracaju, SE
2002

Disponível em:

Home page: <http://www.cpatc.embrapa.br>

Embrapa Tabuleiros Costeiros

Av. Beira-Mar, 3250, Caixa Postal 44, CEP 49001-970, Aracaju-SE

Tel (0**79) 226-1300

Fax (0**79) 226-1369

E-mail: sac@cpatc.embrapa.br

Comitê Local de Publicações

Presidente: Maria de Lourdes da Silva Leal

Secretária-Executiva: Aparecida de Oliveira Santana

Membros: Emanuel Richard Carvalho Donald

Ederlon Ribeiro de Oliveira

Denis Medeiros dos Santos

Marcondes Maurício de Albuquerque

Jéfferson Luís da Silva Costa

Diagramação: Aparecida de Oliveira Santana / Wesleane Alves Pereira

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei n.º 9.610).

COSTA, J.L. da S; OLIVEIRA, V.C. de; VIANA, F.M.P.; LEAL, E.C.; WARWICK, D.R.N. Aprimoramento do conhecimento científico e desenvolvimento de tecnologias para o controle das principais doenças do coqueiro. Aracaju, Embrapa Tabuleiros Costeiros, 121p, 2002. (Embrapa Tabuleiros Costeiros. Documentos, 39). Disponível em <http://www.cpatc.embrapa.br>

CDD: 634.61

© Embrapa 2002

SUMÁRIO

<u>1. Introdução.....</u>	<u>5</u>
<u>2. Caracterização.....</u>	<u>6</u>
<u>3. Hipóteses ou questões técnico-científicas.....</u>	<u>14</u>
<u>4. Revisão de literatura.....</u>	<u>15</u>
<u>5. A queima das folhas e as lixas do coqueiro.....</u>	<u>17</u>
<u>6. Controle químico e biológico.....</u>	<u>19</u>
<u>7. Objetivos.....</u>	<u>26</u>
<u>8. Metas.....</u>	<u>28</u>
<u>9. Metodologia.....</u>	<u>33</u>
<u>10. Desenvolvimento de técnicas apropriadas à manipulação e ao estudo da variabilidade genética dos agentes causais das principais doenças foliares do coqueiro.....</u>	<u>33</u>
<u>11. Alternativas de controle para manejo integrado das doenças foliares.....</u>	<u>40</u>
<u>12. Prospecção etiológica e epidemiologia da podridão seca.....</u>	<u>44</u>
<u>13. Identificação e controle de potenciais patógenos de pós-colheita no fruto do coqueiro.....</u>	<u>47</u>
<u>14. Em busca de resistência às principais doenças do coqueiro.....</u>	<u>49</u>
<u>15. Estratégia de ação.....</u>	<u>54</u>

<u>16. Resultados esperados.....</u>	<u>63</u>
<u>17. Apropriação de resultados.....</u>	<u>66</u>
<u>18. Riscos e dificuldades.....</u>	<u>67</u>
<u>19. Participação da equipe em outros projetos e financiamentos....</u>	<u>68</u>
<u>20. Referências Bibliográficas.....</u>	<u>69</u>
<u>21. Informações adicionais.....</u>	<u>77</u>

**A PRIMORAMENTO DO CONHECIMENTO CIENTÍFICO E
DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIAS PARA O CONTROLE DAS
PRINCIPAIS DOENÇAS DO COQUEIRO**

Jefferson Luis da Silva Costa¹
Virgínia Carla de Oliveira²
Francisco Marto Pino Viana³
Edna Castilho Leal⁴
Dulce Regina Nunes Warwick⁵

1. RESUMO

O desenvolvimento do coqueiro no Brasil é muito afetado pela existência de um complexo parasitário constituído por diversas doenças. A ocorrência desses patógenos em todas as regiões produtoras, e em intensidade variável, são responsáveis pela redução geral de 50% do potencial produtivo da cococultura. O prejuízo torna-se ainda mais agravante no coqueiro gigante, responsável pela produção de copra, pois devido aos problemas de sanidade tornam o Brasil dependente da importação deste produto. Neste projeto buscar-se-á aprimorar o conhecimento sobre a etiologia e epidemiologia das principais doenças do coqueiro e desenvolver tecnologias aplicadas de controle químico, biológico e genético para o uso imediato ou futuro no manejo integrado da cultura. Para tanto serão utilizadas técnicas convencionais e moleculares, aplicadas à fitopatologia, em ensaios de laboratório, casa de vegetação e campo, em quatro estados brasileiros. Em dois anos espera-se: a) desenvolver metodologias para a reprodução dos sintomas das doenças foliares, facilitando

¹ Eng. Agr. Ph.D., Pesquisador da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Av. Beira-Mar, 3.250, Cx. postal 44, CEP 49001-970, Aracaju-SE, e-mail: jcosta@cpatc.embrapa.com.br.

² Bióloga, B.Sc. Bolsista do CNPQ. Embrapa Tabuleiros Costeiros, e-mail: vcarla@cpatc.embrapa.com.br.

³ Eng. Agr. D.Sc., Pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Rua Dra. Sara Mesquita, 2270, Planalto do Pici, Cx. Postal 3761, CEP 60511-110, Fortaleza-CE, e-mail: fmpviana@cpatc.embrapa.com.br.

⁴ Eng. Agr. M.Sc., Pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, e-mail: edna@cpatc.embrapa.com.br.

⁵ Eng. Agr. Ph.D., Pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, e-mail: dulce@cpatc.embrapa.com.br.

os trabalhos de seleção de germoplasma resistente, screening de fungicidas e outras tecnologias para o controle das doenças; b) caracterizar e disponibilizar aos produtores pelo menos duas moléculas químicas, um indutor de resistência e três hiperparasitas eficientes no controle das doenças foliares; c) desenvolver um sistema de previsão de doenças para racionalizar as pulverizações de produtos químicos e biológicos; d) esclarecer a etiologia da Podridão Seca do coqueiro, doença que impede a instalação de novos plantios, identificando ainda, insetos transmissores e possíveis hospedeiros intermediários; e) encontrar fontes de resistência natural no campo à Murcha de *Phytophthora*, além de conhecer os insetos transmissores da doença; f) aumentar a vida útil do fruto do coqueiro, que pode variar com as condições de armazenagem devido ao ataque de patógenos de pós colheita que serão identificados e para os quais serão desenvolvidos métodos de profilaxia; g) a obtenção de plântulas do coqueiro geneticamente modificadas expressando um ou mais genes com potencial para conferir resistência às doenças. Estas tecnologias serão amplamente difundidas na concepção de manejo integrado, e espera-se após a sua aplicação, impactos econômicos, sociais e ambientais extremamente positivos na cadeia produtiva do coqueiro.

Palavras-Chave: *Phyllachora torrendiella*, *Sphaerodothis acrocomiae*, *Phytophthora*, *Phytophthora*, *Bipolaris incurvata*, *Botryodiplodia theobromae*.

2. CARACTERIZAÇÃO

Natureza da pesquisa

Na concepção deste projeto, para se aprimorar o conhecimento científico de doenças do coqueiro e desenvolver tecnologias apropriadas ao seu controle, preconizou-se o uso de pesquisas de diversas naturezas. A saber:

- ☞ Teste e 'Screening': serão efetuados testes de novos fungicidas e insumos em condições locais visando a viabilização de uso direto.
- ☞ Pesquisa Aplicada: maioria dos conhecimentos gerados em diversas atividades previstas terão aplicação prática no desenvolvimento da cocoicultura

- ↵ Pesquisa Estratégica ou Pré-tecnológica: o desenvolvimento de plantas com resistência a doenças são pesquisas desta natureza.
- ↵ Pesquisa Básica: ao direcionar o avanço do conhecimento e os estudos sobre a etiologia e epidemiologia de doenças, no coqueiro estaremos elucidando processos biológicos.

Público Alvo

- ↵ Indústria de insumos, ingredientes e embalagens
- ↵ Instituições de pesquisa, universidades e outras instituições de ensino
- ↵ Produtores de base familiar
- ↵ Empreendimentos de produção rural
- ↵ Órgãos governamentais
- ↵ Empresas agroindustriais
- ↵ Instituições e empresas de planejamento, extensão e assistência técnica
- ↵ Ecossistemas
 - ↵ Amazônico
 - ↵ Costeiras
- ↵ Cadeia produtiva
 - ↵ Coco e subprodutos tais como a água de coco e copra
- ↵ Eixo de integração do PPA
 - ↵ Madeira-Amazônia
 - ↵ Transnordestino
 - ↵ São Francisco

Caracterização do Problema Focalizado pelo Projeto

O coqueiro (*Cocos nucifera* L) é talvez a mais útil das plantas tropicais. Oferece uma ampla gama de produtos para a utilização na alimentação humana, indústria, na construção rural artesanatos e adaptado aos solos arenosos, de baixa fertilidade natural, podendo ser a base para uma agricultura sustentável nas pequenas propriedades da região Nordeste. Sob condições ideais de clima e nutrição o coqueiro apresenta a vantagem singular de produzir um cacho de frutos mensalmente, durante toda a sua existência, que pode chegar a 80 anos.

A cocoicultura nacional tem experimentado um acentuado crescimento e uma interiorização do seu cultivo, tradicionalmente concentrado em regiões litorâneas. Este processo de deslocamento para áreas não tradicionais tem provocado o ataque severo de doenças, que anteriormente não tinham importância econômica. Nesse contexto, a Embrapa tem sido demandada no sentido de apresentar soluções efetivas para o controle desses patógenos. Ressalte-se ainda que mais recentemente foi aprovada pelo GECEX (grupo executivo de comércio exterior), as "medidas de salvaguarda" para a importação do coco, a vigorar a partir de primeiro de setembro de 2002. Por esta medida fica limitada a 3900 ton/ano a importação de coco pelo Brasil, sendo esta quota monitorada pelo setor a cada 60 dias, sobre a qual incidirá ainda uma sobretaxa de 50%, durante um período de 10 anos. Para tanto torna-se necessário que sejam cumpridas por nosso setor produtivo as medidas de recuperação e renovação dos nossos coqueiros, previstas e encaminhadas ao ministério da Indústria e Comércio, como contraparte dos nossos produtores para adequação dos sistemas atuais de produção, onde se prevê a renovação e recuperação do coqueiral destinado a indústria. Se considerarmos que o consumo atual das indústrias é de 2600 ton/ano de coco ralado, pode-se prever para breve um aquecimento de preço do coco, com reflexos positivos em nossa economia, sobretudo para o produtor. Não resta dúvida que para atingir esta meta a cocoicultura nacional deve sanar um de seus pontos de estrangulamento mais evidentes; os danos causados por doenças diversas.

A cultura é extremamente afetada pela existência de um complexo parasitário constituído por três fungos que reduzem acentuadamente a superfície foliar. O

secamento da folhagem é provocado principalmente por *Botryodiplodia theobromae*, agente causal da queima das folhas, e pelos fungos *Phyllachora torrendiella* e *Sphaerodothis acrocomiae*, agentes causais da lixa pequena e grande, respectivamente. A ocorrência desses patógenos é geralmente em coqueiros afastados da faixa litorânea, e são responsáveis pela redução de 50% da produção de coco no Brasil. O prejuízo parece ser mais agravante no coqueiro gigante, responsável pela produção de copra utilizada na indústria, pois devido aos problemas de sanidade tornam o Brasil dependente da importação deste produto (Siqueira, 1994; FAO 1999). Nos últimos anos, introduções de genótipos de Anões e de Gigante foram realizadas pela Embrapa Tabuleiros Costeiros, sem contudo encontrar nenhum nível de tolerância aceitável. O controle químico, além do alto custo de mais de US\$300,00 dólares/ha/ano, é errático por não oferecer retorno satisfatório, causa danos ambientais e severos riscos à saúde dos aplicadores, pois as moléculas desenvolvidas não parecem ser as mais apropriadas. Desta forma além de uma reorientação do controle químico que necessita ser melhor racionalizados, se novas medidas de controle não forem preconizadas, estas doenças podem nos próximos anos, inviabilizar o desenvolvimento econômico da cocoicultura no Nordeste brasileiro. Ressalte-se que a cocoicultura é fundamental nesta região para sustentabilidade da agricultura familiar e para a diversificação da agroindústria.

Além destes, no restante do Brasil, o coqueiro ainda é afetado por outras doenças, cuja etiologia não está bem esclarecida como a Podridão Seca que tem provocado perdas de até 100% e inviabiliza novos plantios em algumas regiões. Há ainda a preocupação com doenças com crescente potencial de dano na cultura para as quais ainda não existem tecnologias. Dentre estas destacam-se a Murcha de *Phytophthora* e a Helminthosporiose. Mais recentemente, observou-se a redução na vida de prateleira do fruto do coqueiro em pós-colheita devido ao ataque de patógenos desconhecidos e para os quais consequentemente não existem medidas de profilaxia. Estes últimos inclusive tem prejudicado a exportação do coco *in natura* para outros países, pois recentemente, o Grupo de Coco do Ceará, uma associação preocupada com toda a cadeia produtiva e comercial do coco no Estado, iniciou suas exportações para a Europa. Entretanto, após a chegada dos primeiros lotes na

Itália, uma podridão na base dos frutos foi detectada em grande número de caixas, causando considerável perda ao exportador.

Para solucionar o problema, entre as possíveis opções, destacamos: os avanços recentes na engenharia genética que tem revolucionado a agricultura por permitir a introdução de genes exógenos (transgenes) em plantas criando condições para o desenvolvimento de resistência a doenças em materiais antes considerados suscetíveis; a possibilidade de uso do controle biológico com hiperparasitas, e o uso recente de indutores fisiológicos de resistência. Contudo para a aplicabilidade destas tecnologias é fundamental definir corretamente a etiologia de algumas das doenças que ainda estão obscuras; estudar sua epidemiologia identificando possíveis agentes transmissores e hospedeiros intermediários; e caracterizar a variabilidade genética destes patógenos quando pertinente.

Para isto, a Embrapa Tabuleiros Costeiros torna-se a mais elegível por ser líder no desenvolvimento de tecnologias para indústria do coqueiro, tendo inclusive no passado sido um centro de produtos, ou seja, a Embrapa Coco. Assim, contribuir com o desenvolvimento da cococultura brasileira continua sendo uma das principais metas do plano diretor e agenda institucional da unidade. Recentemente foi criado o laboratório integrado de Fitopatologia/Biotecnologia que possui câmaras de fluxo laminar, incubadoras, reagentes vidrarias, microscópios, e diversos equipamentos suficientes à manipulação de microorganismos. Investimentos na Biotecnologia contemplaram a aquisição de uma série de equipamentos tais como, centrífugas, microcentrífuga de eppendorf, speed vac, extratores de DNA (mini-bead-beater), cubas de corrida para géis, fontes elétricas, agitadores, câmaras de crescimento, etc. A este laboratório foram integrados novos pesquisadores bem como bolsistas e estudantes de pós-graduação.

Com este enfoque e pensamento deste novo grupo que se pretende aprimorar os conhecimentos científicos sobre as doenças do coqueiro e desenvolver tecnologias definidas para viabilização do manejo integrado das principais doenças focadas.

Com o mesmo propósito a Embrapa Agroindústria Tropical vem somar esforços em problemas da patologia de pós colheita, assunto em que é líder, bem como

a Ceplac/Cepec, cujo corpo técnico é reconhecido nacionalmente em micologia e apuração técnica no esclarecimento da etiologia de doenças, demanda igualmente contemplada neste projeto.

Considerando ainda a oportunidade de pesquisa em engenharia genética, a Embrapa Recursos Genéticos também colaborará com os trabalhos de transformação do coqueiro procurando abrir um novo caminho no combate a doenças tão persistentes como as lixas e queima das folhas.

Somando os esforços de toda a equipe no desenvolvimento das metodologias propostas nos Planos de Ação espera-se em dois anos: a) desenvolver ou adaptar um meio sintético para o cultivo dos agentes causais da lixas do coqueiro podendo assim viabilizar estudos de variabilidade genética e esclarecer sua etiologia; b) desenvolvimento metodologias para a reprodução dos sintomas das doenças foliares facilitando os trabalhos de seleção de germoplasma resistente, screening de fungicidas e outras tecnologias para o controle das doenças; c) caracterizar e disponibilizar aos produtores pelo menos duas moléculas sistêmicas ou de translocação translaminar mais eficientes no controle das doenças foliares; d) conhecer a eficiência de produtos fisiológicos, indutores de resistência às doenças foliares; e) desenvolver um sistema de previsão de doenças para racionalizar as pulverizações de produtos químicos e biológicos; f) esclarecer a etiologia da Podridão Seca do coqueiro, doença que impede a instalação de novos plantios, identificando ainda, insetos transmissores e possíveis hospedeiros intermediários; g) encontrar fontes de resistência natural no campo à Murcha de *Phytophthora*, além de conhecer os insetos transmissores da doença; h) aumentar a vida útil do fruto do coqueiro, que pode variar com as condições de armazenagem devido ao ataque de patógenos de pós colheita que serão identificados; i) Desenvolver métodos químicos e físicos que podem ser eficientes na eliminação dos patógenos de pós colheita; j) desenvolver métodos apropriados de inoculação e seleção de plantas resistentes à helminthosporiose; k) aumentar o nº de folhas úteis no coqueiro, controlando as lixas através do uso de hiperparasitas; l) e por fim, a obtenção de plântulas do coqueiro geneticamente modificadas expressando um ou mais genes com potencial para conferir resistência às doenças conhecidas como lixas e a queima das folhas.

O aprimoramento do conhecimento científico sobre as doenças do coqueiro e o desenvolvimento das tecnologias mais apropriadas de controle se difundidas e assimiladas pelos usuários de forma integrada certamente teriam na sociedade fortes impactos sócio-econômicos, técnico-científicos e ambientais.

Impacto sócio-econômico:

O uso de agentes de controle biológico, e de indutores de resistência bem como um modelo de previsão de doenças para aplicação de fungicidas apenas no momento apropriado, além da possibilidade de obtenção de uma planta transgênica contendo um gene capaz de conferir resistência às principais doenças, contribuiria à médio prazo, para redução do custo de produção do coco no Brasil. As plantas seriam utilizadas como fontes de resistência no programa de melhoramento do coqueiro bem como tecnologias geradas poderiam ser disponibilizadas diretamente à indústria e sociedade com uma divulgação massiva para sua assimilação. Ressalte-se o exemplo que um coqueiro geneticamente modificado, teria então, um enorme impacto econômico na redução do custo de produção, reduzindo o controle químico e biológico de doenças. Além disto o pequeno produtor e o menos tecnificado poderiam ter acesso à mesma tecnologia de baixo custo na aquisição de mudas melhoradas. O sucesso deste projeto poderá portanto promover a médio prazo o ganho em custo e na produção do coqueiro anão. Por outro lado, a geração de genótipos Gigante com resistência à estas doenças e o sucesso das tecnologias de manejo geradas por este projeto certamente poderiam reverter a longo prazo esta dependência de importação pois com a existência de tecnologia, o plantio seria estimulado. Portanto, o sucesso deste projeto pode também ser a longo prazo e, de forma ambiciosa, um catalisador do processo de reversão da cocoicultura brasileira quanto a sua dependência do mercado externo.

Impacto Técnico Científico

O cultivo das lixas do coqueiro, em meio artificial seria inédito na comunidade científica por serem parasitas obrigatórios. O conhecimento da variabilidade

genética destes patógenos poderia reorientar todo o programa de melhoramento para resistência a doenças. A identificação de agentes causais como no caso da Podridão Seca e de doenças de pós colheita também seriam inéditos e reorientariam o desenvolvimento de novas pesquisas na busca do seu controle. A obtenção de coqueiro transformado com transgenes para resistência às lixas e a queima das folhas será inovador na comunidade científica, pois são inexistentes na literatura mundial, apesar de algum sucesso já ter sido registrado pelos alemães na transformação do coqueiro nas Filipinas para resistência ao Cadang, doença inexistente no Brasil. Se a meta do projeto for alcançada ficará mais uma vez validada a biobalística como método científico para transformar plantas, uma vez que o método a ser utilizado é uma variação com patente brasileira. A otimização de um método para transformação do coqueiro, poderá no futuro, facilitar a incorporação de diversos outros genes de interesse para melhoria da cultura, podendo inclusive inserir o coqueiro na promissora indústria de "molecular farming", ou seja a produção de fármacos utilizando os frutos das plantas como "delivering ou deployment agents", no caso utilizando a água de coco.

Impacto Ambiental

O desenvolvimento de tecnologias como o uso eficiente de hiperparasitas, indutores de resistência ou um modelo de previsão para orientação de pulverizações químicas na época adequada; e ainda de forma mais ambiciosa, obtenção de plantas transformadas contendo genes para resistência a estas doenças teria um impacto ambiental extremamente favorável. Isto dever-se-á à conseqüente redução na aplicação de fungicidas. Hoje o produtor, dependendo de seu nível tecnológico pode efetuar até doze pulverizações por ano. Muitas vezes estas aplicações são de forma empírica, o que faz com que estes produtos sejam lançados diretamente no ambiente incluindo o solo, causando alterações negativas na sua biodiversidade e contaminando, além de lençóis freáticos, os próprios operadores. Assim o coqueiro geneticamente modificado e com resistência à estas doenças, ou os hiperparasitas e indutores de resistência, certamente reduziriam o número de pulverizações com químicos,

ou quem sabe até as eliminariam. Preservar-se-ia com isto o ambiente e melhorar-se-ia a qualidade de vida do produtor.

3. HIPÓTESES OU QUESTÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS

Este projeto foi concebido de forma a testar 15 hipóteses:

- 1) O cultivo em meio sintético dos agentes causais da lixa do coqueiro poderá viabilizar estudos de variabilidade genética e esclarecer sua etiologia.
- 2) O desenvolvimento de metodologias para a reprodução dos sintomas das doenças foliares, poderá facilitar os trabalhos de seleção de germoplasma resistente, screening de fungicidas e outras tecnologias para o controle de doenças.
- 3) No controle químico de doenças do coqueiro, moléculas sistêmicas ou de translocação translaminar podem ser as mais eficientes no controle das doenças foliares, devido a dificuldade de se atingir todas as partes da planta no momento da aplicação.
- 4) Produtos fisiológicos, conhecidos como indutores de resistência, podem aumentar a tolerância do coqueiro às doenças foliares.
- 5) O conhecimento da epidemiologia das doenças foliares pode levar ao desenvolvimento de sistemas de previsão e racionalizar as medidas de controle químico e biológico.
- 6) A etiologia da Podridão Seca do coqueiro pode ser determinada por métodos convencionais e moleculares.
- 7) Há a possibilidade de existirem insetos transmissores e hospedeiros intermediários, do agente causal da podridão seca e necessitam ser investigados.
- 8) Murcha de *Phytomonas* é uma doença do coqueiro de potencial crescente no Brasil onde a cigarrinha pode ser um dos principais transmissores.

- 9) Há a possibilidade de se existirem fontes de resistência natural a *Phytophthora* no campo.
- 10) A vida útil do fruto do coqueiro pode variar com as condições de armazenagem devido ao ataque de patógenos de pós-colheita que necessitam ser identificados.
- 11) Métodos químicos e físicos a serem testados podem ser eficientes na eliminação dos patógenos de pós colheita.
- 12) O desenvolvimento de métodos apropriados de inoculação e seleção de plantas resistentes, pode permitir a discriminação de genótipos e híbridos do coqueiro com resistência à helminthosporose.
- 13) Plântulas do coqueiro podem ser geneticamente modificadas com transgenes capazes de conferir resistência às principais doenças foliares.
- 14) Hiperparasitas de ocorrência natural ou inoculados, podem inibir o desenvolvimento das lixas e aumentar o nº de folhas úteis no coqueiro.
- 15) O aprimoramento do conhecimento científico dos problemas citados e as alternativas de controle a serem testadas podem ter impactos econômicos e ambientais favoráveis à cocoicultura brasileira.

4. REVISÃO DE LITERATURA

O coqueiro (*Cocos nucifera* L.) é talvez a mais útil das plantas tropicais, oferece uma ampla gama de produtos para a utilização na alimentação humana, indústria, na construção rural artesanatos e adaptado aos solos arenosos, de baixa fertilidade natural, podendo ser a base para uma agricultura sustentável nas pequenas propriedades da região do Nordeste. Sob condições ideais de clima e nutrição o coqueiro apresenta a vantagem singular de produzir um cacho de frutos mensalmente, durante toda a sua existência, que pode chegar a 80 anos. Ressalte-se que a cocoicultura é fundamental nesta região para sustentabilidade da agricultura familiar e para a diversificação da agroindústria.

A cocoicultura nacional tem experimentado um acentuado crescimento e uma interiorização do seu cultivo, tradicionalmente concentrado em regiões

litorâneas. A cultura é extremamente afetada pela existência de um complexo parasitário constituído por fungos que reduzem acentuadamente a superfície foliar. A ocorrência desses patógenos em todas as regiões produtoras, e em intensidade variável, são responsáveis pela redução geral de 50% do potencial produtivo da cocoicultura. O prejuízo torna-se ainda mais agravante no coqueiro gigante, responsável pela produção de copra, pois devido aos problemas de sanidade tornam o Brasil dependente da importação deste produto.

O secamento da folhagem é provocado principalmente pelo fungo *Botryodiplodia theobromae* (Subileau, 1993), agente causal da queima das folhas, e pelos fungos *Phyllachora torrendiella* (Batista) Subileau (*Catacauma torrendiella* Batista) e *Sphaerodothis acrocomiae* (Montagne) von Arx & Müller (*Cocostroma palmicola* (Speg.) von Arx & Müller) agentes causais da lixa pequena e grande, respectivamente.

Existe também a helmintosporiose, que é uma doença com crescente potencial de dano à cultura, cujos estudos não estão bem esclarecidos e tem provocado perdas durante a produção de mudas, comprometendo novos plantios em regiões produtoras. A mancha de helmintosporio é causada pelo fungo *Bipolaris incurvata* (G.E. Bernard) Alcorn (Mendes et al., 1998; Agrofitec, 2002; Doble, 2002).

Outra doença que atualmente constitui-se num dos maiores desafios para a pesquisa de coco no Brasil, é a podridão-seca em coqueiro jovem, principalmente nos projetos onde se cultiva o coqueiro-anão irrigado. A doença é de etiologia desconhecida, os possíveis vetores ainda não foram determinados, existindo portanto uma grande demanda para que se descubra sua origem e desta forma estabelecer uma metodologia adequada de controle.

A murcha de Phytomonas, causada por um protozoário de floema, é uma doença fatal a palmeiras, principalmente ao coqueiro (*Cocos nucifera* L.) e ao dendezeiro (*Elais oleifera* L.). O período infeccioso é de 4 a 8 meses e a murcha ocorre principalmente em plantas em início de produção. Em geral, os primeiros casos são detectados na bordadura do plantio, disseminando-se rapidamente e ocasionando a morte de muitas plantas.

5. A QUEIMA DAS FOLHAS E AS LIXAS DO COQUEIRO

Etiologia

A queima das folhas foi constatada pela primeira vez em Sergipe, no município de Santa Luzia do Itanhy, apresentando uma sintomatologia de seca em forma de V no ápice das folhas mais velhas prolongando pela ráquis, até atingir o secamento total da folha. Este problema iniciou em 1975, e atualmente encontra-se disseminando por todo Estado, com exceção da sua faixa litorânea. Franco (1976), analisou este problema como sendo de causa fitopatológica, chamando-o de “fogo do coqueiro”, devido a sintomatologia encontrada e o agente causal uma bactéria, *Erwinia nucifera*. Posteriormente detectou um fungo *Coccostroma palmicola* (Speg.) associada a esta bactéria. Diante da gravidade do problema a EMBRAPA convocou uma comissão técnica multidisciplinar, liderada por Robbs et al.,(1975), que concluiu ser o fungo *Pestalotia palmarum* em associação com os agentes das lixas das folhas, *Phyllachora mucosa* e *Sphaerodothis* sp. o agente causal da doença. Em 1979, W. Snyder, levantou a hipótese de ser uma enfermidade complexa ligada a lixa como parasita primário, e sendo a porta de entrada para instalação do *Botryodiplodia*. Estudos realizados por Souza Filho, (1979), evidenciaram o fungo *Botryodiplodia theobromae* Pat. como provável agente etiológico da queima das folhas, associando-se também aos agentes das lixas das folhas.

Franco (1980), descreveu os parasitas foliares do coqueiro, *Catacauma torrendiella* e *Coccostroma palmicola* reafirmando seu ponto de vista sobre a ação sinérgica entre a bactéria e o fungo responsável pela queima das folhas e discordou de ser o *Botryodiplodia theobromae* agente causal da enfermidade. Com o objetivo de elucidar as controvérsias entre as opiniões de vários pesquisadores, sobre o agente causal da queima das folhas, Ram (1989), concluiu que os fungos *Pestalotia palmarum* e *Botryodiplodia theobromae* estão sempre associados à queima das folhas do coqueiro, mas somente o *B. theobromae* é capaz de produzir os sintomas quando inoculado com ferimento.

Em 1989, Lira et. al., efetuou um levantamento da micoflora das folhas do coqueiro nos estados de Pernambuco, Bahia e Ceará, em discos de folhas com

e sem desinfecção e isolou os seguintes patógenos: *Pestalotia palmarum*, *Cladosporium* sp., *Aspergillus flavus*, *Penicillium* spp., *Alternaria* spp., *Cephalosporium* sp., *Phomopsis* sp. e *Botryodiplodia theobromae*. No ano de 1991, Bezerra estudou detalhadamente a morfologia dos agentes causadores das lixas e concluiu que ambas se enquadram perfeitamente dentro das características do gênero *Sphaerodothis* Shear, devendo ser denominadas *S. acrocomiae* e *S. torrendiella*. Existe portanto, dúvidas quanto a etiologia destas duas doenças. Os avanços da biologia molecular tem contudo permitido rever a taxonomia de muitos patógenos. Isto deverá ocorrer no presente Projeto onde se utilizarão marcadores moleculares e fisiológicos para conhecer melhor a etiologia e a possível variabilidade genética destes patógenos.

Xavier e Mariano (1992), realizaram levantamento de bactérias epifíticas do filoplano do coqueiro e concluíram que existe uma alta população de bactérias que podem ser testadas para o controle biológico das lixas. Subileau (1993), estudou a morfologia, sistemática e biologia dos parasitas envolvidos no secamento foliar do coqueiro. O conhecimento biológico dos fungos *Phyllachora torrendiella* e *Botryosphaeria cocogena* não foram concluídos em virtude da impossibilidade do cultivo *in vitro*. Contudo o sucesso recente do cultivo *in vitro* de parasitas obrigatórios tem permitido a elucidadação de complexos de doenças como por exemplo, as ferrugens. Neste Projeto, o cultivo *in vitro* destes patógenos será objeto de estudo. A inoculação *in vivo* demonstrou que *P. torrendiella* teve um período de incubação de 4 meses. Ferimentos feitos por *Brassolis* e *Natada* não facilitam a penetração do fungo da queima das folhas. Testes realizados em casa de vegetação sugerem que é necessário uma porta de entrada para estabelecer a infecção do fungo da queima das folhas.

Epidemiologia

Renard (1982), levantou a hipótese do fungo *Botryodiplodia theobromae* esta associado ao sintoma de queima das folhas. Em 1985 observou que as doenças começavam a atingir árvores jovens ou plantas em viveiros. Segundo relatório de 1985, Renard afirma que há pouca esperança de se conseguir um método de controle eficiente sobre as doenças foliares. Sugere o cruzamento

genético para obter materiais tolerantes. E que a lixa pequena não foi encontrada em nenhum país do mundo. Em 1988, ele classificou o controle químico para a queima das folhas como muito difícil e sugere as linhas de pesquisa como controle biológico, agrônômico e genético. Em visita em 1990, Renard concluiu que o secamento provocado pela queima das folhas, terá redução acentuada no rendimento de frutos, sendo difícil de avaliar essas conseqüências.

Ram (1989), estudou a epidemiologia da queima das folhas nas regiões norte e sul de Sergipe e concluiu que a maior percentagem de folhas doentes ocorreram nos meses de novembro a fevereiro, coincidindo com as temperaturas mais elevadas e a umidade relativa do ar e a precipitação baixas. Warwick e Leal (1999), observaram que inoculações realizadas com *Botryosphaeria cocogena* resultaram em lesões necróticas típicas de queima das folhas quando houve ferimento do tecido vegetal ou nas inoculações feitas sobre os estromas de lixa grande. Contudo, não existem estudos aprofundados da epidemiologia dos três patógenos agentes causais das doenças foliares. A utilização das armadilhas preconizadas neste projeto, gerarão as primeiras informações biológicas sobre a disseminação destas doenças. Estas poderão orientar o programa de pulverização e outras medidas de controle.

6. CONTROLE QUÍMICO E BIOLÓGICO

Souza Filho et al. (1978), investigaram o efeito de vários fungicidas: benomyl, oxicloreto de cobre, propineb, maneb e thiabendazol sobre a queima das folhas, em plantas no viveiro e em campo e os resultados não foram eficazes. Oliveira et al., (1984), realizaram trabalho visando o controle da lixa pequena e testaram os fungicidas: triadimefon, benomyl, chlorothalonil, tridemorf, óxido cuproso, tiofanato metílico, carbendazim, maneb, oxicarboxin, thiabendazol e carboxin. Entretanto os resultados não apresentaram diferença entre os tratamentos, exceto quando comparados com a testemunha. Resende et al., (1988), realizaram estudos com o objetivo de selecionar fungicidas no controle da lixa pequena. Os produtos testados foram: benomyl, chlorothalonil, mancozeb, triadimefon, triforine, dodine, carbendazim, thiabendazol e

fenarimol. A avaliação feita após 70 dias da última pulverização revelaram uma redução no número de lesões de formato losangular nas plantas tratadas com dodine. Sudo et al., (1988), isolaram um fungo parasitando estromas das lixas pequena e grande no município de Lucena- PB, que posteriormente foram identificados como *Acremonium alternatum* Link *A. persicinum* (Nicot.) W. Gams. Suspensão desses fungos foram aplicadas nos coqueiros confirmando sua eficiência.

Ram & Leal, 1990, conduziram experimento com as seguintes misturas de fungicidas: a) benomyl + captan + oxicloreto de cobre + zineb + maneb; b) benomyl + captan; c) benomyl + oxicloreto de cobre + zineb + maneb; d) captan + oxicloreto de cobre + zineb + maneb; e) oxicloreto de cobre + zineb + maneb; f) benomyl + carbendazim; aplicados na parte aérea das plantas. Os resultados mostraram que a mistura benomyl + carbendazim foi a mais eficiente no controle da doença.

Mariano & Leal, 1990, isolaram e identificaram alguns fungos hiperparasitas das lixas do coqueiro, tais como: *Acremonium strictum*, *Aspergillus* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *C. spongiosum*, *Penicillium* sp. e *Pestalotia* sp. Em amostras coletadas em Sergipe e no Rio Grande do Norte. Warwick & Leal 1994, coletaram amostras de folhas de coqueiro com estromas de lixas com hiperparasitas e isolaram os fungos *Hansfordia* sp, *Acremonium* sp. *Cladosporium* spp. que possuem potencial hiperparasita. Ram, 1995, testou várias misturas de fungicidas: benomyl + carbendazim; benomyl + PCNB; carbendazim + PCNB; benomyl + PCNB + carbendazim e concluiu que para o controle da queima das folhas o melhor foi a mistura de benomyl + carbendazim e para o controle das lixas a melhor mistura foi de benomyl + PCNB. Apesar destes registros preliminares de eficiência de fungicidas e agentes de controle biológico, estas tecnologias nunca foram assimiladas corretamente pelos produtores. Este Projeto será inovador em promover a execução de ensaios que permitam o registro de fungicidas junto ao Ministério da Agricultura. Estes registros são inexistentes e levam o produtor ao uso de empírico da tecnologia quanto aos agentes de controle biológico. As ações de pesquisa preconizadas permitirão caracterizar o nível de hiperparasitismo dos agentes de controle biológico. Isto deverá permitir a assimilação da tecnologia por parte do produtor.

Resistência

Warwick et al. (1989), avaliou a incidência da queima das folhas em seis ecotipos da variedade anã (Vermelho da Malásia, Vermelho de Camarões, Vermelho de Gramame, Amarelo da Malásia, Amarelo de Gramame e Verde de Jiqui) concluindo que o Anão Verde de Jiqui apresentou menor índice de doença. Ram 1990, avaliou em campo o comportamento dos híbridos ; PB 121; PB 111; PB 141; PB 213 e PB 132 quanto a incidência da queima das folhas e observou que todos os híbridos são susceptíveis ao *Botryodiplodia theobromae*. Leal et al. (1996), estudou o comportamento dos híbridos ; PB 121; PB 111; PB 141; PB 213 e PB 132 quanto a ocorrência das lixas pequena e grande e os resultados mostraram que os híbridos PB 141; PB 132 e PB 121 tiveram menor ocorrência da lixa pequena e os híbridos PB 111 e PB 132 menor ocorrência da lixa grande. Leal et al. (1997), avaliaram a incidência das lixas pequena e grande nas variedades de Anão Vermelho da Malásia, Anão Vermelho de Camarões, Anão Anão Vermelho de Gramame, Anão Amarelo da Malásia, Anão Amarelo de Gramame e Anão Verde de Jiqui. Observou-se que os AAG, AAM e AVC apresentaram menor número de estromas da lixa pequena. Quanto a lixa grande não houve diferença entre os materiais. Em tese estes trabalhos são indicativos de que inexistem fontes de resistência confiáveis no germoplasma do coqueiro. Por isto este Projeto também inova por pretender inserir genes exógenos no coqueiro com potencial para induzir resistência múltipla.

A helmintosporiose do coqueiro

A mancha foliar ou mancha púrpura do coqueiro tem como sinóníma *Helminthosporium incurvatum* G.E. Bernard (Viégas, 1961; Ploetz et al., 2002), e *Dreslerea incurvata* (C. Bernhard) M.B. Ellis (Ellis et al., 1985; Mendes, 1998; Uchida, 2002). Esta doença ataca principalmente as plantas jovens em viveiros, provocando enfraquecimento das mudas (Ram et al., 1996).

Segundo Radha e Lal (Ohler, 1968), a doença é conhecida como Helmintosporiose, causando a mancha foliar do coqueiro, tendo outras

palmáceas hospedeiras como *Caryota mitis*, *Chamaedorea seifrizii*, *Chrysalidocarpus lutescens*, *Livistonia chinensis*, *Phoenix roebelenii*, *Howea forsteriana*, *Ptychosperma elegans* e *Washingtonia robusta*.

A mancha foliar do coqueiro é conhecida em Brunei, Estados Unidos, Fiji, Indonésia, Malásia, Novas Hébridas, Papua-Nova Guiné, Tailândia (Agrofit, 2002), Jamaica, Ásia, Austrália, Filipinas (Uchida, 2002) e, Costa do Marfim (Quillec; Renard, 1975). No Brasil existem registros publicados da incidência da doença nos estados da Bahia, São Paulo (Agrofit, 2002) e Sergipe, em plantas adultas dos coqueiros anão verde e híbrido (Anão Verde x Gigante do Brasil) (Ram et al., 1996), mas acredita-se que esteja presente em outras regiões onde o coqueiro é cultivado comercialmente (Agrofit, 2002). Com a evolução da doença, e sob condições favoráveis para o aumento da severidade, as lesões coalescem, ocupando grandes áreas na lâmina foliar e provocam necrose dos tecidos nas margens dos folíolos (Ram et al., 1996; Agrofit, 2002; Uchida, 2002).

Viveiros muito adensados ou plantações com controle deficiente de ervas daninhas, que permitem um aumento da umidade relativa ao redor dos coqueiros jovens, e temperatura entre de 18°C a 27°C, favorecem o desenvolvimento da doença, entretanto, o seu desenvolvimento é retardado (Warwick et al., 1998).

Não há estudos realizados visando a obtenção de cultivares resistentes a essa doença (Agrofit, 2002). Contudo, Quillec e Renard (1975) observaram que existem diferenças quanto à susceptibilidade entre as variedades de coqueiros introduzidos na Costa do Marfim.

Inexiste no Brasil, referências bibliográficas sobre o controle da doença, contudo, Ram et al. (1996) verificaram que os fungicidas benomyl + carbendazim, benomyl e chlorathalonil proporcionaram o melhor controle. Warwick et al. (1998) em uma revisão sobre o coqueiro cita que o controle tem sido baseado em medidas preventivas através da fiscalização efetiva do plantio, e adubação balanceada, sem excesso de nitrogênio, e eliminação de ervas daninhas para aumentar a aeração nas plantas. Quando as condições climáticas são favoráveis à doença, com o aparecimento dos primeiros casos, serão necessárias pulverizações químicas. A utilização de Maneb® 2% do i.a.,

e produtos à base de tebuconazole são reportados como resultados promissores. Quillec e Renard (1975) verificaram que o tratamento da doença com fungicidas derivados do carbateno foram eficazes em sementeiras. Entretanto, os fungicidas sistêmicos testados não foram eficientes no controle do patógeno. Considerando o crescente potencial de dano nesta doença, este Projeto inova em criar tecnologia para reprodução dos sintomas que permitam avaliar o germoplasma do coqueiro quanto a resistência. Conhecimentos precoces sobre o controle químico também serão disponibilizados ao produtor para proteger seus viveiros, após o devido registro dos fungicidas no Ministério da Agricultura.

A podridão-seca

O primeiro registro da podridão seca em plantas jovens e mudas de coqueiro foi feito na Costa-do-Marfim em 1972, onde causou perdas de 29% no coqueiro Anão Amarelo e 50 à 85% no coqueiro híbrido (Renard, et al. 1975). Nesse mesmo trabalho, as tentativas de isolamento de microorganismos revelou somente a presença de fungos saprófitas.

O conhecimento científico sobre essa doença é bastante reduzido, o agente causal poderia ser um fitoplasma (International workshop on lethal yellowing like-like diseases of coconuts, 1995), mas ainda não foi comprovado cientificamente. Outros pesquisadores acreditam que possa se tratar de um reovirus (Dollet, 1979).

No Brasil, poucos trabalhos foram publicados sobre a ocorrência dessa doença e todas as recomendações de controle atuais da moléstia baseiam-se nos estudos realizados na Costa-do-Marfim, na década de setenta (Quillec et al, 1978). Warwick (1998) descreve a ocorrência em coqueiro no Estado de Sergipe. Também observou que a ocorrência é mais freqüente nos meses chuvosos (Warwick, 1999).

Segundo Julia (1979), não verificaram a ocorrência da doença, quando produziram plantas sob coberturas ou sombreadas, também a proteção fornecida pelo tratamento das mudas com aldicarbe evidenciaram que havia insetos responsáveis pela transmissão do patógeno. Os insetos vetores relatados na África são homópteros, espécies da família Delphacidae. As pesquisas realizadas por Julia & Mariau (1982) demonstraram que 40 a 100% das plantas desenvolviam a sintomatologia da doença, quando eram colocadas em caixas teladas na presença de *Sogatella cubana* e *Sogatella kolophon*. Relatam ainda que o período de incubação é bastante variável, ficando em torno de 50 dias, mas podendo alcançar até 100 dias. Em dendê, a cobertura vegetal com Puerária e a utilização de herbicida é recomendado (Renard & Quillec, 1984). Mais recentemente surgiu a primeira associação de um possível fitoplasma causando a podridão seca do coqueiro (Montano et. al., 2002; Brioso et. al., 2002).

As técnicas de biologia molecular propostas neste projeto bem como as demais atividades permitirão elucidar a etiologia deste patógeno. Após sua identificação e caracterização de transmissores e hospedeiros alternativos, as medidas de controle poderão ser preconizadas.

A murcha de *Phytomonas*, etiologia e ocorrência

No Brasil, essa doença foi primeiramente descrita na Bahia em 1982, quando as amostras de plantas com sintomas, apresentavam protozoários flagelados (Bezerra & Figueiredo, 1982). Além da Bahia, foram detectados focos da doença em Alagoas, Sergipe, Pernambuco e Paraíba (Warwick, 1989). Na Região Amazônica é a principal causa da morte de coqueiros em plantios industriais (Renard, 1989).

No Suriname é conhecida como "Hartrot" e vem impossibilitando o desenvolvimento da cultura do coqueiro apesar das condições climáticas bastante favoráveis ao cultivo (Maas, 1971). A doença também ocorre em Cuba, Venezuela, Peru, Equador e na Colômbia, onde recebe a denominação de Marchitez Sorpressiva (Dollet *et al.* 1979; Martinez-Lopez *et al.* 1980). Na Ilha de Trinidad é conhecida como "Cedros wilt", denominação que se deve a destruição de 15.000 coqueiros, em apenas 3 anos na região de Cedros (Waters, 1978). Sua ocorrência também já foi registrada na Costa Rica e na Guiana Francesa (Louise *et al.*, 1986).

A doença é causada pelo protozoário *Phytomonas* sp., da família Trypanosomatidae. Esses patógenos são fusóides e filiformes, medindo 25,0 a 30,7 μm x 2,3 μm a 2,3 μm , afilados posteriormente, terminando em um flagelo de aproximadamente 7 μm de comprimento, alguns apresentam-se retorcidos e tem mobilidade constante (Dollet *et al.*, 1979). Estudos realizados por Guerrini *et al.* (1992) onde foi comparado o padrão enzimático de 31 amostras de *Phytomonas* sp, sugerem pelos níveis de polimorfismo encontrados que o patógeno de coqueiro e dendezeiro seja diferente do patógeno das outras plantas testadas, entre elas espécies da família Euphorbiaceae.

Uma espécie aceita como possível reservatório para o patógeno é a palmeira inajá, *Attalea maripa* (Aubl.) Mart., mas existem outras palmeiras nativas que precisam ser testadas (Van Slobbe, 1978).

A disseminação da doença é feita por percevejos da família Pentatomidae. Na Bahia foi detectado o *Lincus lobuliger* Bred, enquanto no Pará foi registrado como vetor o *Ochlerus* sp.

O combate à murcha de *Phytophthora* necessita de dois tipos de intervenções sistemáticas, contribuindo ambas para a redução do inseto vetor, única maneira de disseminação do patógeno, quais sejam, combate das populações dos percevejos com inseticida e limpeza da vegetação rasteira que abriga locais para a multiplicação. Somente um manejo adequado permitirá uma exploração racional da cultura nas regiões onde a doença é epidêmica (Warwick et al., 1999).

Não foram efetuados estudos de variedades resistentes e os métodos de controle baseiam-se principalmente na erradicação de plantas infectadas e na pulverização com inseticidas (Renard, 1989). Por este motivo este projeto procurará buscar fontes de resistência natural a este patógeno.

7. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Aprimorar o conhecimento científico sobre a etiologia e epidemiologia das principais doenças do coqueiro, e desenvolver tecnologias aplicadas de controle químico, biológico e genético para inserção no manejo integrado da cultura.

Objetivos Específicos

a) Criar ou adaptar meios de cultivo sintético ou artificial para manipulação de *Phyllachora torrendiella* e *Sphaerodothis acrocomiae*, agentes causais das lixas do coqueiro.

- b) Desenvolver metodologias para inoculação, reprodução dos sintomas das lixas, queima das folhas, Helminthosporiose e *Phytophthora*, objetivando testar em condições controladas o germoplasma para resistência a doenças, fazer screening de fungicidas e de agentes de controle biológico, antes de levar ao campo.
- c) Caracterizar a eficiência de pelo menos três hiperparasitas no controle biológico das lixas definindo época ideal de aplicação além de disponibilizar um método adequado para produção de inóculo.
- d) Conhecer a epidemiologia dos agentes causais das doenças foliares com auxílio de armadilhas de capturas de esporos e desenvolver um modelo básico de previsão de doenças correlacionado a fatores climáticos.
- e) Definir corretamente a etiologia da Podridão Seca do coqueiro e identificar os possíveis insetos transmissores e hospedeiros alternativos.
- f) Testar e disponibilizar aos produtores duas novas moléculas químicas menos danosas ao ambiente, que usem um menor volume de água e que sejam mais eficientes no manejo das principais doenças foliares.
- g) Caracterizar os danos da murcha de *Phytomonas* no coqueiro investigando o possível papel da cigarrinha como agente transmissor.
- h) Efetuar o levantamento e caracterização dos microorganismos potencialmente danosos aos frutos do coqueiro em pós colheita, bem como definir alternativas para sua profilaxia.
- i) Buscar fontes de resistência natural às principais doenças do coqueiro. nas principais regiões produtoras do Brasil.
- j) Transformar o coqueiro incorporando transgenes com potencial para conferir resistência múltipla às doenças.
- k) Testar a eficiência de produtos fisiológicos industriais quanto à sua capacidade de induzir resistência sistêmica no coqueiro às principais doenças foliares.

8. METAS

Meta 1

- a) Descrição da meta: Desenvolver um método de cultivo *in vitro* para os parasitas obrigatórios, agentes causais das lixas do coqueiro.
- b) Tempo em que deve ser alcançada: 6 meses
- c) Desempenho atual: Inexistente. Contudo estudos com outros parasitas obrigatórios como os carvões ou ferrugens tem comprovado que isto é possível.
- d) Aferidores da meta:
 - Publicação de resumos em congressos
 - Artigo científico reportando sucesso do cultivo.

Meta 2

- a) Descrição da meta: Desenvolvimento de três métodos para reprodução dos sintomas das lixas grande e pequena e queima das folhas do coqueiro (um método para cada doença).
- b) Tempo em que deve ser alcançada: 24 meses
- c) Desempenho atual: Inexistente para a lixas e incipiente para a queima das folhas.
- d) Aferidores da meta:
 - Publicação de artigos científicos reportando as metodologias.

Meta 3

- a) Descrição da meta: Caracterizar a eficiência de 3 hiperparasitas no controle biológico das lixas do coqueiro.
- b) Tempo em que deve ser alcançada: 24 meses

- c) Desempenho atual: Existem hiperparasitas identificados mas sua eficiência não foi comprovada e a tecnologia não é utilizada amplamente por produtores.
- d) Aferidores da meta: publicação de resumo de congresso:
- Dia de campo demonstrando a tecnologia, se for eficiente.
 - Artigo científico ao final do trabalho.

Meta 4

- a) Descrição da meta: Descobrir as épocas predominantes de liberação dos esporos dos agentes causais das três doenças foliares e desenvolver um sistema de previsão em função de correlações climatológicas.
- b) Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses
- c) Desempenho atual: Inexistente.
- d) Aferidores da meta:
- Dias de campo demonstrando operação das armadilhas.
 - Publicação dos resultados em congresso
 - Artigo na mídia.

Meta 5

- a) Descrição da meta: Identificar o agente causal da podridão seca.
- b) Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses.
- c) Desempenho atual: Existem suposições de ser de origem viral, um reovírus. Contudo não se deve eliminar a possibilidade de patógenos do sistema radicular desconhecidos ou de difícil isolamento.
- d) Aferidores da meta:
- Divulgação de artigo na mídia.

- Artigo científico em revista indexada.

Meta 6

- a) Descrição da meta: Identificar e caracterizar dois insetos transmissores e possíveis hospedeiros intermediários do agente causais da Podridão Seca do Coqueiro e da Murcha de Phytomonas.
- b) Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses.
- c) Desempenho atual: Há suposição de que delphacideos possam ser transmissores da Podridão Seca e que cigarrinhas e percevejos sejam transmissores da Murcha de Phytomonas.
- d) Aferidores da meta:
 - Resumos de congresso
 - Artigos científicos reportando e caracterizando os transmissores.
 - Dia de campo para divulgação a produtores.

Meta 7

- a) Descrição da meta: Disponibilizar duas moléculas químicas eficientes e menos danosas ao ambiente para o controle das doenças foliares.
- b) Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses.
- c) Desempenho atual: Existem moléculas de eficiência relativa que o produtor não conseguiu assimilar o uso.
- d) Aferidores da meta:
 - Relatórios ao Ministério da Agricultura para registro das moléculas.
 - Artigos científicos.
 - Dia de campo demonstrando eficiência da tecnologia.

Meta 8

- a) Descrição da meta: Desenvolvimento de duas técnicas de inoculação para *Helminthosporium* para avaliação do germoplasma do coqueiro quanto a resistência às doenças que estes causam, e testes de seleção de fungicidas
- b) Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses
- c) Desempenho atual: Inexistente.
- d) Aferidores da meta:
 - Tese de Doutorado defendida e discorrendo sobre os métodos desenvolvidos, germoplasma avaliado e fungicidas selecionados
 - Resumos de congressos
 - Artigos científicos divulgando os resultados

Meta 9

- a) Descrição da meta: Transformar o coqueiro incorporando genes com potencial para conferir resistência ao coqueiro.
- b) Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses.
- c) Desempenho atual: Inexistente, contudo, os genes já foram identificados na Universidade de Nebraska e foram disponibilizados para realização das transformações pela Embrapa Tabuleiros Costeiros.
- d) Aferidores da meta:
 - Artigo e resumos de congresso divulgando o sucesso da transformação.

Meta 10

- a) Descrição da meta: Caracterizar a eficiência de um indutor de resistência no controle de pelo menos duas doenças.

- b) Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses.
- c) Desempenho atual: Inexistente
- d) Aferidores da meta:
 - Dia de campo divulgando o produto.
 - Relatório ao ministério da agricultura para registro.
 - Resumos publicados em congresso.

Meta 11

- a) Descrição da meta: Selecionar a nível de campo plantas com resistência natural a *Phytomonas*.
- b) Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses
- c) Desempenho atual: Inexistente.
- d) Aferidores da meta:
 - Resumos publicados em congressos.

Meta 12

- a) Descrição da meta: Identificação de dois patógenos com potencial para causar danos ao coqueiro em pós colheita, e desenvolvimento de um método para sua profilaxia.
- b) Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses.
- c) Desempenho atual: Foi encontrado um fungo reduzindo a vida útil do fruto do coqueiro em pós colheita contudo não existe método para sua profilaxia.
- d) Aferidores da meta:
 - Publicação de trabalho e congresso reportando resultados.
 - Artigos na mídia.

9. METODOLOGIA

A metodologia deste projeto está agrupada dentro dos temas contemplados nos planos de ação de forma manter rigorosa coerência e consistência com a busca de respostas às questões técnico-científicas formuladas.

10. DESENVOLVIMENTO DE TÉCNICAS APROPRIADAS À MANIPULAÇÃO E AO ESTUDO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DOS AGENTES CAUSAIS DAS PRINCIPAIS DOENÇAS FOLIARES DO COQUEIRO

Atividade de Pesquisa 01 - Cultivo de *Phyllachora torrendiella* e *Sphaerodothis acrocomiae* em meio artificial

Os fungos causadores das lixas, *Phyllachora torrendiella* agente da lixa-pequena e *Sphaerodothis acrocomiae* agente da lixa-grande são ascomicetos, parasitas obrigatórios, que até o presente momento ainda não foram cultivados em meio artificial. Serão testados dois tipos de meio de cultura: meio líquido completo e meio mínimo sólido em pH variando de 3,0 a pH 7,0. Estes meios já geraram resultados positivos em trabalhos com outros patógenos parasitas obrigatórios como carvões e ferrugens. Em seguida, as culturas desenvolvidas serão caracterizadas em microscopia ótica e fotodocumentadas. Para tanto, folhas infectadas do coqueiro com sintomas de lixa grande e pequena serão coletadas de todos genótipos do coqueiro depositados no banco de germoplasma do coqueiro. Culturas monospóricas serão efetuadas em ágar, de acordo com Booth (1977). Em seguida, plugs de ágar contendo os ascósporos serão transferidos para erlenmeyers de 150 ml com o meio de cultura completo mantido em pH 3,0 e pH 7,0 contendo os seguintes componentes: glucose (0,5%) tiamina (0,1 µg/ml), riboflavina (0,05µg/ml), piridoxina (0,05µg/ml), pantotenato de cálcio (0,2 µg/ml), inositol (0,4 µg/ml), ácido nicotínico (0,2 µg/ml), elementos essenciais (Ryan, 1943) e solução de sais (Holliday, 1974), com um pH final de 3,0 e 7,0. Logo após, deixar-se-ão estes isolados agitar à

temperatura ambiente por 7 dias à 150 rpm. Para o cultivo em meio sólido, micélio desenvolvido em meio líquido será transferido para o meio de cultura mínimo em placas de petri contendo os seguintes componentes: 10 g de glucose, 250 ml de solução de sais, 1 L de água destilada, 15 g de ágar. As culturas serão incubadas a 27°C. O micélio desenvolvido em meio artificial será colocado em gotas de lactofenol sobre lâminas, recoberto por lamínulas e, estudado em aumento de 200 a 1000 x, no qual serão efetuadas medidas de comprimento das hifas utilizando um micrômetro adaptado à ocular. Estes registros serão fotodocumentados em uma máquina Polaroid 667.

Atividade de Pesquisa 02 - Desenvolvimento de métodos de inoculação para reprodução de sintomas das doenças foliares em condições controladas

Serão testado métodos de inoculação em diferentes condições (laboratório, casa de vegetação e campo) para a reprodução de sintomas visando consequentemente a caracterização morfológica e genética dos agentes causais das lixas do coqueiro e *Bothyodiplodia theobromae*, agente causal da queima das folhas. Serão utilizados vários métodos de inoculação de inóculo como: plugs de meio de cultura contendo micélio, suspensão de esporos e micélio seco produzido em meio líquido. Serão estudados a concentração de inóculo ideal, idade da plântula, planta ou folíolo, e condições de incubação ideais, tais como temperatura para reprodução dos sintomas.

Desenvolvimento de métodos de inoculação para a queima das folhas

a) Isolamento do patógeno

Serão realizadas coletas de folíolos de coqueiro (*C. nucifera* L.) com sintomas iniciais de queima das folhas. A partir do material coletado será realizado o isolamento do patógeno através de técnicas de transferência de porções de tecido retiradas da zona de transição entre o tecido sadio e o doente, desinfetando-as previamente com solução de hipoclorito de sódio a 3% e transferindo-os para placas de Petri contendo meio de batata-dextrose-ágar (BDA) (TUIE, 1969), ou meio de aveia, e incubados à temperatura de $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, os esporos serão transferidos para tubos de ensaio contendo meio de BDA onde serão mantidos durante a execução dos trabalhos.

b) Método de inoculação em folíolos destacados

O experimento será realizado em laboratório, utilizando folíolos destacados de mudas sadias de coqueiro anão verde que serão desinfetados com uma solução de hipoclorito de sódio 3%, em número de 10 para cada tratamento, que serão inoculados pela técnica de discos de BDA, de 4 mm de diâmetro, contendo micélio do patógeno, com 10 dias de idade e cobertos com fita adesiva. Após a inoculação, os folíolos serão mantidos em tubos de ensaio contendo água destilada, sob condições de câmara úmida por 72 h.

c) Método de inoculação em plântulas

Com o objetivo de determinar qual a idade da plântula e qual concentração ideal de inóculo para reproduzir os sintomas, serão conduzidos os testes de inoculação com micélio e por pulverização de uma suspensão de esporos.

Plântulas sadias de coqueiro anão verde desenvolvidas por 2, 3, 4, 5, 6 e 12 meses de idade em casa-de-vegetação serão inoculadas, com discos de BDA, de 4 mm de diâmetro, contendo micélio de *B. theobromae*, na face inferior das folhas (Ellis et al., 1985). Após a inoculação, metade das plântulas serão mantidas em câmara úmida por 72 h, enquanto que a outra metade permanecerá no ambiente da casa-de-vegetação à temperatura variando de um

mínimo de 19°C e um máximo de 30°C. As testemunhas receberão apenas discos de BDA.

Para produção de esporos os isolados de *B. theobromae* serão cultivados em erlenmeyer de 250 ml contendo 150 mL de meio líquido de batata (250 g) + dextrose (16 g). Em seguida, deixados por 15 dias em agitador automático à temperatura ambiente ($25 \pm 3^\circ\text{C}$) (SANTOS, 1995). A suspensão de esporos será filtrada em gaze dupla e calibrada para 10^4 , 10^6 e 10^8 esporos/mL. Para as inoculações, utilizar-se-á de pulverizador Devilbis. Os sintomas serão observados diariamente até 0 dia após a inoculação, sendo efetuadas leituras avaliando o desenvolvimento das lesões. Procurar-se-á desenvolver uma escala de avaliação de sintomas.

Desenvolvimento de métodos de inoculação para as lixas do coqueiro

a) Coleta dos agentes causais

Serão realizadas coletas de folíolos jovens de coqueiro (*C. nucifera* L.) com sintomas iniciais de lixa pequena e lixa grande, em áreas produtoras nos estados de Sergipe e Alagoas. Ascósporos retirados dos estromas serão utilizados para inoculação de plântulas em condições de campo e casa de vegetação.

b) Método de inoculação em mudas

Com o objetivo de determinar qual a idade da muda e qual concentração ideal para reproduzir os sintomas, serão submetidos os seguintes testes:

Mudas sadias de coqueiro desenvolvidas por 2, 3, 4, 5, 6 e 12 meses de idade em casa-de-vegetação serão inoculadas com auxílio de um pulverizador Devilbiss. Após a inoculação, metade das mudas serão mantidas em câmara úmida por 72 h, enquanto que a outra metade permanecerá no ambiente da casa-de-vegetação à temperatura variando de um mínimo de 19°C e um máximo de 30°C.

Para todos os experimentos, serão testadas diferentes concentrações de inoculo constituído dos ascósporos coletados diretamente de estromas. A suspensão de esporos será filtrada em gaze dupla e calibrada para 10^2 , 10^3 e 10^4 esporos/mL.

Os sintomas serão observados semanalmente após a inoculação, até 90 dias, sendo efetuadas leituras para determinar a evolução dos sintomas.

Todos os ensaios previstos na atividade de pesquisa 2 serão em blocos inteiramente casualizados e as análises estatísticas serão processadas em SAS, utilizando o teste t-Waller-Duncan à 5%.

Atividade de Pesquisa 03 - Caracterização da variabilidade genética dos agentes causais da queima das folhas, das lixas do coqueiro, e de espécies de *Phyllachora* e *Sphaerodothis* parasitas de palmeiras nativas.

Será estudada a variabilidade genética em *Phyllachora torrendiella*, *Sphaerodothis acrocomiae*, agentes causais das lixas pequena e grande do coqueiro, respectivamente, bem como de *Botryodiplodia theobromae*, agente causal da queima das folhas. Buscar-se-á conhecer a relação e/ou diferença entre os patógenos causadores das lixas, assim como identificar similaridade entre as espécies desses gêneros em palmeiras nativas visando entender a evolução dessas espécies, juntamente com seus hospedeiros, e a variabilidade de isolados de *Botryodiplodia theobromae*. Os isolados dos fungos serão coletados de todos genótipos do coqueiro depositados no banco de germoplasma do coqueiro situado em uma mesma localidade e de um mesmo genótipo (anão verde) de várias localidades do Brasil. Serão utilizados critérios fisiológicos como crescimento micelial sob diferentes temperaturas, virulência na planta e métodos moleculares por análise de RAPD e ARDRA.

As taxas de crescimento micelial dos isolados de *Phyllachora torrendiella*, *Sphaerodothis acrocomiae* e *Botryodiplodia theobromae* serão determinadas através do crescimento dos fungos em meio de cultura específico (Holliday, 1974; Rohlf, 1993) incubados à temperatura de 5°, 10°, 15°, 20° e 35° C. A

avaliação será efetuada medindo-se o diâmetro médio das culturas para *Botryodiplodia* e o peso seco do micélio de *Phyllachora* e *Sphaerodothis*.

A virulência dos isolados será testada em condições de casa de vegetação, conforme os métodos de inoculação desenvolvidos nas atividades 1 e 2.

Já para a caracterização da variabilidade genética por análise molecular utilizar-se-á as técnicas de RAPD e ARDRA (Amplified ribosomal DNA Restriction Analysis). A extração do DNA será efetuada pelo método descrito por Raeder & Broda (1985). Para a técnica de RAPD a amplificação de regiões aleatórias do genoma dos isolados será efetuada por um único "primer" do kit da Operon Technologies. Entretanto, para a técnica de ARDRA (Amplified DNA Restriction Analysis), a região ITS 1, 2 e 5.8 S do rDNA será amplificada utilizando os primers ITS5 ('5GGAAGTAAAAGTCGTAACAA 3') e ITS4 ('5 TCCTCCGCTTATTGATATGC 3') (White *et al.*, 1990) e logo após, digerida utilizando-se enzimas de restrição *Hae* III, *Msp* I e *Alu*. Os produtos de digestão assim como os produtos amplificados na PCR gerados por RAPD serão separados em gel de agarose e fotografadas com o sistema de fotodocumentação Eagle Eye II (Estratagene). A partir dos padrões de bandas obtidos serão calculadas as distâncias genéticas relativas (%) pelo método SM (Rohlf, 1993) e o dendrograma pelo método UPGMA (Sneath, & Sokal, 1973).

Todos estudos moleculares serão efetuados concomitantemente na Embrapa Tabuleiros Costeiros (somente com o coqueiro) e na Ceplac, que incluirá outras palmáceas para esclarecimento da origem e entendimento da sua etiologia. Será efetuada a combinação destes dados moleculares com os morfológicos. Espera-se com estes esclarecer a etiologia das lixas grande e pequena, assim como estabelecer uma possível conexão evolutiva entre uma Phyllachoraceae nativa e a lixa pequena do coqueiro. E conhecer a diversidade genética da queima das folhas, doença que ocorre em diferentes intensidades nas lavouras do Brasil.

Atividade de Pesquisa 04 - Caracterização etiológica e molecular de espécies de *Phyllachora* e *Sphaerodothis* parasitas de palmeiras nativas

Será estudada a variabilidade genética de espécies de *Phyllachora* e *Sphaerodothis* parasitas de palmeiras nativas. Buscar-se-á conhecer a relação e/ou diferença entre os patógenos causadores das lixas no coqueiro com as espécies desses gêneros em palmeiras nativas visando entender a evolução dessas espécies, juntamente com seus hospedeiros. Os isolados dos fungos serão coletados de todos genótipos do coqueiro depositados no banco de germoplasma do coqueiro situado em uma mesma localidade e de um mesmo genótipo (anão verde) de várias localidades do Brasil. Serão utilizados critérios fisiológicos como crescimento micelial sob diferentes temperaturas, utilizando os métodos de cultivo *in vitro* desenvolvidos na atividade de pesquisa 1 e métodos moleculares por análise de RAPD e ARDRA (Amplified ribosomal DNA Restriction Analysis). A extração do DNA será efetuada pelo método descrito por Raeder & Broda (1985). Para a técnica de RAPD a amplificação de regiões aleatórias do genoma dos isolados será efetuada por um único "primer" do kit da Operon Technologies. Entretanto, para a técnica de ARDRA (Amplified DNA Restriction Analysis), a região ITS 1, 2 e 5.8 S do rDNA será amplificada utilizando os primers ITS5 (5'GGAAGTAAAAGTCGTAACAA 3') e ITS4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3') (White *et al.*, 1990) e logo após, digerida utilizando-se enzimas de restrição *Hae* III, *Msp* I e *Alu*. Os produtos de digestão assim como os produtos amplificados na PCR gerados por RAPD serão separados em gel de agarose e fotografadas com o sistema de fotodocumentação Eagle Eye II (Estratagene). A partir dos padrões de bandas obtidos serão calculadas as distâncias genéticas relativas (%) pelo método SM (Rohlf, 1993) e o dendrograma pelo método UPGMA (Sneath, & Sokal, 1973).

Todos estudos moleculares serão efetuados na Ceplac/Cepec, que incluirá todas palmáceas possíveis para esclarecimento da origem e entendimento da sua etiologia. Será efetuada a combinação destes dados moleculares com os morfológicos. Espera-se com estes esclarecer a etiologia das lixas grande e pequena, assim como estabelecer uma possível conexão evolutiva entre uma Phyllachoraceae nativa e a lixa pequena do coqueiro.

11. ALTERNATIVAS DE CONTROLE PARA MANEJO INTEGRADO DAS DOENÇAS FOLIARES

Atividade de Pesquisa 01 - Epidemiologia e desenvolvimento de um sistema de previsão de doenças

No controle químico ou biológico de uma doença à época adequada de pulverização é fundamental numa cultura perene como o coqueiro. Considerando que dificilmente qualquer fungicida aplicado conseguirá cobrir toda planta, a aplicação no momento que antecede a maior liberação dos esporos dos fungos causadores deve potencializar a eficiência e precisão de controle. Assim neste trabalho serão colocados dois tipos de armadilhas de captura de esporos em coqueirais com ocorrência intensa das líxas grandes e pequena e da queima das folhas. A primeira será uma armadilha volumétrica tipo Burkard que permite a captura e determinação de picos de disseminação em variações de hora em hora através da contagem em um microscópio ótico do número de esporos que ficam aderidos em um adesivo afixado em um tambor rotativo que pode funcionar por uma semana ininterruptamente. Após dois anos de acompanhamento da liberação destes esporos os dados serão correlacionados com os dados climáticos coletados em uma mini estação meteorológica. Após interpretadas as devidas correlações procurar-se-á através de regressões estabelecer modelos simples da previsão de doenças para orientar os produtores sobre a época mais adequada de pulverização. O mesmo trabalho será repetido com armadilhas tipo cata-vento (Reis e al. 1995) que permitem a captura de esporos em função do vento dominante e que permitirão determinar se os picos de disseminação ocorrem no período matutino vespertino ou noturno. Se esta armadilha que possui um baixíssimo custo de construção funcionar apropriadamente serão desenvolvidos posteriormente meios de cultivo contendo indicadores visuais da presença de ascósporos, para que o produtor possa efetuar seu próprio monitoramento, e orientar seu sistema de pulverizações.

Atividade de Pesquisa 02 - Em busca de moléculas químicas apropriadas ao controle das lixas e queima das folhas.

Serão instalados experimento de campo em duas áreas de produtores uma em Alagoas e outra em Sergipe com alta infestação de doenças foliares para avaliação da eficiência de moléculas de fungicidas. Cada unidade de observação constituir-se-á de plantas que receberão a aplicação dos fungicidas triazóis (tebuconazole e difenoconazole) thiabendazóis (tiofanato metílico e carbendazin) e as estrobirulinas (azoxystrobin e F500). Espera-se com este trabalho introduzir pelo menos 2 novas moléculas com eficiência no controle destas doenças. Estas moléculas do grupo das estrobirulinas são utilizáveis em doses 5 a 10 vezes menores que as demais, translocam translaminarmente na folha e necessitam de um menor volume de água para a sua aplicação.

As avaliações serão feitas nas plantas antes do início das pulverizações e trimestralmente medindo-se o número total de folhas, número de folhas com queima, coleta de folíolos para contagem do número de estromas das lixas pequena e grande, e evolução da queima das folhas. As moléculas mais eficientes serão reportadas no Ministério da Agricultura.

Considerando que esta atividade, beneficiará a indústria química além dos produtores, estas entrarão como parceiras. À saber: IHARABRAS, BAYER, CIBICA e SYNGENTA, contribuindo financeiramente com o custeio dos ensaios e fornecimento das moléculas.

Novas moléculas também serão continuamente testadas quanto a sua eficiência em ensaios em condições controlada, utilizando as metodologias de inoculação desenvolvidas no plano de ação 1. As moléculas que eventualmente mostrarem eficiência nestes screenings poderão igualmente ser levadas a testes de campo.

Nos ensaios de campo todas pulverizações serão determinados pelo comportamento das armadilhas utilizadas no sistema de previsão de doenças determinada na Atividade 1 deste plano de ação. Em todos ensaios serão utilizados delineamento de blocos inteiramente casualizados.

Atividade de Pesquisa 03 - Seleção de fungicidas para o controle da Helmintosporiose do coqueiro

O experimento será executado em condições de casa-de-vegetação na Embrapa Tabuleiros Costeiros em Aracaju. O delineamento experimental será o inteiramente casualizado com seis tratamentos e quatro repetições.

Serão utilizadas 60 mudas de coqueiro (*C. nucifera* L.), considerando-se como plantas úteis apenas 48 plantas, da variedade coqueiro anão verde, plantadas em saco plástico de polietileno preto, com 0,2 mm de espessura e dimensões de 40 cm x 40 cm. O substrato usado será até 2/3 com terra de superfície, devidamente peneirada e enriquecida com matéria orgânica (FONTES et al., 1998). Os tratos culturais serão executados conforme as recomendações do sistema de produção para coqueiro (EMBRAPA, 1986). As mudas serão mantidas com temperatura variando de um mínimo de 19°C e um máximo de 30°C.

Os tratamentos serão: 1. Testemunha; 2. *Iprodione-85 g; 3. *Tiofanato metílico-150 g; 4. *Tebuconazole-160 g; 5. *Carbendazim-150 g; 6. *Chlorathalonil-150 g. (* Produto comercial / 100 L de água).

As aplicações dos fungicidas serão realizadas utilizando-se um pulverizador costal manual de 20 litros, com uma ou duas aplicações após a inoculação. Também será realizado ensaio objetivando verificar o efeito preventivo dos fungicidas inoculando as plântulas com o patógeno após aplicação dos fungicidas. As plantas testemunhas receberão somente água. Este estudo fará parte da tese de doutoramento orientado pelo Coordenador do Projeto.

Atividade de Pesquisa 4 - Controle Biológico das Lixas Grande e Pequena com Hiperparasitas

Será caracterizada a eficiência biológica de três hiperparasitas predominantes nas áreas produtoras do Estado de Sergipe e Alagoas caracterizando seu potencial para o controle biológico das doenças foliares do coqueiro. Para tanto será efetuado um diagnóstico com amostragem de todos os lotes no Platô de

Neópolis, em Sergipe e em Alagoas, cultura do coqueiro objetivando determinar a incidência das doenças foliares.

Após o isolamento, esses fungos serão preservados no meio de Castellani. Os fungos serão produzidos em massa em substrato de arroz ou milho quebrado, ou ainda sobre outro meio a ser identificado a partir de cultura monospóricas. A concentração ideal e a idade da colônia serão determinadas para cada hiperparasita identificado.

Os hiperparasitas serão aplicados no campo e o efeito dos mesmos será analisado, bem como o número e a época ideal de aplicação dos fungos.

Em outro experimento, o controle biológico com o fungo que demonstrar melhor capacidade parasitária, e melhor condição de ser produzido em laboratório, será testado no campo, e comparado com um tratamento químico, um controle alternativo onde só será aplicado um agente para facilitar o parasitismo natural e um tratamento que servirá de testemunha. Serão utilizadas 20 plantas por parcela, com 5 repetições. A avaliação dos tratamentos será feita com a contagem do número de folhas totais, atacadas pela queima das folhas, correlacionando o número de folhas atacadas com o número total de folhas. A amostragem para avaliação de lixas será realizada de acordo com os trabalhos de Leal e Warwick (2000), onde será coletado 6 folíolos (sendo um folíolo de cada uma das 6 últimas folhas) para contagem do número de estromas das lixas pequena e grande, e a ocorrência e identificação dos hiperparasitas.

Após identificação dos hiperparasitas, estes serão monitorados e avaliados quanto a sua capacidade de impedir a evolução das doenças foliares. Os hiperparasitas com maior potencial de controle biológico deverão ser desenvolvidos (trabalho posterior) para uso por parte do maior número de produtores. Utilizando blocos inteiramente casualizados todos os dados serão submetidos à análise estatística utilizando o teste de Scott - Knott à 5%.

12. PROSPECÇÃO ETIOLÓGICA E EPIDEMIOLÓGICA DA PODRIDÃO SECA

Atividade de Pesquisa 01 - Prospecção de fungos e bactérias

Plantas com sintomas serão coletadas no campo para isolamento de fungos e bactérias em meios de cultivo diversos, como BDA, rosa de bengala, ágar simples e ágar-nutriente. Após identificação dos organismos serão desenvolvidos testes de patogenicidade para verificar se são os agentes causais tentando completar os postulados de Koch. Os testes de patogenicidade serão efetuados em plântulas originárias de viveiros e em plantas adultas no campo.

Atividade de Pesquisa 02 - Análise molecular para prospecção de vírus, fitoplasma e identificação de hospedeiros alternativos e possíveis insetos transmissores.

Áreas de produtores que estão apresentando sintomas da doença serão monitoradas. Partes da planta com sintomas serão coletadas, bem como possíveis hospedeiros alternativos e possíveis insetos transmissores considerando a hipótese que a doença seja de natureza viral. Para tanto, será processada a extração de ácidos nucleicos totais da planta e dos insetos para detecção de dsRNA, indicador da presença do vírus. A extração será conduzida com modificações dos métodos de Dodds e Bar-Joseph (1983), Gibson *et. al.* (1996) e Hunst *et. al.* (1986). Efetuada a extração, o pellet será ressuspenso em 50 µl de TE pH 8,0 (1Mm Tris, 10 Mm EDTA). A digestão enzimática do DNA das amostras será efetuada com RQ1 RNase-free DNase (Promega, Madison, WI, USA) a 0,5 U/50 µl a 37° C *overnight*. As amostras serão quantificadas no fluorômetro para detectar a total ausência de DNA. Ácidos nucleicos que não se hidrolizarão no tratamento com RNase-free DNase serão considerados dupla-fita de RNA. A presença de dsRNA nas amostras será verificada em gel de agarose a 1,0% contendo 10 mg/ml de brometo de etídeo, imerso em tampão TBE (Tris Borato 90,0 Mm, EDTA 1,0 Mm, pH 8,0) a 60 V por 2,0 h. O gel será visualizado sob luz ultravioleta e fotografado com o

sistema de fotodocumentação Eagle Eye II (Estratagene). Para a prospecção de fitoplasmas, serão efetuadas análises por ARDRA em busca de homologies de sequências conservadas de rDNA – IGS, de acordo com a metodologia proposta por Lee et. Al., 1993, 1998).

Atividade de Pesquisa 03 - Testes de transmissão do patógeno através de insetos vetores e prospecção de possíveis hospedeiros intermediários

Serão coletados amostras de insetos da família Delphacidae em locais onde a doença esteja ocorrendo e enviados para identificação na Universidade Federal do Paraná. Nossa estratégia para identificar o vetor da podridão seca será primeiramente de estudar os insetos associados com coqueiros e com a vegetação vizinha em áreas afetadas pela doença. Serão focalizados principalmente insetos homópteros, pois a literatura já cita *Sogatella kolophon* e *S. cubana* como vetores na Costa do Marfim. Esses insetos também serão testados por PCR. Os insetos serão coletados com redes entomológicas e por sucção e colocados em caixas teladas para que os mesmos possam se multiplicar em ambiente controlado.

Experimento 2 a. Transmissão com insetos coletados no campo: a cada mês 100 insetos serão colocados em caixas teladas com mudas de coqueiro, essas caixas serão mantidas sob condições de campo. Esse experimento será repetido com as mesmas plantas por 4 meses, e os resultados serão anotados. Nesse primeiro trabalho terá somente como objetivo testar se a doença é ou não transmitida por delphacideos. Ou seja, serão aferições de ordem qualitativa, não quantificando os índices de transmissão nem a origem do inóculo. A planta será considerada atacada se apresentar os sintomas típicos da doença, primeiramente encurtamento da folha central seguidos por necrose dos tecidos.

Após se determinar efetivamente uma ou mais espécie vetora, então testes mais específicos serão realizados. Primeiramente tentar-se-á saber se o inseto transmite de uma maneira persistente ou não. Para tanto testes serão realizados com os mesmos após 24 hrs sem se alimentar de plantas doentes.

Sabe-se que alguns patógenos ficam no interior do inseto, sendo transmitidos de maneira persistente, enquanto outros permanecem poucas horas já que não circulam no interior do inseto. Nesse segundo caso a transmissão é de maneira não persistente e portanto mais fácil de efetuar-se o controle do patógeno..

Experimento 2 b. Testes de incidência do patógeno. A cada mês 100 insetos serão colocados em 50 caixas diferentes. Durante todo o ano será realizado esse trabalho, não serão repetidos as introduções, o objetivo é o de determinar se ocorre uma época do ano com maior frequência de insetos contaminados. O número de plantas infectadas será registrada e os dados serão analisados.

Experimento 2 c. Transmissão para gramíneas. Várias gramíneas (principalmente do gênero *Digitaria*, *Eleusine*, *Echinochloa*, *Panicum*, *Paspalum* também serão infectadas com insetos vetores e os sintomas serão observados. Para tanto em cada das 5 caixas teladas serão colocadas 50 mudas das diferentes gramíneas, 100 insetos coletados no campo serão colocados em cada caixa e os resultados serão observados após 1 mês. Serão coletados amostras das plantas, os sintomas serão registrados e serão analisados com PcR.

Experimento 2 d. Transmissão de coqueiro para coqueiro. Em um outro trabalho 200 insetos serão coletados no campo e colocados em 10 caixas com 5 plantas com sintomas e após 1 semana, serão transferidos para 100 plantas saudas. Os insetos que comprovadamente transmitam o patógeno serão coletados, deixados 30 minutos em jejum e depois colocados em plantas com sintomas. Será observado o tempo para o aparecimento de sintomas e o número de plantas contaminadas e os dados serão analisados.

Os experimentos envolvem a transferência de um grande número de insetos do campo para caixas teladas. É necessário um grande número de insetos pois não é garantido que os mesmos se encontrem contaminados com o patógeno. Os insetos serão coletados com aspirados. A boca do tubo é colocada sobre o inseto, e aspirada por um outro tubo para dentro de uma garrafinha plástica.

13. IDENTIFICAÇÃO E CONTROLE DE POTENCIAIS PATÓGENOS DE PÓS-COLHEITA NO FRUTO DO COQUEIRO

Atividade de Pesquisa 01 - Prospecção de patógenos potenciais

Primeiramente, deverão ser selecionadas duas áreas produtoras e exportadoras para a coleta de frutos. Os frutos amostrados serão mantidos em condições ambiente, com temperatura controlada a fim de se observar sua vida útil (tempo de prateleira) e o aparecimento ou desenvolvimento de lesões das quais os microrganismos associados serão isolados.

Os microrganismos associados suspeitos de serem patogênicos deverão ser isolados em meio BDA, identificados e, então, testes serão realizados para verificar a sua patogenicidade. Também, deverão ser selecionados microrganismos potencialmente antagônicos para a realização de futuros testes. A coleta dos microrganismos deverá ser efetuada de 3 modos: a- diretamente das lesões; b- de partes de frutos ou de frutos em estágio inicial de desenvolvimento, recém-colhidos, que deverão ser mergulhados em água destilada esterilizada (DE) e água DE + Tween e submetidos a agitação, então uma alíquota da suspensão obtida será plaqueada em meio BDA com o objetivo de se isolar e identificar os microrganismos associados à superfície; c- o terceiro método, se propõe plaquear, em meios específicos, secções da casca e de partes internas de frutos sadios e frutos doentes com o objetivo de isolar antagonistas e patógenos quiescentes da superfície e partes internas desses frutos, bem como se verificar o comprometimento de frutos afetados. Obtidos os patógenos primários e antagonistas de cada doença e de cada fruto, realizar-se-á os testes de patogenicidade através da inoculação de frutos sadios, recém-colhidos, com os potenciais patógenos, conforme os postulados de Koch, após o que serão realizados os testes de antagonismos.

Atividade de Pesquisa 02 - Teste da sensibilidade dos patógenos à produtos naturais e agroquímicos

Esta atividade prevê a realização de testes “in vitro” com óleos essenciais e extratos vegetais obtidos de plantas medicinais; testes com agroquímicos, como fungicidas protetores, principalmente aqueles desenvolvidos a partir de outros organismos e os chamados elicitores e, ainda, com outros fungicidas aceitos no mercado europeu; testes com produtos derivados de frutos, como hexanal, benzilaldehído, metil jasmonato e outros, além de produtos como hipoclorito de sódio, cloro, peróxido de hidrogênio, ácido bórico, e outros produtos considerados fármacos. Nesta atividade será incluído testes com microrganismos potencialmente antagonistas que, eventualmente, tenham sido isolados na execução da atividade 01.

Atividade de Pesquisa 03 - Desenvolvimento de tecnologias para proteção dos frutos contra patógenos

Deverão ser realizados testes de proteção, empregando-se frutos sadios recém-colhidos, os quais deverão ser pulverizados ou mergulhados em soluções contendo os produtos selecionados no teste anterior (*in vitro*) que, após um período estipulado serão inoculados com o patógeno. No segundo caso, será buscada a cura de frutos doentes através do tratamento de frutos afetados com os produtos selecionados.

Nesta atividade será incluído testes com microrganismos antagonistas promissores selecionados no teste anterior (atividade 02).

Durante esta atividade serão realizados os teste de proteção e cura com os produtos químicos sintéticos, naturais e fármacos selecionados empregando-se frutos destacados, os quais serão armazenados em condições específicas: ambiente de laboratório; condições desfavoráveis (elevadas temperatura e umidade); e condições ideais, em câmaras a 10-12°C, semelhantes aquelas do transporte para exportação. Também, serão realizados testes físicos: térmico de frutos e exposição à luz ultravioleta germicida. E, ainda, será testada a modificação da atmosfera dos fruto com ceras e filmes plásticos.

Atividade de Pesquisa 04 - Avaliação do controle das doenças nas características físico-químicas e sensoriais dos frutos do coqueiro

Para os testes físico-químicos, os frutos terão as partes afetadas pelas doenças e pragas descartadas e o restante cortados em pedaços, triturados até formar uma pasta homogênea e, estas partes serão analisadas no laboratório de físico-química da Embrapa Agroindústria Tropical. Nesse sentido, serão avaliados, em frutos sadios e doentes, os parâmetros analíticos de pH, sólidos solúveis (°Brix), sólidos totais, acidez titulável, açúcares totais, taninos e etc.

Para análise sensorial, as partes da fruta lesionadas serão descartadas utilizando-se apenas a porção sadia. Inicialmente as frutas com diferentes níveis de infestação de antracnose serão avaliadas através do Teste Triangular para verificar se suas características sensoriais diferem daquelas apresentadas pela fruta sadia.

14. Em busca de resistência às principais doenças do coqueiro

Atividade de Pesquisa 1 - Desenvolvimento de uma metodologia para seleção de resistência do coqueiro à helmintosporiose

Para estes estudos será isolado o patógeno de algumas regiões produtoras após adequação da produção de inóculo em meio de cultivo apropriado. Serão desenvolvidos testes em casa de vegetação e/ou viveiros objetivando determinar a melhor técnica para teste do germoplasma quanto à resistência a estas doenças. Para tanto serão testadas diferentes concentrações de inóculo, idades da planta variáveis e diferentes métodos de inoculação tais como, injeções, pulverizações e imersões em suspensão de esporos (variada conforme o patógeno). Uma vez calibrada a melhor metodologia para reprodução dos sintomas uma escala variável de notas será estabelecida, para discriminação dos materiais. Todo o germoplasma do coqueiro bem como os híbridos já gerados serão testados quanto à sua resistência. Este trabalho será a tese de doutorado de um aluno da Universidade Federal de Pernambuco que será orientado pelo coordenador deste projeto. Estes experimentos serão conduzidos como a seguir:

a) Isolamento do patógeno

Serão realizadas coletas de folíolos jovens de coqueiro (*C. nucifera* L.) com sintomas iniciais de mancha foliar, em viveiros nos estados de Sergipe e Alagoas. A partir do material coletado será realizado o isolamento do patógeno através de técnicas de transferência de porções de tecido retiradas da zona de transição entre o tecido sadio e o doente, desinfetando-as previamente com solução de hipoclorito de sódio a 3% e transferindo-os para placas de Petri contendo meio de batata-dextrose-ágar (BDA) (TUIE, 1969), ou meio de malte ágar + benomil (ELLIS et al., 1985), e incubados à temperatura de $28^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, os esporos serão transferidos para tubos de ensaio contendo meio de BDA onde serão mantidos durante a execução dos trabalhos.

b) Método de inoculação em folíolos destacados

O experimento será realizado em laboratório, utilizando folíolos destacados de mudas sadias de coqueiro que serão desinfetados com uma solução de hipoclorito de sódio 3%, em número de 10 para cada tratamento, que serão inoculados pela técnica de discos de BDA, de 4 mm de diâmetro, contendo micélio do patógeno, com 10 dias de idade e cobertos com fita adesiva. Após a inoculação, os folíolos serão mantidos em tubos de ensaio contendo água destilada, sob condições de câmara úmida por 72 h.

c) Método de inoculação em mudas

Com o objetivo de determinar qual a idade da muda e qual concentração ideal para reproduzir os sintomas, serão submetidos os seguintes testes:

Mudas sadias de coqueiro desenvolvidas por 2, 3, 4, 5, 6 e 12 meses de idade em casa-de-vegetação serão inoculadas, com discos de BDA, de 4 mm de diâmetro, contendo micélio de *B. incurvata*, na face inferior das folhas (ELLIS et al., 1985). Após a inoculação, metade das mudas serão mantidas em câmara úmida por 72 h, enquanto que a outra metade permanecerá no

ambiente da casa-de-vegetação à temperatura variando de um mínimo de 19°C e um máximo de 30°C. As testemunhas receberão apenas discos de BDA.

Para todos os experimentos, serão testadas diferentes concentrações de inoculo, a partir de discos de micélio de 4 mm de diâmetro do fungo crescido em placa de Petri contendo meio de BDA, para erlemmeyer de 250 mL contendo 150 mL de meio líquido de batata (250 g) + dextrose (16 g). Em seguida, deixados por 15 dias em agitador automático à temperatura ambiente ($25 \pm 3^\circ\text{C}$) (SANTOS, 1995). A suspensão de esporos será filtrada em gaze dupla e calibrada para 10^4 , 10^6 e 10^8 esporos/mL

Os sintomas serão observados diariamente até o 30º dia após a inoculação, sendo efetuadas leituras medindo o diâmetro de crescimento das lesões. Serão verificados também a ocorrência ou não de esporulação nos tecidos infectados.

d) Seleção de germoplasma de coqueiro resistentes a *B. incurvata*

Considerando que as diferentes cultivares, variedades e híbridos de coqueiro apresentam desigual nível de suscetibilidade, será avaliada a existência, ou não, de material resistente da coleção de germoplasma da Embrapa Tabuleiros Costeiros das cultivares introduzidas da Costa do Marfim: Coqueiro-gigante, Oeste africano (GOA), Rennel (GRL), Polinésia (GRT), Rotuma (GRT), Tonga (GTG), Vanuatu (GVT), Malásia (GML), Coqueiro-anão, Amarelo-da-Malásia (AAM), Vermelho-da-Malásia (AVM) e Vermelho-dos-camarões (AVC). De variedades provenientes de prospecções no Brasil: Coqueiro-gigante, Brasil (GBrPF), Brasil (GBrFM), Brasil (GBrSJM), Brasil (GBrBF), Brasil (GBrFSR), Brasil (GBrPC), Coqueiro-anão, Verde-do-brasil (AVeB), Amarelo-do-brasil (AAB) e Vermelho-do-brasil (AVB) (RIBEIRO; SIQUEIRA, 1995). Também serão avaliados híbridos produzidos na Costa do Marfim: PB-121 (AAMxGOA), PB-141 (AVeExGOA), PB-113 (AVCxGRL) e PB-231 (GRLxGOA) (Siqueira et al., 1995).

O experimento será realizado em casa-de-vegetação e terá o delineamento em blocos ao acaso com quatro repetições. Cada parcela constituirá de uma linha de cinco metros, mantendo-se 10 plantas por parcela. O espaçamento entre

linhas será de 70 cm, com 0,50 m entre plantas. A adubação será constituída de 200 g, na formulação 15-10-15 por planta (EMBRAPA, 1993).

A resistência do material será avaliada pelo melhor método para inoculação determinado no ensaio anterior.

Tanto neste ensaio como nos anteriores serão efetuadas fotografias e fotomicrografias das estruturas fúngicas obtidas.

Atividade de Pesquisa 2: Teste de indutores fisiológicos de resistência sistêmica à doenças

A indústria química tem incluído em seu portfólio a produção de produtos fisiológicos que quando pulverizados ou injetados em plantas possuem a capacidade de induzir resistência sistêmica múltipla a doenças de naturezas diversas. A Syngenta é uma destas empresas que detém uma destas moléculas que tem sido eficiente inclusive em culturas perenes. Como parceira deste projeto, a empresa terá a molécula disponibilizada para testes em campo e casa de vegetação segundo os mesmos critérios já descritos no Plano de ação 2, exigidos pelo Ministério da Agricultura.

Atividade de Pesquisa 3 - Inserção de transgenes no coqueiro com potencial de conferir resistência às doenças foliares

Os genes lactoferrina (LF) e oxalyl decarboxilase (OX) têm potencial para conferir resistência a diversas doenças. Procurar-se-á obter transformantes de plantas de coqueiro Gigante e/ou Anão por biobalística (Técnica de bombardeamento de genes) ou *Agrobacterium* expressando pelo menos um destes transgenes. Para isso, cassete de expressão gênica contendo estes genes deverão ser construídos, assim como o preparo e transformação de explantes e, a seleção de plantas transgênicas.

As Construções de DNA para biobalística e transformação por *Agrobacterium* já foram obtidas junto ao Departamento de Fitopatologia/Centro de Biotecnologia da Universidade de Nebraska - EUA. As construções tem sido montadas com

o gene recombinado sob regulação por diferentes tipos de promotores em construções diferentes conforme o método de transformação a ser utilizado.

Para transformação, serão utilizados alternativamente meristemas e embriões de coco os quais serão coletados de frutos maduros, sofrerão assepsia (Rillo & Paloma, 1990) e serão inoculados em meio de cultura sólido MS com Phytigel, com adição de vitaminas de Morel e Wetmore, (1951 a ,b) e em meio de cultura Y3 (Euwens, 1978) respectivamente. Após submetido ao processo de transformação serão incubadas em câmara de crescimento. O processo de introdução dos genes por biobalística OX e/ou LF no genoma do coqueiro será executado por aceleração de partículas com alta pressão de hélio (bombardeamento) sobre os embriões e meristemas do coqueiro gigante ou anão conforme o método descrito por Aragão et al., (1996). Para a transformação de plantas por *Agrobacterium*, os meristemas e os embriões serão incubados em uma placa de petri contendo a suspensão bacteriana e cultivados por 48 horas a 25°C no escuro. Logo após, os explantes serão inoculados no meio de cultivo, descrito anteriormente, contendo um antibiótico (de acordo com a construção do vetor) para matar as células de *Agrobacterium* remanescentes.

A seleção de plantas transgênicas será efetuada por pincelamento com glifosinato de amônio e PCR. Após o surgimento das plúmulas originárias dos tecidos transformados por bombardeamento e *Agrobacterium*, estas receberão a aplicação do herbicida glifosinato de amônia cujo gene bar para tolerância foi inserido na construção original. Para PCR, discos foliares destas plântulas serão retiradas para extração de DNA conforme Edwards et al. (1991), utilizando como template um par de primers específicos para anelamento da sequência do "OX gene" ou do LF gene. Explantes contendo estes transgenes serão disponibilizados à cultura de tecidos para os ensaios de produção clonal e incorporação à híbridos do coqueiro.

Atividade de Pesquisa 04 - Resistência à Phytonomas

Será efetuada a seleção massal de plantas com resistência natural à nível de campo. Está será efetuada nas principais Regiões produtoras da Bahia onde a

doença ocorre de forma endêmica. As plantas só serão consideradas resistentes se não apresentarem sintomas quando todas os indivíduos vizinhos estiverem infectados com *Phytomonas*. As plantas resistentes serão demarcadas para coleta de coco-semente para reprodução e testes em condições controladas. Os testes em condições controladas não serão objeto deste projeto. Deverá contudo ser objeto de estudos futuros.

15. ESTRATÉGIAS DE AÇÃO

Caracterização temporal dos objetivos

O objetivo geral deste projeto que é aprimorar o conhecimento científico sobre a etiologia e epidemiologia das principais doenças do coqueiro e desenvolver tecnologias aplicadas de controle químico, biológico e genético para o uso no manejo integrado da cultura, deverá ser alcançado após dois anos. Para atingi-lo na íntegra todos os objetivos específicos tem que ser alcançados e suas responsabilidades distribuídas entre os membros da equipe. Assim, pretendemos ter a adaptação de meios de cultivo sintético ou artificial para manipulação de *Phyllachora torrendiella* e *Sphaerodothis acrocomiae*, agentes causais das lixas do coqueiro, alcançada em até seis meses. Este deverá viabilizar o desenvolvimento de metodologias para inoculação, reprodução dos sintomas das lixas, queima das folhas, helmintosporiose, que permitirá testar em condições controladas o germoplasma para resistência a doenças, fazer screening de fungicidas e de agentes de controle biológico, antes de levar ao campo. Isto será alcançado em 24 meses. A caracterização da eficiência de três hiperparasitas no controle biológico das lixas deverá ser alcançada em 24 meses. O conhecimento adquirido na epidemiologia dos agentes causais das doenças foliares permitirá desenvolver um modelo básico de previsão de doenças dentro de 24 meses. A definição da etiologia da Podridão Seca do coqueiro e identificar os possíveis insetos transmissores e hospedeiros alternativos será alcançada em 2 anos. No prazo de 2 anos faremos os testes e disponibilização aos produtores das novas moléculas químicas menos danosas ao ambiente, que usem um menor volume de água e que sejam mais eficientes

no manejo das principais doenças foliares. A caracterização dos danos da murcha de *Phytophthora* no coqueiro e a investigação do papel da cigarrinha como possível agente transmissor deverá ser concluída em 2 anos. O levantamento e caracterização dos microorganismos potencialmente danosos aos frutos do coqueiro em pós colheita permitirá definir as alternativas para sua profilaxia também dentro de 2 anos. A busca de fontes de resistência natural às principais doenças do coqueiro é contínua e se realizará até o final deste projeto. A transformação do coqueiro incorporando transgenes com potencial para conferir resistência múltipla às doenças, pode ser atingido em menos de 2 anos. Estes transformantes serão então disponibilizados ao programa de melhoramento e à cultura de tecidos para testes de produção. A eficiência de produtos fisiológicos industriais quanto à sua capacidade de induzir resistência sistêmica no coqueiro poderá ser alcançado em 24 meses.

Inter-relação, vinculação e sincronismo dos planos de ação e atividades do projeto

Plano de ação 1: Desenvolvimento de técnicas apropriadas à manipulação e ao estudo da variabilidade genética dos agentes causais das principais doenças foliares do coqueiro. Este plano permitirá aprimorar o conhecimento científico da etiologia das doenças foliares do coqueiro, esclarecendo a variabilidade genética dos agentes causais para reorientação das medidas e estratégias de controle conforme previsto na atividade 1. O cultivo de *Phyllachora torrendiella* e *Sphaerodothis acrocomiae* em meio artificial, é fundamental para aumentar as alternativas a serem utilizadas para o desenvolvimento de métodos de inoculação e reprodução de sintomas das doenças foliares em condições controladas (atividade 2). Estas por sua vez necessitam ser bem desenvolvidas de forma eficientes para permitir o sucesso das atividades 3 e 4 que consistem da caracterização da variabilidade genética dos agentes causais da queima das folhas, das lixas do coqueiro, e de espécies de *Phyllachora* e *Sphaerodothis* parasitas de palmeiras nativas, pois esta atividade, prevê testes de virulência, que implicam na inoculação e reprodução de sintomas.

Plano de ação 2: Alternativas de controle para manejo integrado das doenças foliares. Este plano de ação deverá gerar um sistema de previsão de doença e desenvolver tecnologias que permitam efetuar o seu controle biológico e químico. A atividade de Pesquisa nº 01 que consiste do estudo da epidemiologia é que permitirá o desenvolvimento do sistema de previsão de doenças. Este por sua vez não é limitante mas é que sua eficiência pode maximizar a eficiência na caracterização de moléculas químicas apropriadas ao controle das lixas, queima das folhas e helmintosporiose (atividade de pesquisa 2 e 3) pois direcionaria o momento apropriado para pulverizações. A atividade de pesquisa 4: controle biológico das lixas grande e pequena com hiperparasitas igualmente pode ser favorecida pelos resultados da atividade 01.

Plano de Ação 3: Prospecção etiológica e epidemiológica da Podridão Seca. O sucesso na execução deste plano de ação permitirá identificar o agente causal agente transmissor e hospedeiros alternativos da Podridão Seca do coqueiro, doença que vem dizimando novos plantios no Sudeste e Nordeste brasileiro. A atividade de pesquisa 01 (prospecção de fungos e bactérias) e atividade de pesquisa 2 (análise molecular para prospecção de vírus e identificação de hospedeiros alternativos e possíveis insetos transmissores) e a atividade de pesquisa 3 (transmissão do possível patógeno por insetos transmissores) são independentes, e vem a somar no conhecimento científico desta doença.

Plano de ação 4: Identificação e Controle de Potenciais Patógenos Pós-Colheita do Fruto do Coqueiro. Este plano de ação deverá determinar a vida útil de prateleira do fruto do coqueiro sob diferentes condições de armazenagem, identificando os microrganismos patogênicos e os potenciais patógenos, testando também métodos para sua profilaxia. Quatro atividades foram preconizadas: 01) prospecção de patógenos potenciais; 02) teste de sensibilidade dos patógenos à produtos naturais e agroquímicos; 03) desenvolvimento de tecnologias para proteção dos frutos contra patógenos; 04) avaliação do controle das doenças nas características físico-químicas e sensoriais dos frutos do coqueiro. Estas atividades contudo são inteiramente dependentes uma da outra quanto a sua ordem cronológica de realização.

Plano de ação 5: Em busca de resistência às principais doenças do coqueiro. Com este plano de ação espera-se em quatro atividades independentes, variar condições para através de aprimoramentos metodológicos e de estratégias de seleção proporcionando avanços tecnológicos que possam contribuir para o controle de doenças ou na piramidização de genes do coqueiro. Na atividade 01 desenvolver-se-á uma metodologia para seleção de resistência do coqueiro à helmintosporiose, doença com potencial crescente na cultura do coqueiro. Na atividade 02, testar-se-á eficientes indutores fisiológicos de resistência. Na atividade 03, far-se-á inserção de transgenes no coqueiro com potencial de conferir resistência às doenças foliares. E na atividade 04 buscar-se-á identificar fontes de resistência natural no campo à Murcha de *Phytophthora*, doença endêmica à algumas regiões produtoras da Bahia.

Plano de ação 06: Gestão do projeto. A gestão eficiente do projeto será de fundamental para seu sucesso, uma vez que o mesmo congrega vários pesquisadores dentro de três Unidades da Embrapa (Embrapa Tabuleiros Costeiros, Embrapa Agroindústria Tropical, Embrapa Recursos Genéticos), além de uma instituição parceira Ceplac/Cepec. O líder do projeto fará reuniões técnicas semestrais com os responsáveis pelos planos de ações para analisar o desenvolvimento do projeto, de modo a dirimir eventuais dúvidas e formular ajustes. Será ainda viabilizado um banco de dados com informações sistematizadas de cada plano de ação (atividades, cronograma, relatórios financeiros, dados e prazos de relatórios técnicos), hospedado na homepage da Embrapa Tabuleiros Costeiros e acessado pela equipe através de login e senha previamente estabelecidos; esses procedimentos objetivam o eficaz acompanhamento e supervisão de todas as atividades planejadas, visando ao alcance dos objetivos propostos pelos planos de ação. Ao final do projeto será realizado um workshop envolvendo os técnicos responsáveis, representantes da indústria do coco e representantes de associações de produtores para avaliar e discutir os resultados das ações implantadas nesse projeto de pesquisa, (bolsistas e estudantes) bem como seus possíveis desdobramentos de continuidade, novas pesquisa ou aplicabilidade futura.

Todos os planos de ação tem uma relativa independência, o que facilitará sua execução e gestão, enquanto que as atividades de pesquisa, estas sim possuem mais dependência umas das outras, contudo dentro do mesmo plano de ação. Assim a medida que seus objetivos específicos forem atingidos e os conhecimentos disponibilizados de forma integrada aos produtores, o objetivo geral deste projeto será atingido. A supervisão e sua integração será o objeto deste plano de ação.

Difusão de tecnologias

Da forma que este projeto foi preconizado os avanços do conhecimento científico serão necessariamente divulgados por diferentes métodos que permitirá efetuar:

- ↵ Publicação de pelo menos 30 resumos de trabalhos à serem apresentados nos congressos de fitopatologia;
- ↵ Publicação de pelo menos 10 trabalhos científicos reportando os resultados;
- ↵ Publicação de pelo menos 5 artigos de divulgação na mídia;
- ↵ Publicação de uma tese de doutorado orientada pelo líder do Projeto;
- ↵ Publicação de uma tese de mestrado orientada pelo líder do Projeto;
- ↵ Realização de pelo menos 3 dias de campo para divulgação das técnicas de controle químico, controle biológico, uso de indutores de resistência;
- ↵ Realização de um curso sobre manejo de doenças do coqueiro onde os resultados serão divulgados;
- ↵ Realização de um workshop com os membros da cadeia produtiva ao final do projeto para avaliação dos resultados.
- ↵ Disponibilização dos resultados na home page da Embrapa Tabuleiros Costeiros, à medida que estes forem gerados.

Participação dos clientes e beneficiários

Um dos clientes deste projeto é a indústria química que também se beneficiará dos resultados de controle para registro dos seus produtos junto ao Ministério da Agricultura. Por este motivo a Embrapa Tabuleiros Costeiros fará contratos de parceria com cada uma destas empresas e será cobrado um valor fixo de R\$ 5.000,00 reais por empresa para inclusão de cada produto no pool de ensaios.

Outros clientes e beneficiário são os produtores de coco, associações de produtores e a própria indústria de coco. Todos os experimentos de campo serão conduzidos nas áreas destes produtores, ou seja na Ducôco em Alagoas, no Platô de Neópolis em Sergipe nas áreas de produtores filiados a associação local. No Ceará, os trabalhos de patologia de pós colheita necessariamente serão conduzidos em frutos obtidos junto à Sôcôco. Além deste envolvimento direto destes membros da cadeia produtiva neste projeto, muitos deles participarão das organizações dos dias de campo e nas palestras de divulgação dos resultados. No aspecto acadêmico científico o desenvolvimento deste projeto proporcionará o treinamento de estagiários, bolsistas do CNPq e alunos de pós-graduação.

Gestão do projeto

A gestão eficiente do projeto será de fundamental para seu sucesso, uma vez que o mesmo congrega vários pesquisadores dentro de três Unidades da Embrapa (Embrapa Tabuleiros Costeiros, Embrapa Agroindústria Tropical, Embrapa Recursos Genéticos), além de uma instituição parceira Ceplac/Cepec. O líder do projeto fará reuniões técnicas semestrais com os responsáveis pelos planos de ações para analisar o desenvolvimento do projeto, de modo a dirimir eventuais dúvidas e formular ajustes. Será ainda viabilizado um banco de dados com informações sistematizadas de cada plano de ação (atividades, cronograma, relatórios financeiros, dados e prazos de relatórios técnicos), hospedado na homepage da Embrapa Tabuleiros Costeiros e acessado pela equipe através de login e senha previamente estabelecidos; esses procedimentos objetivam o eficaz acompanhamento e supervisão de todas as atividades planejadas, visando ao alcance dos objetivos propostos pelos planos de ação. Ao final do projeto será realizado um workshop envolvendo os técnicos responsáveis, representantes da indústria do coco e representantes de associações de produtores para avaliar e discutir os resultados das ações implantadas nesse projeto de pesquisa, (bolsistas e estudantes) bem como seus possíveis desdobramentos de continuidade, novas pesquisa ou aplicabilidade futura. Ressalte-se ainda a importância na gestão do projeto da comprovada liderança do seu Coordenador que já tem projetos integrados

concluídos ou em andamento previamente financiados pela própria Embrapa, CNPq, FUNAPE, indústria química e Indústria de produtos biológicos, além de quase uma dezena de teses de Mestrado e Doutorado orientadas.

Responsabilidades institucionais

A Embrapa Tabuleiros Costeiros é líder no desenvolvimento de tecnologias para indústria do coqueiro tendo inclusive no passado sido um Centro de produtos, ou seja, a Embrapa Coco. Assim, contribuir com o desenvolvimento da cocoicultura brasileira continua sendo uma das principais metas do plano diretor e agenda institucional da Unidade. Recentemente foi criado o laboratório integrado de Fitopatologia/Biotecnologia que possui câmaras de fluxo laminar, incubadoras, reagentes vidrarias, microscópios, e diversos equipamentos suficientes à manipulação de microorganismos. Recentemente, investimentos na Biotecnologia contemplaram a aquisição de uma série de equipamentos tais como, centrífugas, microcentrífuga de eppendorf, speed vac, extratores de DNA (mini-bead-beater), cubas de corrida para géis, fontes elétricas, agitadores, câmaras de crescimento, etc. A este laboratório foram integrados novos pesquisadores bem como bolsistas e estudantes de pós-graduação.

Com este enfoque e pensamento é que este novo grupo pretende aprimorar os conhecimentos científicos sobre as doenças do coqueiro e desenvolver tecnologias definidas para viabilização do manejo integrado das principais doenças focadas.

Com o mesmo propósito a Embrapa Agroindústria Tropical vem somar esforços neste projeto nas atividades da patologia de pós colheita do coqueiro, assunto em que é líder, e faz parte da sua missão. A Ceplac/Cepec, cujo corpo técnico é reconhecido nacionalmente em micologia e apuração técnica no esclarecimento da etiologia de doenças, demanda igualmente contemplada neste projeto, participará do projeto nos assuntos que são referência.

Considerando ainda a oportunidade de pesquisa em engenharia genética, a Embrapa Recursos Genéticos colaborará com os trabalhos de transformação do coqueiro procurando abrir um novo caminho no combate a doenças tão recalcitrantes como as lixas e queima das folhas no coqueiro.

Todas as instituições envolvidas são capazes e aptas ao desenvolvimento deste projeto.

Ressalte-se ainda que de forma indireta o CNPq – Conselho Nacional de Pesquisa – também participará do projeto. O coordenador deste projeto há mais de dez anos é bolsista do CNPq, e atualmente possui 5 cotas de bolsa, que se renovadas, serão disponibilizadas inteiramente para execução deste projeto.

Plano de Ação	Atividades de Pesquisas	Embrapa Tabuleiros Costeiros	Embrapa Agroindústria Tropical	Embrapa Recursos Genéticos	Ceplac/Cepec
Plano de ação 01	AP* 1 AP 2 AP 3 AP 4	X X X			X X
Plano de ação 02	AP 1 AP 2 AP 3 AP 4	X X X X			
Plano de ação 03	AP 1 AP 2 AP 3	X X X			
Plano de ação 04	AP 1 AP 2 AP 3 AP 4		X X X X		
Plano de ação 05	AP 1 AP 2 AP 3 AP 4	X X X X		X	X
Plano de ação 06	AG 1 AG 2 AG 3	X X X	X	X X X	X X X

* Atividades de Pesquisas

16. RESULTADOS ESPERADOS

O aprimoramento do conhecimento científico sobre as doenças do coqueiro e o desenvolvimento das tecnologias mais apropriadas de controle se difundidas e assimiladas pelos usuários de forma integrada certamente teriam na sociedade fortes impactos sócio-econômicos, técnico-científicos e ambientais.

Somando os esforços de toda a equipe no desenvolvimento das metodologias propostas nos Planos de Ação espera-se em dois anos: a) desenvolver ou adaptar um meio sintético para o cultivo dos agentes causais da lixas do coqueiro podendo assim viabilizar estudos de variabilidade genética e esclarecer sua etiologia; b) desenvolvimento metodologias para a reprodução dos sintomas das doenças foliares facilitando os trabalhos de seleção de germoplasma resistente, screening de fungicidas e outras tecnologias para o

controle das doenças; c) caracterizar e disponibilizar aos produtores pelo menos duas moléculas sistêmicas ou de translocação translaminar mais eficientes no controle das doenças foliares; d) conhecer a eficiência de produtos fisiológicos, indutores de resistência às doenças foliares; e) desenvolver um sistema de previsão de doenças para racionalizar as pulverizações de produtos químicos e biológicos; f) esclarecer a etiologia da Podridão Seca do coqueiro, doença que impede a instalação de novos plantios, identificando ainda, insetos transmissores e possíveis hospedeiros intermediários; g) encontrar fontes de resistência natural no campo à Murcha de Phytonomas, além de conhecer os insetos transmissores da doença; h) aumentar a vida útil do fruto do coqueiro, que pode variar com as condições de armazenagem devido ao ataque de patógenos de pós colheita que serão identificados; i) Desenvolver métodos químicos e físicos que podem ser eficientes na eliminação dos patógenos de pós colheita; j) desenvolver métodos apropriados de inoculação e seleção de plantas resistentes à helminthosporiose; k) aumentar o nº de folhas úteis no coqueiro, controlando as lixas através do uso de hiperparasitas; l) e por fim, a obtenção de plântulas do coqueiro geneticamente modificadas expressando um ou mais genes com potencial para conferir resistência às doenças conhecidas como lixas e a queima das folhas.

Na avaliação dos possíveis impactos que estes resultados podem trazer ressaltamos que:

↪ O uso de agentes de controle biológico, e de indutores de resistência bem como um modelo de previsão de doenças para aplicação de fungicidas apenas no momento apropriado, além da possibilidade de obtenção de uma planta transgênica contendo um gene capaz de conferir resistência às principais doenças, contribuiria à médio prazo, para redução do custo de produção do coco no Brasil. As plantas seriam utilizadas como fontes de resistência no programa de melhoramento do coqueiro bem como tecnologias geradas poderiam ser disponibilizadas diretamente à indústria e sociedade com uma divulgação massiva para sua assimilação. Ressalte-se o exemplo que um coqueiro geneticamente modificado, teria então, um enorme impacto econômico na redução do custo de produção, reduzindo o controle químico e biológico de doenças. Além disto o pequeno produtor e o menos tecnificado poderiam ter acesso à mesma tecnologia de baixo

custo na aquisição de mudas melhoradas. O sucesso deste projeto poderá portanto promover a médio prazo o ganho em custo e na produção do coqueiro anão. Por outro lado, a geração de genótipos Gigante com resistência à estas doenças e o sucesso das tecnologias de manejo geradas por este projeto certamente poderiam reverter a longo prazo esta dependência de importação pois com a existência de tecnologia, o plantio seria estimulado. Portanto, o sucesso deste projeto pode também ser a longo prazo e, de forma ambiciosa, um catalisador do processo de reversão da cocoicultura brasileira quanto a sua dependência do mercado externo.

✦ O cultivo das lixas do coqueiro, em meio artificial seria inédito na comunidade científica por serem parasitas obrigatórios. O conhecimento da variabilidade genética destes patógenos poderia reorientar todo o programa de melhoramento para resistência a doenças. A identificação de agentes causais como no caso da Podridão Seca e de doenças de pós colheita também seriam inéditos e reorientariam o desenvolvimento de novas pesquisas na busca do seu controle. A obtenção de coqueiro transformado com transgenes para resistência às lixas e a queima das folhas será inovador na comunidade científica, pois são inexistentes na literatura mundial, apesar de algum sucesso já ter sido registrado pelos alemães na transformação do coqueiro nas Filipinas para resistência ao Cadang, doença inexistente no Brasil. Se a meta do projeto for alcançada ficará mais uma vez validada a biobalística como método científico para transformar plantas, uma vez que o método a ser utilizado é uma variação com patente brasileira. A otimização de um método para transformação do coqueiro, poderá no futuro, facilitar a incorporação de diversos outros genes de interesse para melhoria da cultura, podendo inclusive inserir o coqueiro na promissora indústria de "molecular farming", ou seja a produção de fármacos utilizando os frutos das plantas como "delivering ou deployment agents", no caso utilizando a água de coco.

✦ O desenvolvimento de tecnologias como o uso eficiente de hiperparasitas, indutores de resistência ou um modelo de previsão para orientação de pulverizações químicas na época adequada; e ainda de forma mais ambiciosa, obtenção de plantas transformadas contendo genes para resistência a estas doenças teria um impacto ambiental extremamente

favorável. Isto dever-se-á à conseqüente redução na aplicação de fungicidas. Hoje o produtor, dependendo de seu nível tecnológico pode efetuar até doze pulverizações por ano. Muitas vezes estas aplicações são de forma empírica, o que faz com que estes produtos sejam lançados diretamente no ambiente incluindo o solo, causando alterações negativas na sua biodiversidade e contaminando, além de lençóis freáticos, os próprios operadores. Assim o coqueiro geneticamente modificado e com resistência à estas doenças, ou os hiperparasitas e indutores de resistência, certamente reduziriam o número de pulverizações com químicos, ou quem sabe até as eliminariam. Preservar-se-ia com isto o ambiente e melhorar-se-ia a qualidade de vida do produtor.

17. APROPRIAÇÃO DOS RESULTADOS

Os pesquisadores envolvidos da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Embrapa Agroindústria Tropical, Embrapa Recursos Genéticos e Ceplac já desenvolvem pesquisas e publicam trabalhos há vários anos. Contudo as autorias dos trabalhos gerados neste projeto necessariamente seguirão a resolução normativa n.º 14 de 8/06/2001, que regulamenta as questões de direitos do autor e daqueles que lhe são conexos, inclusive no que se refere a remuneração do autor do texto de obras intelectuais. Em relação a patentes, todos os produtos químicos, e indutores de resistência já possuem detentores. A Embrapa apenas fará os testes de eficiência regulamentados por contratos de cooperação técnica ou de prestação de serviços conforme os modelos padrão já adotados pela Embrapa.

No caso dos agentes de controle biológico toda a tecnologia é inteiramente da Embrapa Tabuleiros Costeiros sem necessidade de negociação com parceiros.

Quanto aos genes utilizados para transformação do coqueiro, todos os dois já são de domínio público. Contudo o SPRI já foi consultado, informado da existência dos mesmos e que todos os experimentos serão conduzidos nas dependências exclusivas da Embrapa. Isto certamente facilitaria a gestão de qualquer produto gerado. Entretanto, como as construções gênicas estão sendo montadas na Universidade de Nebraska e fornecidas à Embrapa

Tabuleiros Costeiros, já foi solicitado informalmente a SPRI das necessidades de um tipo de cooperação técnica que evite dissabores, de propriedade intelectual entre as duas instituições.

18. RISCOS E DIFICULDADES

Os maiores riscos do projeto residem na disponibilidade financeira para a condução dos ensaios e análises necessárias. Algumas das análises envolvidas no projeto são complexas e requerem um investimento considerável em vários reagentes. A dificuldade de recursos financeiros é ainda maior pelo envolvimento de várias unidades e instituições em diversas ações de pesquisa. Hoje, no sistema SAGER, não é possível repassar dinheiro com facilidade para outra unidade ou instituição. Desse modo, ainda não está claro como será a distribuição financeira, se será por atividade de pesquisa ou por plano de ação. O maior risco do projeto, portanto, pode estar na distribuição dos recursos. Como o projeto resulta de uma demanda crescente por parte da cocoicultura, a probabilidade de rejeição é inexistente.

No que concerne às tecnologias esperadas o sucesso do controle biológico depende da solução de vários problemas: do preparo de grandes quantidade de bioformulações estáveis e ativa, escolha de um substrato nutricional favorável ao antagonista e a metodologia de aplicação. O controle biológico é ainda, um método que não deve ser usado isoladamente, mas como um importante complemento de outras medidas. Essa tecnologia deve entrar em um contexto de equilíbrio biológico, caso contrário, as chances de sucesso são mínimas. A associação de métodos de controle químico e biológico pode ser obtida desde que a população de antagonistas seja menos afetada pelo fungicida que o patógeno. Um importante fato ainda a ser considerado é que diferentemente do químico, o controle biológico, não apresenta efeitos imediatos e espetaculares. O prazo limitado para se obter plântulas transformadas expressando os genes de interesse, são os dois anos estabelecidos pelo projeto. Nos primeiros seis meses do projeto será efetuado o processo de inserção dos genes no coqueiro na Embrapa Tabuleiros Costeiros, já que as construções gênicas foram obtidas junto ao Departamento de Fitopatologia/Centro de Biotecnologia da

Universidade de Nebraska – EUA (Mitra, A.) A taxa de sucesso destas técnicas é muito baixa. Para compensar este risco, estamos disponibilizando os bolsistas do CNPq, que deverão ficar continuamente atuando na biobalística e monitorando seu sucesso por PCR com o apoio de alunos de iniciação científica e aperfeiçoamento. Pretendemos portanto, compensar a baixa frequência de transformação com o aumento massivo no número de explantes bombardeados.

Outro aspecto importante é que toda pesquisa científica é realizada para testar hipóteses. Se a hipótese é rejeitada e não aceita após a realização das atividades, alguma das metas pode não ser alcançada. Contudo isto em nada diminui o valor do conhecimento científico que é naturalmente aprimorado.

19. PARTICIPAÇÃO DA EQUIPE EM OUTROS PROJETOS E FINANCIAMENTOS

A maioria dos membros desta equipe atualmente participa ou já participaram de outros projetos. Contudo esta é a primeira vez que o grupo se une com um único foco, ou seja, a resolução de problemas que tem estrangulado o desenvolvimento da cocoicultura nacional.

Portanto, este projeto e suas atividades ainda não estão sendo financiadas por nenhuma outra fonte. Os recursos solicitados são portanto, fundamentais para a execução do projeto, para estimular a formação deste núcleo de pesquisa que está disposto e possui condições para contribuir com o avanço do conhecimento científico e geração de tecnologias apropriadas à cocoicultura brasileira.

20. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

- AGROFIT. *Bipolaris incurvata*: mancha-púrpura ou mancha-foliar. <http://www.redegoverno.gov.br/defaultcab.asp?url=http://200.252.165.4/agrofit/Probl.Fitossanitarios/PragaseDoencas/Index.htm>. Consultado em, 05 de julho de 2000.
- ARAGÃO, F. J. L., BARROS, L.M.G., BRASILEIRO, A.C.M., RIBEIRO, S.G., SMITH, F.D., SANFORD, J.C., FARIA, J.C. & RECH, E.L. Inheritance of foreign genes in transgenic bean (*Phaseolus vulgaris* L.) co-transformed via particle bombardment. *Theor Appl Genet.* 93:142-150. 1996.
- BEZERRA, J.L. Taxonomia dos fungos causadores da lixa no coqueiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.16, n.2, p.36, 1991.
- BEZERRA, J.L. & FIGUEIREDO, J.M. de Ocorrência de *Phytophthora staheli* Mc Ghee & Mc Ghee em coqueiro (*Cocos nucifera* L.) no Estado da Bahia, Brasil. *Fitopatologia Brasileira* 7:139-143. 1982.
- BOOTH, C. *Fusarium*. Laboratory guide to the identification of the major species. Kew, Surrey, Commonwealth Mycological Institute. 1977.
- DODDS, J.A., & M. BAR-JOSEPH. Double-stranded RNA from plants infected with closteroviruses. *Phytopathology* 73:419-423. 1983.
- DOLLET, M.; LOPES, G.; GENTY, P. & DZIEDO, J.L. Current IRHO research on coconut and oil palm wilts in South America associated with intraphloemic flagellate protozoa (*Phytophthora*). *Oléagineux* 34: 449-452. 1979.
- DUBLE, R.L. Doenças de *Bipolaris* e *Exserohilum* (*Helminthosporium*). www.aggiehorticulture.tamu.edu/plantanswers/turf/publications/Bipolaris.html. 2002.
- ELLIS, M.B.; BEZERRA, J.L.; OLIVEIRA, D.P. Mancha foliar do coqueiro (*Cocos nucifera* L.) causada por *Drechslera incurvata* (Ch. Bernhard). *Fitopatologia brasileira* v.10, n.2, p.228. 1985.
- EMBRAPA Centro de Pesquisa Agropecuária dos Tabuleiros Costeiros. (Aracaju, SE). Recomendações técnicas para o cultivo do coqueiro. Aracaju, 1993. 44p. (Embrapa-CPATC. Circular Técnica, 1).

EUWENS, C.J. Effects of organic nutrients and hormones on growth and development of tissue explants from coconut (*Cocos nucifera*) and date (*Phoenix dactylifera*) palms cultured in vitro. *Physiologia Plantarum*, 42: 173-178. 1978.

FONTES, H.R.; CINTRA, F.L.D.; CARVALHO FILHO, O.M. de. Implantação e manejo da cultura do coqueiro. In: FERREIRA, J.M.S.; WARWICK, D.R.N.; SIQUEIRA, L.A. (Eds.) A cultura do coqueiro no Brasil. 2 ed., Brasília: Embrapa - SPI; Aracaju: Embrapa - CPATC, 1998. 292p.

FRANCO, E. A bactéria do fogo do coqueiro. *Poliagro*, v.1, n.2, p. 16-34, 1976.

FRANCO, E. O fogo do coqueiro. O Estado de São Paulo, 04/05/75 (Suplemento Agrícola 1040). p.16, 1980.

GUERRINI, F.; SEGUR, C.; GARGANI, D.; TIBAYRENC, M. & DOLLET, M. An isoenzyme analyses of the genus *Phytomonas*: Genetic, taxonomic and epidemiologic significance. *Journal of Protozoology* 36:516-521.1992.

HOLLIDAY, R. *Ustilago maydis*. In: Handbook of Genetics. Vol 1. Pp. 575-595. Edited by R.C. King, New York: Plenum Press. 1974.

HUNST, P.L., F.M. LATTERELL & A.E.R. ROSSI. Variation in double-stranded RNA from isolates of *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology* 76:674-678. 1986.

INTERNATIONAL WORKSHOP ON LETHAL YELLOWING LIKE DISEASES OF COCONUT, 1995, Elmina, Ghana. Proceedings: Chathan: N R I, 1995. 308p.

JULIA, J.F. Mise en évidence et identification des insectes responsables des maladies juvéniles du cocotier et du palmier à huile en Côte-d'Ivoire. *Oléagineux*, v. 34, n.8-9. P.385-393. 1979.

JULIA, J.F; MARIAN, D. Deux espèces de *Sogatella* (Homopère Delphacidae) vectrices de la maladie de pourriture sèche du couer de jeunes cocotiers en Cote d'Ivoire. *Oléagineux*, v.37, n.11, p.517-520, 1982.

LEAL, E.C.; LEAL, M. DE L. DA S.; RAM, C.; TUPINAMBÁ, E.A. Avaliação do germoplasma do coqueiro anão quanto a incidência da lixa-pequena *Phyllachora torrendella* e da lixa-grande *Sphaerodothis acrocomiae* em Sergipe. *Agrotropica*, v.9, n.1, p.13-18,1997.

- LEAL, M.de L. da S.; WARWICK, D.R.N. A amostragem na avaliação das lixas do coqueiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira v.35, n. 9,p.1717-1723. 2000.
- LEAL, E.C.; LEAL, M. de L. da S.; TUPINAMBÁ, E.A. Avaliação de coqueiro gigante em relação às lixas (*Phyllachora torrendiella* e *Sphaerodothis acrocomiae*) em Sergipe. Fitopatologia Brasileira v.22, p.275 1997 (Resumo).
- LEAL, E.C.; RAM, C; WARWICK, D.R.N.; LEAL, M.de L. da S. Comportamento de híbridos de coqueiro *Cocos nucifera* em relação à lixa-pequena *Phyllachora torrendiella* e a lixa-grande *Sphaerodothis acrocomiae*. Fitopatologia Brasileira v. 23, p.325-327, 1996.
- LEE, et. al. Phytopathology 83:834-842. 1993.
- LEE, et. al. Int. J. Syst. Bact. 48: 1153-1169. 1998.
- LIRA, R.V.F.; MARIANO, R. de L.R.; MENEZES, M. Detecção de possíveis agentes biocontroladores como componentes da micoflora do filoplano do coqueiro. Anais do 2º Simpósio de Controle Biológico. Brasília, p.131, 1989.
- LOUISE, C.; DOLLET, M. & MARIAN, D. Recherche sur le hartrot du cocotier, maladie à *Phytomonas* (Trypanosomatidae) e sur son vecteur *Lincus sp* (Pentatomidae) en Guyane. Oléagineux 41: 437-440. 1986.
- MAAS, P.W. A coconut abnormality of unknown etiology in Surinam. FAO Plant Protection Bulletin 19: 80-85. 1971.
- MARIANO, R.L.R.; LEAL, E.C. Isolamento e identificação de hiperparasitas da lixa do coqueiro. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 2., Brasília, DF, 1990. Anais. Brasília, EMBRAPA/IBAMA, 1990. p.132.
- MARTINEZ-LOPEZ, G.; JIMENEZ, O. & MENA-TASCON, E. Flagellated protozoans in coconut palms in the South-west of Colombia. Proceedings 4th International Council on Lethal Yellowing. 1979. University of Florida Agricultural Reporter 80:1-17. 1980.
- MENDES, M.A.S.; da SILVA, V.L.; DIANESE, J.C. et al. Fungos em plantas no Brasil. Embrapa-SPI/Embrapa-Cenargen, Brasília. 1998, 555p.

- MONTANO, H.G., BRIOSO, P.S.T., SOUZA FILHO, B.F., SILVEIRA, S.F. Associação de fitoplasma com a podridão seca do coqueiro. *Fitopatologia Brasileira* 27: 198.
- MONTANO, et. al. *Plant Disease* 84:429-436. 2000.
- MOREL G., WELTMORE, R.M. Fern callus tissues culture. *Am. J. Bot.* 38:141-143. 1951 b.
- MOREL G., WELTMORE, R.M. Tissues culture of monocotyledonous. *Am. J. Bot.* 38:138-140. 1951 a.
- OHLER, J.G. El cocotero árbol de vida. F.A.O., Roma, 1986. 347p.
- OLIVEIRA, D.P.; BEZERRA, J.L.; CARVALHO, A R. Competição de fungicidas no controle da lixa do coqueiro. *Fitopatologia. Brasileira*, v. 9, p.521-524, 1984.
- PLOETZ, R.; HARRISON, N.; JONES, E.P. Doenças do coqueiro (*Cocos nucifera* L.), <http://www.scisoc.org/resource/common/names/coconut.htm> (2002).
- QUILLEC, G.; MORIN, J.P.; RENARD, J.L.; MARIAN, D. Les maladies du cocotier dans le jeune âge, causes, méthodes de lutte. *Oléagineux* v.33, p. 495-501. 1978.
- QUILLEC, G.; RENARD, J.L. L'Helminthosporiose du cocotier, études préliminaires. *Oléagineux*, v. 30, n.5, p.205-213, 1975.
- RADHA, K.; LAL, S.B. Some observations on the occurrence of Leaf rot disease of coconut and the associated factors. Third Session FAO Technical working party on coconut production, protection and processing. Djakarta. 108p. 1968.
- RAEDER, U. & BRODA, P. Rapid preparation of DNA from filamentous fungi. *Letters in Applied Microbiology* 1: 17-20. 1985.
- RAM, C. Epidemiologia e controle químico da queima das folhas (*Botryodiplodia theobromae*) do coqueiro (*Cocos nucifera*). *Fitopatologia. Brasileira*., Brasília, v. 14, n. ¾, p.215-220, 1989.

- RAM, C. Micoflora associada à queima das folhas do coqueiro. Fitopatologia Brasileira., Brasília, v.14, n.1, p. 36-38, 1989 .
- RAM, C.; LEAL, E.C. Determinação da época e do número de aplicações de fungicidas no controle da queima-das-folhas (*Botryodiplodia theobromae*) do coqueiro (*Cocos nucifera*). Fitopatologia Brasileira, v.15, n.3, p.229-231, 1990
- RAM, C.; LEAL, E.C.; VIEIRA, J.C. Mancha-foliar-helminthosporiose em coqueiro (*Cocos nucifera* L.): ocorrência e efeito de tratamento químico no controle da doença em Umbaúba-Sergipe. In: XXIX CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA. Campo Grande, MS. 1996, p.378 (Resumo).
- RAM. C. Eficiência do controle químico da queima das doenças foliares em coqueiro (*Cocos nucifera*) em Sergipe. Fitopatol bras. v.20, p. 248-250, 1995.
- RENARD, J. L Mission defense des cultures au Bresil – Les problèmes sanitaires sur cocotier. CIRAD/IRHO, Paris, 52p. 1990. (IRHO. Documentos, 2266).
- RENARD, J.L. Estudo das doenças do dendê e do coqueiro. A – O coqueiro: situação sanitária, estado dos conhecimentos, programa de pesquisas. Paris, IRHO, 1985. 38p. (IRHO. Documentos, 1955).
- RENARD, J.L. Missão de prospecção sobre as doenças do coqueiro e da palmeira oleaginosa no Brasil. Paris IRHO/GERDAT, 85p. 1982. (IRHO. Doc. 1733).
- RENARD, J.L. Rapport mission defense des cultures au Brésil-cocotier, Paris: IRHO, 1988, 26p.
- RENARD, J.L. Le Hartrot du cocotier: caracterisation et moyens de lutte. Oléagineux 44: 475-484.1989.
- RENARD, J.L.; QUILLEC, G.; ARNAUD, F. Une nouvelle maladie du cocotier en pepenière: symptômes , moyens de lutte. Oléagineux v. 30, p. 109-112, 1975.
- RESENDE, M.L.; COELHO, J. A .;BEZERRA, J. L Seleção de fungicidas para o controle da lixa pequena do coqueiro. Revista Theobromae. v.18, n.3, p. 217-223, 1988.

ROBBS, C.F.; COSTA, J.M.; CHIACCHIO, F.P.B.; SHARMA, R.D.; ALVIM, R. Relatório do grupo de pesquisa sobre a queima das folhas do coqueiro. Aracaju, EMBRAPA, 1975. 8p.

ROHLF, J.F. Numerical taxonomy and multivariate system. Version 1.80. 1993.

RYAN, E.C. American, Journal Botanical. 30:784-799. 1943.

SANTOS, J.R.M. Curso Internacional de produção de hortaliças: tecnologia de seleção para resistência às principais doenças do tomateiro. Embrapa/ Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças-CNPH. 22p., 1995 (Apostila).

SIQUEIRA, L.A. de; SIQUEIRA, E.R. de; RIBEIRO, F.E. Comportamento de híbridos de coqueiro no Nordeste do Brasil. Plantation Recherche Development v.2, n.1, p.48-53. 1995.

SNEATH, P.H.A. & R.R. SOKAL. Numerical taxonomy. W.H. Freeman, San Francisco. 1973.

SNYDER, W.C. A Report on the leaf blight disease of coconut palms in Northeast Brazil. S.N. T., 1979. 8p.

SOUZA FILHO, B.F. DE; SANTOS FILHO, H.P.; ALMEIDA, E.M. DE; LIMA, M.F. DE. Avaliação de fungicidas no controle da " queima das folhas" do coqueiro (*Cocos nucifera* L). Pesquisa. Agropecuária. Brasileira. v.13, n.1, p.27-31, 1978.

SOUZA FILHO, B.F., SANTOS FILHO, H.P.; ROBBS, C.F. Etiologia da queima das folhas do coqueiro. Fitoptol. bras. v.4. p.5-10, 1979

SUBILEAU, C. Systématique et biologie du complexe parasitaire constitué du *Phyllachora torrendiella* (Bat.) nov. comb. et du *Botryosphaeria cocogena* nov. sp., agents fongiques du dessèchement foliaire du cocotier au Brésil. Tese doutorado. Paris, Université de Paris VI, 121p. 1993.

SUBILEAU, C.; RENARD, J.L.; DENNETIERE, B. *Phyllachora torrendiella* (Batista) comb. nov. responsable de la maladie verruquense du cocotier. Mycotaxon, v. 49, p.175-185. 1993.

SUDO, S.; OLIVEIRA, G.H.W.; VITALIS, W.; CAVALCANTE, E.B. Controle biológico de *Catacauma torrendiella* e *Coccostroma palmicola*, agentes da lixa do coqueiro. Fitopatologia. Brasileira, v.13, n.2, p.112, 1988.

SUDO, S.; OLIVEIRA, G.H.N.; VITALIS, W. CAVALCANTE,E.B. Controle biológico de *Catacauma torrendiella* e *Coccostroma palmicola*, agentes da lixa preta do coqueiro. Fitoptol. bras. v.13, p.112, 1988.

TUITE, J. Plant pathological methods. Minneapolis, Minn., Burges Publishing Company. 1969. 239p.

UCHIDA, J.Y. *Bipolaris incurvata*: Leaf spot and blight of coconut, *Cocos nucifera*.http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/b_incur.htm. 2002.

VAN SLOBBE, W.O.; PARTHASARATHY, M.V. & HESEN, J.A.J. Hartrot fatal wilt palms. II. Oil palm (*Elaeis guineensis*) and other palms. Principes 22: 15-25.1978.

VIÉGAS , A.P. Três fungos encontrados no Brasil. Bragantia v.20, n.15, p. 529-536. 1961.

WARWICK, D.R.N. Principais doenças do coqueiro (*Cocos nucifera* L.) no Brasil. Aracaju:EMBRAPA-CNPCo. 1989. 26p. (EMBRAPA.CNPCo. Documentos, 10).

WARWICK, D.R.N.; LEAL, E.C. Ciclo evolutivo da lixa-grande do coqueiro. Agrotrópica, v.11, n.1, p. 41-44, 1999.

WARWICK, D.R.N.; LEAL, E.C. Occurrence of coconut lixas in Brazilian native palms trees in the North Eastern coastal plain region. Palms, v.44, n.1, p. 9-13, 2000.

WARWICK, D.R.N. ; LEAL, E.C. Avaliação de fungos hiperparasitas para o controle biológico das lixas do coqueiro. In: SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO, 4. , Gramado, RS, 1994. Anais: Sessão de posteres, Pelotas-RS, 1994. p.64.

WARWICK, D.R.N. 1999. Fatores que influenciam a ocorrência da podridão seca do coqueiro.Pesquisa em andamento, CPATC n 69, p. 1 3

WARWICK, D.R.N. Ocorrência e medidas de combate da doença podridão seca do coqueiro no Platô de Neópolis, Sergipe v.10, n.1, p.43-46,1998.

WARWICK, D.R.N., MOURA, J.I.L., LEAL, M. de, S. da. Eficiência do manejo integrado na redução da murcha de phytomonas em coqueiro anão amarelo. *Agrotropica* v.11, n.3, 117-120, 1999.

WARWICK, D.R.N.; LEAL, E.C.; RAM, C. Doenças do coqueiro. In: FERREIRA, J.M.S.; WARWICK, D.R.N.; SIQUEIRA, L.A. (Eds.) A cultura do coqueiro no Brasil. 2 ed., Brasília: Embrapa - SPI; Aracaju: Embrapa – CPATC, 1998. 292p.

WARWICK, D.R.N.; RENARD, J.L.; BLAHA, G. La "queima das folhas" du cocotier. *Plantations, recherche, développement*, v.1, n.2, p.57-62,1994.

WARWICK, D.R.N. 1998. Ocorrência e medidas de controle da podridão seca do coqueiro no Platô de Neópolis, Sergipe. *Agrotropica* 10(1) 43 46.

WATERS, H. Wilt disease of coconuts in Trinidad. *Proceedings 3rd International Council on Lethal Yellowing*, 1977. University of Florida Agricultural Research Reporter 78: 1-33 (Abstract) 1978.

WHITE, T.J., BRUNS, T.D., LEE, S. & TAYLOR, J.W. Amplification and sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J. (Eds.). *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. San Diego. Academic Press, Inc. 1990. pp. 315-322. 1990.

XAVIER, M. A; MARIANO, R. de L.R. Isolamento de bactérias epifíticas do filoplano do coqueiro, possíveis biocontroladores das lixas. *Fitopatologia Brasileira*. Brasília, v.17, n.2, p.216, XXV Congresso Brasileiro de Fitopatologia. 1992.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Este projeto é acima de tudo uma demanda da cocoicultura nacional. Sua aprovação é essencial, pois inexistia no sistema Embrapa ou mesmo fora dele qualquer projeto financiado objetivando o controle e manejo das doenças do coqueiro, que são responsáveis pelo fato da cultura estar subsistindo com 50% do seu potencial produtivo. Vem também a corroborar a importância deste Projeto a recente aprovação do GECEX (grupo executivo de comércio exterior), das "medidas de salvaguarda" para a importação do coco, a vigorar a partir de primeiro de setembro de 2002. Por esta medida fica limitada a 3900 ton/ano a importação de coco pelo Brasil, sendo esta quota monitorada pelo seotr a cada 60 dias, sobre a qual incidirá ainda uma sobretaxa de 50%, durante um período de 10 anos. Portanto torna-se necessário que sejam cumpridas por nosso setor produtivo as medidas de recuperação e renovação dos nossos coqueiros, previstas e encaminhadas ao ministério da Indústria e Comércio, como contraparte dos nossos produtores para adequação dos nossos atuais sistemas de produção, onde se prevê a renovação e recuperação do coqueiral destinado à indústria. Se considerarmos que o consumo atual das indústrias é de 2600 ton/ano de coco ralado, poderemos prever para breve um aquecimento de preço do coco, com reflexos positivos em nossa economia, sobretudo para o produtor. É portanto muito importante que seja efetuado o saneamento dos pontos de estrangulamento do potencial produtivo da cocoicultura nacional, onde certamente as doenças objeto de estudo neste projeto tem papel primordial.

PLANO DE AÇÃO

Identificação

Número identificador: 01

Título identificador: Desenvolvimento de técnicas apropriadas à manipulação e ao estudo da variabilidade genética dos agentes causais das principais doenças foliares do coqueiro.

Data de início: março de 2003

Duração: 24 meses

Pesquisador responsável: Jefferson Luis da Silva Costa

Descrição

Este plano permitirá aprimorar o conhecimento científico da etiologia das doenças foliares do coqueiro, esclarecendo a variabilidade genética dos agentes causais para reorientação das medidas e estratégias de controle. O cultivo de *Phyllachora torrendiella* e *Sphaerodothis acrocomiae* em meio artificial, é fundamental para aumentar as alternativas a serem utilizadas para o desenvolvimento de métodos de inoculação e reprodução de sintomas das doenças foliares em condições controladas. Estas por sua vez necessitam ser bem desenvolvidas de forma eficientes para permitir o sucesso da caracterização da variabilidade genética dos agentes causais da queima das folhas, das lixas do coqueiro, e de espécies de *Phyllachora* e *Sphaerodothis* parasitas de palmeiras nativas, uma vez que esta atividade, prevê testes de virulência, que implicam na inoculação e reprodução de sintomas.

Objetivos

Cultivar os agentes causais das lixas do coqueiro *Phyllachora torrendiella* e *Sphaerodothis acrocomiae* em meio artificial

Desenvolver métodos de inoculação para reprodução de sintomas das doenças foliares em condições controladas

Caracterizar a variabilidade genética dos agentes causais da queima das folhas, das lixas do coqueiro, e de espécies de *Phyllachora* e *Sphaerodothis* parasitas de palmeiras nativas.

Metas

↳ Meta 1

Descrição da meta: ter a adaptação de meios de cultivo sintético ou artificial para manipulação de *Phyllachora torrendiella* e *Sphaerodothis acrocomiae*

Tempo em que dever ser alcançada: 6 meses

↳ Meta 2

Descrição da meta: viabilizar o desenvolvimento de metodologias para inoculação, reprodução dos sintomas das lixas, queima das folhas e helmintosporiose, que permitirá testar em condições controladas o germoplasma para resistência a doenças, fazer screening de fungicidas e de agentes de controle biológico, antes de levar ao campo.

Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses.

↳ Meta 3

Descrição da meta: Caracterizar a variabilidade genética dos agentes causais da queima das folhas, das lixas do coqueiro, e de espécies de *Phyllachora* e *Sphaerodothis* parasitas de palmeiras nativas através de técnicas moleculares na qual permitirá o redirecionamento nas medidas de controle das doenças.

Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses

Atividades

↳ Atividade de Pesquisa 1

Cultivo de *Phyllachora torrendiella* e *Sphaerodothis acrocomiae* em meio artificial

Responsável: Jefferson Luis da Silva Costa

↵ Atividade de pesquisa 2

Desenvolvimento de métodos de inoculação para reprodução de sintomas das doenças foliares em condições controladas

Responsável: Jefferson Luis da Silva Costa

↵ Atividade de pesquisa 3

Caracterização da variabilidade genética dos agentes causais das lixas do coqueiro e da queima das folhas

Responsável: Jefferson Luis da Silva Costa

↵ Atividade de pesquisa 4

Caracterização etiológica e molecular de espécies de *Phyllachora* e *Sphaerodothis* parasitas de palmeiras nativas

Responsável: José Luis Bezerra

Cronograma do Plano de Ação

Cultivo de *Phyllachora torrendiella* e *Sphaerodothis acrocomiae* em meio artificial

Início: março 2003

Duração: 6 meses

Desenvolvimento de métodos de inoculação para reprodução de sintomas das doenças foliares em condições controladas

Início: março 2003

Duração: 24 meses

Caracterização da variabilidade genética dos agentes causais da queima das folhas e das lixas do coqueiro

Início: janeiro 2003

Duração: 24 meses

Caracterização etiológica e molecular de espécies de *Phylachora* e *Sphaerodothis* parasitas de palmeiras nativas.

Início: março 2003

Duração: 24 meses

Equipe completa

Responsável pelo plano de ação: Jefferson Luis da Silva Costa

Responsáveis pelas atividades: Jefferson Luis da Silva Costa e José Luis Bezerra

Colaborador: Karina Peres Gramacho

Identificação

Número identificador: 002

Título identificador: Alternativas de controle para manejo integrado das doenças foliares

Data de início: Março de 2002

Duração: 24 meses

Pesquisador responsável: Edna Castilho Leal

Descrição

Este plano de ação deverá gerar um sistema de previsão de doença e desenvolver tecnologias que permitam efetuar o seu controle biológico e químico. Espera-se desenvolver metodologias que permitam a captura de esporos em função do vento dominante, com o propósito de determinar os

picos de disseminação. Os resultados serão correlacionados com os dados climáticos e após interpretação das devidas correlações serão estabelecidos modelos simples de previsão de doenças para orientar os produtores sobre a época mais adequada de pulverização.

Neste plano de ação propõe-se ainda a busca de novas moléculas químicas que serão testados quanto a sua eficiência no controle das principais doenças foliares. Os fungicidas dos grupos dos triazóis (tebuconazole e difenoconazole) thiabendazóis (tiofanato metílico e carbendazim) e as estrubirulinas (azoxystrobim e F500) serão testados em condições controladas e de campo. E para desenvolver o controle biológico, os diferentes hiperparasitas isolado de estromas das líxas serão avaliados quanto a sua capacidade de impedir a evolução das doenças foliares do coqueiro. Espera-se com isso a integração destes conhecimentos se utilizados de forma racional colaborar para minimização das perdas de até 50% do potencial produtivo da cultura, causadas por estas doenças.

Objetivos

Conhecer a epidemiologia dos agentes causais das doenças foliares com auxílio de armadilhas de capturas de esporos e desenvolver um modelo básico de previsão de doenças correlacionado a fatores climáticos.

Testar e disponibilizar aos produtores duas novas moléculas químicas menos danosas ao ambiente, que usem um menor volume de água e que sejam mais eficientes no manejo das principais doenças foliares.

Caracterizar a eficiência de pelo menos três hiperparasitas no controle biológico das líxas definindo época ideal de aplicação além de disponibilizar um método adequado para produção de inoculo.

Metas

↳ Meta 1

Descrição da meta: Descobrir as épocas predominantes de liberação dos esporos dos agentes causais das três doenças foliares e desenvolver um sistema de previsão em função de correlações climatológicas.

Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses

↳ Meta 2

Descrição da meta: Disponibilizar pelo menos duas moléculas químicas eficientes e menos danosas ao ambiente para o controle das doenças foliares.

Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses.

↳ Meta 3

Descrição da meta: Caracterizar a eficiência de 3 hiperparasitas no controle biológico das lixas do coqueiro.

Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses

Atividades

↳ Atividade de Pesquisa 01

Consiste no estudo da epidemiologia que permitirá o desenvolvimento do sistema de previsão de doenças identificando o momento apropriado para pulverizações

Responsável: Jefferson Luis da Silva Costa

↳ Atividade de pesquisa 02

Testará novos produtos visando a caracterização de moléculas químicas mais eficientes no controle das lixas e queima das folhas do coqueiro.

Responsável: Edna Castilho Leal

↳ Atividade de pesquisa 03

Seleção de fungicidas para o controle da Helminthosporiose do coqueiro

Responsável: Edna Castilho Leal

↳ Atividade de pesquisa 04

Testará o controle biológico das lixas grande e pequena com hiperparasitas

Responsável: Dulce Regina Nunes Warwick

Cronograma do Plano de Ação

Epidemiologia e desenvolvimento de um sistema de previsão para doenças foliares

Início: outubro 2002

Duração: 24 meses

Caracterização de moléculas químicas eficientes no controle das lixas e queima das folhas

Início: janeiro 2003

Duração: 24 meses

Seleção de fungicidas para o controle da Helminthosporiose

Início: julho 2003

Duração: 12 meses

Controle biológico das lixas com hiperparasitas

Início: setembro 2003

Duração: 24 meses

Equipe completa

Responsável pelo plano de ação: Edna Castilho Leal

Responsável pelas atividades: Edna Castilho Leal

Dulce Regina Nunes Warwick, Jefferson Luis da Silva Costa

Colaborador: José William Veras

Identificação

Número identificador: 003

Título: Prospecção etiológica e epidemiológica da podridão seca

Data de início: março 2003

Duração: 24 meses

Pesquisador responsável: Dulce Regina Nunes Warwick

Descrição

A podridão-seca é um dos principais problemas a ser resolvido para viabilizar a exploração do coqueiro irrigado em regiões onde esta palmácea começa a ser explorada. No Brasil, quase não se conhece sobre esse patógeno, poucos trabalhos científicos foram publicados, embora a ocorrência seja generalizada do Rio de Janeiro até o do Pará. O número de plantas afetadas varia muito mas em alguns casos observou-se perdas na ordem de 90%. O agente etiológico ainda não foi determinado, nem o modo de transmissão ou plantas nativas que sirvam como reservatório natural da doença. A podridão-seca é uma doença letal ao coqueiro jovem e atualmente constitui-se um dos maiores desafios para a pesquisa de coco no Brasil. Esse trabalho visa gerar conhecimento científico para os projetos de coqueiro-anão irrigado, que utilizam modernas tecnologias, mas onde o número de plantas mortas e o uso indiscriminado de defensivos agrícolas tem causado um desestímulo na implantação de novos cultivos. Assim, neste plano de ação deverá conter atividades que consiste na prospecção etiológica e epidemiológica da Podridão Seca o qual permitirá identificar o agente causal transmissor e hospedeiros alternativos da Podridão Seca do coqueiro.

Objetivos

Descobrir o agente etiológico da podridão-seca-do-coqueiro por métodos convencionais e moleculares

Identificar os insetos vetores da podridão-seca e comprovar a transmissão

Caracterizar as plantas daninhas e cultivadas que possam ser reservatórios do agente causal da podridão-seca (hospedeiros intermediários)

Metas

↳ Meta 01

Descrição da Meta: identificar o agente causal da podridão seca

Tempo em que deve ser alcançada: 24 meses

Meta 2

Descrição da Meta: Identificar e caracterizar dois insetos transmissores e possíveis hospedeiros intermediários do agente causais da Podridão Seca do Coqueiro

Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses.

Atividades

↳ Atividade de pesquisa 1

Consistirá na identificação de fungos e bactérias que serão isolados de plantas com sintomas.

Responsável: Dulce Warwick

↳ Atividade de pesquisa 02

Efetuar-se-á a análise molecular de plantas apresentando sintomas da doença, bem como possíveis hospedeiros alternativos e possíveis insetos transmissores considerando a hipótese que a doença seja de natureza viral.

Responsável: Jefferson Luis da Silva Costa

↳ Atividade de Pesquisa 3

Efetuar-se-ão testes de transmissão de possíveis insetos vetores que estão associados com coqueiros em áreas afetadas pela doença, bem como investigar-se-à os possíveis hospedeiros alternativos

Responsável: Dulce Warwick

Cronograma de ação

Prospecção de fungos e bactérias

Início: março 2003

Duração: 6 meses

Análise molecular para prospecção de vírus e identificação de hospedeiros

Início: março 2003

Duração: 24 meses

Testes de transmissão com insetos vetores

Início: março 2003

Duração: 24 meses

Equipe Completa

Responsável pelo plano de ação: Dulce Warwick

Responsáveis por atividade: Jefferson Costa, Dulce Warwick

Colaboradores: Edna Leal, Miguel Michereff Filho

Dados Pessoais

Nome completo: Miguel Michereff Filho

Titularidade máxima: D.Sc.

CPF: 719419249 - 72

E-mail: miguel@cpatc.embrapa.br

Telefone: 79 226 1364,

Plano(s) de Ação/ Função: colaborador

Atividade(s): colaborador

Identificação

Número identificador: 004

Título identificador: Identificação e Controle de Potenciais Patógenos de Pós-Colheita no Fruto do Coqueiro.

Data de início: Março de 2003

Duração: 24 meses

Pesquisador responsável: Francisco Marto Pinto Viana

Descrição

Este plano de ação deverá determinar a vida útil de prateleira do fruto do coqueiro sob diferentes condições de armazenagem, identificando os microrganismos patogênicos e os potenciais patógenos, testando também métodos para sua profilaxia. Quatro atividades foram preconizadas: 01) prospecção de patógenos potenciais; 02) teste da sensibilidade dos patógenos à produtos naturais e agroquímicos; 03) desenvolvimento de tecnologias para proteção dos frutos contra patógenos; 04) avaliação do controle das doenças nas características físico-químicas e sensoriais dos frutos do coqueiro.

Objetivos

Efetuar o levantamento e a identificação de microrganismos patogênicos e os potenciais patógenos

Testar a sensibilidade dos patógenos à produtos naturais e agroquímicos

Desenvolver tecnologias para proteção dos frutos contra patógenos

Avaliar o controle das doenças nas características físico-químicas e sensoriais dos frutos do coqueiro

Metas

Meta

Descrição da meta: Este plano de ação deverá determinar a vida útil de prateleira do fruto do coqueiro sob diferentes condições de armazenagem, identificando os microrganismos patogênicos e os potenciais patógenos, testando também métodos para sua profilaxia.

Tempo em que dever ser alcançada: 6 meses

Atividades

Atividade de Pesquisa 01:

Prospecção de patógenos potenciais

Responsável: Francisco das Chagas Oliveira Freire

Atividade de pesquisa 02:

Teste da sensibilidade dos patógenos à produtos naturais e agroquímicos

Responsável: Francisco Marto Pinto Viana

Atividade de pesquisa 03:

Desenvolvimento de tecnologias para proteção dos frutos contra patógenos

Responsável: Francisco das Chagas Oliveira Freire

Atividade de pesquisa 04:

Avaliação do controle das doenças nas características físico-químicas e sensoriais dos frutos do coqueiro

Responsável: Francisco Marto Pinto Viana

Cronograma do Plano de Ação:

Prospecção de patógenos potenciais

Início: Março 2003

Duração: 12 meses

Teste da sensibilidade dos patógenos à produtos naturais e agroquímicos

Início: Março 2003

Duração: 12 meses

Desenvolvimento de tecnologias para proteção dos frutos contra patógenos

Início: janeiro 2004

Duração: 12 meses

Avaliação do controle das doenças nas características físico-químicas e sensoriais dos frutos do coqueiro

Início: janeiro 2004

Duração: 18 meses

Equipe completa:

Responsável pelo plano de ação: Francisco Marto Pinto Viana

Responsável pelas atividades: Francisco Marto Pinto Viana e Francisco das Chagas Oliveira Freire

Identificação

Número identificador: 005

Título identificador: Em busca de resistência às principais doenças do coqueiro

Data de início: Março de 2003

Duração: 24 meses

Pesquisador responsável: Jefferson Luis da Silva Costa

Descrição

Com este plano de ação espera-se em quatro atividades independentes, criar condições para através de aprimoramentos metodológicos e de estratégias de seleção proporcionar avanços tecnológicos que possam contribuir para o controle de doenças através da piramidização de genes do coqueiro. Nas atividades já previstas desenvolver-se-á uma metodologia para seleção de resistência do coqueiro à helmintosporiose, doença com potencial crescente na cultura do coqueiro; testar-se-á eficiência de indutores fisiológicos de resistência que poderão resultar na redução de fungicidas ou até sua eliminação; far-se-á inserção de transgenes no coqueiro com potencial de conferir resistência às doenças foliares; e por fim, buscar-se-á identificar fontes de resistência natural no campo à Murcha de *Phytophthora*, doença endêmica à algumas regiões produtoras da Bahia.

Objetivos

Buscar fontes de resistência natural às algumas das doenças do coqueiro, nas principais regiões produtoras do Brasil

Transformar o coqueiro incorporando transgenes com potencial para conferir resistência múltipla às doenças

Testar a eficiência de produtos fisiológicos industriais quanto à sua capacidade de induzir resistência sistêmica no coqueiro às principais doenças foliares

Metas

↳ Meta 1

Descrição da meta: Desenvolvimento de duas técnicas de inoculação para *Helminthosporium* para avaliação do germoplasma do coqueiro quanto a resistência às doenças que estes causam

Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses

↵ Meta 2

Descrição da meta: Transformar o coqueiro incorporando genes com potencial para conferir resistência ao coqueiro.

Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses.

↵ Meta 3

Descrição da meta: Caracterizar a eficiência de um indutor de resistência no controle de pelo menos duas doenças.

Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses.

↵ Meta 4

Descrição da meta: Selecionar a nível de campo plantas com resistência natural a *Phytophthora*.

Tempo em que dever ser alcançada: 24 meses

Atividades

↵ Atividade de Pesquisa 1

Desenvolvimento de uma metodologia de inoculação e seleção de resistência do coqueiro à helmintosporiose

Responsável: Jefferson Luis da Silva Costa

↵ Atividade de pesquisa 2

Testar produtos fisiológicos

Responsável: Edna Castilho Leal

↵ Atividade de pesquisa 3

Inserção de transgenes no coqueiro com potencial de conferir resistência às doenças foliares

Responsável: Jefferson Luis da Silva Costa

↪ Atividade 4

Busca de fontes de resistência à *Phytomonas*

Responsável: José Inácio Lacerda Moura

Cronograma do Plano de Ação:

Desenvolvimento de uma metodologia de inoculação e seleção de resistência do coqueiro à helmintosporiose

Início: Março 2003

Duração: 18 mese

Teste de indutores fisiológicos de resistência sistêmica à doenças

Início: Março 2003

Duração: 24 meses

Inserção de transgenes no coqueiro com potencial de conferir resistência às doenças foliares

Início: Março 2003

Duração: 36 meses

Busca de fontes de resistência à *Phytomonas*

Início: Março 2003

Duração: 24 meses

Equipe completa:

Responsável pelo plano de ação: Jefferson Luis da Silva Costa

Responsável pelas atividades: Jefferson Luis da Silva Costa, José Inácio Lacerda Moura, Wilson Aragão

Colaboradores: Francisco José Lima Aragão

José William Veras

Identificação

Número identificador: 006

Título identificador: Gestão do projeto

Data de início: Março 2003

Duração: 24 meses

Pesquisador Responsável: Jefferson Luis da Silva Costa

Descrição

A gestão eficiente do projeto será de fundamental para seu sucesso, uma vez que o mesmo congrega vários pesquisadores dentro de três Unidades da Embrapa (Embrapa Tabuleiros Costeiros, Embrapa Agroindústria Tropical, Embrapa Recursos Genéticos), além de uma instituição parceira Ceplac/Cepec. As principais ações da gestão incluem as seguintes atividades:

O líder do projeto fará reuniões técnicas semestrais com os responsáveis pelos planos de ações para analisar o desenvolvimento do projeto, de modo a dirimir eventuais dúvidas e formular ajustes.

Será ainda viabilizado um banco de dados com informações sistematizadas de cada plano de ação (atividades, cronograma, relatórios financeiros, dados e prazos de relatórios técnicos), hospedado na homepage da Embrapa Tabuleiros Costeiros e acessado pela equipe através de login e senha previamente estabelecidos; esses procedimentos objetivam o eficaz acompanhamento e supervisão de todas as atividades planejadas, visando ao alcance dos objetivos propostos pelos planos de ação.

As ações de difusão serão coordenadas por este plano de ação bem como sua intensa divulgação na mídia quando pertinente.

Ao final do projeto será realizado um workshop envolvendo os técnicos responsáveis, representantes da indústria do coco e representantes de associações de produtores para avaliar e discutir os resultados das ações

implantadas nesse projeto de pesquisa, (bolsistas e estudantes) bem como seus possíveis desdobramentos de continuidade, novas pesquisa ou aplicabilidade futura.

Objetivo

Gerir o Projeto através do acompanhamento técnico de sua execução, compilar sua base de dados e coordenar suas ações de difusão.

Metas

↳ Meta 1

Descrição da Meta: Acompanhamento técnico da execução das atividades propostas no Projeto;

Tempo em que deve ser alcançada: 24 meses

↳ Meta 2

Descrição da Meta: Compilar um banco de dados do Projeto

Tempo em que deve ser alcançada: 24 meses

↳ Meta 3

Descrição da Meta: Ter ações de difusão coordenadas

Tempo em que deve ser alcançada: 24 meses

Atividades

Atividade de gestão 1

Acompanhamento da execução das atividades de pesquisa

Responsável: Jefferson Luis da Silva Costa

Atividade de gestão 2

Compilação da base de dados do projeto

Responsável: Jefferson Luis da Silva Costa

Atividade de gestão 3

Coordenação das ações de difusão

Responsável: Jefferson Luis da Silva Costa

Cronograma do Plano de Ação

Acompanhamento da execução das atividades propostas

Início: Março 2003

Duração: 24 meses

Compilação da base de dados do Projeto

Início: Março 2003

Duração: 24 meses

Coordenação das ações de difusão

Início: março 2003

Duração: 24 meses

Equipe Completa

Responsável por plano de ação: Jefferson Luis da Silva Costa

Colaboradores: José Luiz Bezerra

Karina Peres Gramacho

Wilson Aragão

Dulce Regina Nunes Warwick

Francisco Chagas Oliveira Freire

Francisco Marto Pinto Viana

Edna Castilho Leal

José William Veras

Francisco José Lima Aragão

José Inácio Lacerda Moura

Equipe Completa do Projeto

1. Nome completo: Jefferson Luis da Silva Costa

Titularidade máxima: Ph.D., Fitopatologia.

CPF:225620951-20

E-mail: jcosta@cpatc.embrapa.br

Telefone:(79) 226-1359

Unidade de origem:

Embrapa Tabuleiros Costeiros

Planos de ação: 01, 02, 03, 05, 06

Funções: Líder, responsável por planos de ação e atividades.

2. Nome completo: José Luiz Bezerra

Titularidade máxima: Ph.D., Fitopatologia.

CPF: 006920004-10

Instituição ou Unidade: CEPLAC/CEPEC/SEFIT

E-mail: jlbezerra@cepec.gov.br

Telefone: (73) 214-3279-R25

Plano(s) de Ação: 01

Função(ões): Responsável por atividades

3. Nome completo: Karina Peres Gramacho

Titularidade máxima: Ph.D., Biologia Molecular

CPF: 291034795-87

Instituição ou Unidade: CEPLAC/CEPEC/SEFIT

E-mail: karina@cepec.gov.br

Telefone: (73) 214-3279

Plano(s) de Ação: 01

Função(ões): Colaboradora

4. Nome completo: Wilson Aragão

Titularidade máxima: Ph.D., Genética e Melhoramento

CPF: 051887155 - 68

Instituição ou Unidade: Embrapa Tabuleiros Costeiros

E-mail: wilson@cpatc.embrapa.br

Telefone: 226-1365

Plano(s) de Ação: 05

Função(ões): Colaborador.

5. Nome completo: Dulce Regina Nunes Warwick

Titularidade máxima: Ph.D., Fitopatologia

CPF: 141 875 580 04

Instituição ou Unidade: Tabuleiros Costeiros

E-mail: dulce@cpatc.embrapa.br

Telefone: 079 226 1364

Plano(s) de Ação: 02

Função(ões): Responsável por plano de ação e atividades.

6. Nome completo: Francisco Chagas Oliveira Freire

Titularidade máxima: Ph.D., Fitopatologia

CPF: 031887103 - 30

Instituição ou Unidade: Embrapa Agroindústria Tropical

E-mail: francisco@cpat.embrapa.br

Telefone: 079 229 1856

Plano(s) de Ação: 04

Função(ões): Responsável por atividades.

7. Nome completo: Francisco Marto Pinto Viana

Titularidade máxima: Dr., Fitopatologia

CPF: 104908253 - 20

Instituição ou Unidade: Embrapa Agroindústria Tropical

E-mail: fmpviana@cnpat.embrapa.br

Telefone: 079 299 1862

Plano(s) de Ação: 04

Função(ões): Responsável por plano de ação e atividades.

8. Nome completo: Edna Castilho Leal

Titularidade máxima: MSc., Fitopatologia.

CPF: 095.879.424-34

Instituição ou Unidade: Embrapa Tabuleiros Costeiros

E-mail: edna@cpatc.embrapa.br

Telefone: (79) 226-1332

Plano(s) de Ação: 01, 02

Função(ões): Responsável por plano de ação e atividades.

9. Nome completo: José William Veras

Titularidade máxima: MSc., Fitopatologia.

CPF: 081807843 - 04

Instituição ou Unidade: Embrapa Tabuleiros Costeiros

E-mail: jwilliam@cpatc.embrapa.br

Telefone: (82) 261-1322

Plano(s) de Ação: 02

Função(ões): Colaborador

10. Nome completo: Francisco José Lima Aragão

Titularidade máxima: Dr., Biologia Molecular

CPF: 308609971-20

Instituição ou Unidade: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia –
Laboratório de Expressão de Genes

E-mail: aragão@cenargen.embrapa.br

Telefone: (61) 448 4642

Plano(s) de Ação: 05

Função(ões): Colaborador

11. Nome completo: José Inácio Lacerda Moura

Titularidade máxima: MSc., Entomologia

CPF: 379729447 - 68

Instituição ou Unidade:

E-mail: jinaciolacerda@uol.com.br

Telefone: (73) 236 2028

Plano(s) de Ação: 05

Função(ões): Responsável por atividades

12. Nome completo: Miguel Michereff Filho

Titularidade máxima: DSc.

CPF: 719419249 - 72

E-mail: miguel@cpatc.embrapa.br

Telefone: 79 226 1364/226 1347

Plano(s) de Ação: 02

Função: colaborador

Instituições Participantes

Sigla: EMBRAPA-CPATC

Nome completo: Embrapa Tabuleiros Costeiros

CGC: 00348003/0136-03

Dirigente: Lafayette F. Sobral

E-mail do dirigente: lafayette@cpatc.embrapa.br

Endereço completo: Av. Beira Mar,3250 caixa postal 44 Aracaju-SE CEP.
49001-970

Telefone: (79) 226-1353

Sigla: EMBRAPA-CNPAT

Nome completo: Embrapa Agroindústria Tropical

CGC: 00348003/0135 - 22

Dirigente: Francisco Ferrer Bezerra

E-mail do dirigente: cnpat@cnpat.embrapa.br

Endereço completo: Rua Dra. Sara Mesquita, 2270 Fortaleza, CE.

Telefone: (85) 2291800

Sigla: EMBRAPA - CENARGEN

Nome completo: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

CGC: 00348003/0038 - 02

Dirigente: Luiz Antônio Barreto de Castro

E-mail do dirigente: cenargen@cenargen.embrapa.br

Endereço completo: SAIN s/n.º, Parque Rural, 70620000 Brasília-DF

Telefone: (61) 448 4433

Sigla: CEPLAC/CEPEC

Nome completo: Comissão Executiva do Plano da Lavoura C

Acaueira/Centro de Pesquisas do cacau/Seção de Fitopatologia.

CGC: 3300.4300/0007-93

Dirigente: Raul Renee Valle

E-mail do dirigente: raul@cepec.gov.br

Endereço completo: CEPLAC/CEPEC;Cx.postal 07, Km 22 Rod. Ilhéus Itabuna,
Itabuna-BA CEP. 45600-000.

Telefone: (73) 214-3203

Recursos

Solicitado (Embrapa Tesouro) – Memória de Cálculo

Item de dispêndio	Instituição Beneficiada	Valor Unitário (R\$)	Quantidade	Valor total (R\$)	Nº do Plano de ação
Material de consumo	Embrapa Tabuleiros Costeiros	100	355	35.500,00	1
Material de consumo	Ceplac – Cepec	100	100	10.000,00	1
Diárias	Embrapa Tabuleiros Costeiros	40	50	2.000,00	1
Passagens	Embrapa Tabuleiros Costeiros	1000	01	1.000,00	1
Serviços pessoa jurídica	Embrapa Tabuleiros Costeiros	100	20	2.000,00	1
Obras civis	Embrapa Tabuleiros Costeiros	10000	01	10.000,00	1
Equipamentos	Embrapa Tabuleiros Costeiros	10000	01	10.000,00	1
Material de consumo	Embrapa Tabuleiros Costeiros	100	150	15.000,00	2
Diárias	Embrapa Tabuleiros Costeiros	40	100	4.000,00	2
Passagens	Embrapa Tabuleiros Costeiros	1000	04	4.000,00	2
Serviços pessoa física	Embrapa Tabuleiros Costeiros	36	100	3.600,00	2
Serviços pessoa jurídica	Embrapa Tabuleiros Costeiros	100	24	2.400,00	2
Bolsas	Embrapa Tabuleiros Costeiros	300	30	9.000,00	2
Material de consumo	Embrapa Tabuleiros Costeiros	100	155	15.500,00	3
Diárias	Embrapa Tabuleiros Costeiros	40	50	2.000,00	3
Passagens	Embrapa Tabuleiros Costeiros	1000	02	2.000,00	3
Serviços pessoa jurídica	Embrapa Tabuleiros Costeiros	100	15	1.500,00	3
Material de consumo	Embrapa Agroindústria Tropical	100	200	20.000,00	4
Diárias	Embrapa Agroindústria Tropical	40	200	8.000,00	4
Passagens	Embrapa Agroindústria Tropical	1000	02	2.000,00	4
Serviços pessoa jurídica	Embrapa Agroindústria Tropical	100	20	2.000,00	4
Material de consumo	Embrapa Tabuleiros Costeiros	100	130	13.000,00	5
Material de consumo	Ceplac – Cepec	100	20	2.000,00	5
Diárias	Embrapa Tabuleiros Costeiros	40	100	4.000,00	5
Diárias	Ceplac – Cepec	40	25	1.000,00	5
Passagens	Embrapa Tabuleiros Costeiros	1000	02	2.000,00	5
Terceiros pessoa física	Ceplac – Cepec	25	100	2.500,00	5
Terceiros pessoa jurídica	Embrapa Tabuleiros Costeiros	100	100	13.000,00	5
Bolsas	Embrapa Tabuleiros Costeiros	300	70	21.000,00	5
Equipamentos	Embrapa Tabuleiros Costeiros	2000	05	10.000,00	5
Diárias	Embrapa Tabuleiros Costeiros	40	100	4.000,00	6
Passagens	Embrapa Tabuleiros Costeiros	1000	10	10.000,00	6
Serviços pessoa jurídica	Embrapa Tabuleiros Costeiros	100	50	5.000,00	6
TOTAL GERAL				249.500,00	

Contrapartida (se pertinente) – Memória de Cálculo

Item de dispêndio	Origem do recurso	Tipo de contrapartida (*)	Instituição Beneficiada	Valor Unitário (R\$)	Qtde	Valor total (R\$)	Nº do Plano de ação
Material de consumo	Iharabras*	Financeira	Embrapa Tabuleiros Costeiros	100	50	5000	02
Material de consumo	Bayer*	Financeira	Embrapa Tabuleiros Costeiros	100	50	5000	02
Material de consumo	Cibica*	Financeira	Embrapa Tabuleiros Costeiros	100	50	5000	02
Material de consumo	Syngenta*	Financeira	Embrapa Tabuleiros Costeiros	100	50	5000	05

(*) A contrapartida financeira: valores arrecadados através da captação efetuada em contratos de cooperação técnica objetivando os testes com fungicidas.

Outras Fontes – Memória de Cálculo

Item de dispêndio	Instituição Financiadora	Linha de fomento	Instituição Beneficiada	Valor Unitário (R\$)	Qtde	Valor total (R\$)	Nº do Plano de ação
Bolsa IC*	CNPq		Embrapa TC	300	40	12.000,00	01
Bolsa AT	CNPq		Embrapa TC	500	24	12.000,00	03
Bolsa DTI	CNPq		Embrapa TC	1200	24	28.800,00	05
TOTAL						52.800,00	
GERAL							

*Bolsas à serem concedidas pelo CNPq na quota do líder do projeto.

ORÇAMENTO - Quadro Específico por Plano de Ação
Plano de ação 01 Embrapa Tabuleiros Costeiros/Ceplac – Cepec

Item de dispêndio	Solicitado	Contrapartida	Outras Fontes	Total
CUSTEIO				
Material de consumo	45.500,00			45.500,00
Diárias	2.000,00			2.000,00
Passagens	1.000,00			1.000,00
Terceiros (Pessoa física)				
Terceiros (Pessoa jurídica)	2.000,00			2.000,00
Consultoria Especializada				
Bolsas			12.000,00	12.000,00
Sub Total	50.500,00		12.000,00	62.500,00
CAPITAL				
Obras civis	10.000,00			10.000,00
Equipamentos/ Material permanente/Bens	10.000,00			
Sub Total	20.000,00			
TOTAL GERAL	70.500,00		12.000,00	82.500,00

Plano de ação 02 Embrapa Tabuleiros Costeiros

Item de dispêndio	Solicitado	Contrapartida	Outras Fontes	Total
CUSTEIO				
Material de consumo	15.000,00	20.000,00		35.000,00
Diárias	4.000,00			4.000,00
Passagens	4.000,00			4.000,00
Terceiros (Pessoa física)	3.600,00			3.600,00
Terceiros (Pessoa jurídica)	2.400,00			2.400,00
Consultoria Especializada				
Bolsas	9.000,00			9.000,00
Sub Total	38.000,00	20.000,00		58.000,00
CAPITAL				
Obras civis				
Equipamentos/Material permanente/Bens				
Sub Total				
TOTAL GERAL	38.000,00	20.000,00		58.000,00

Plano de ação 03 Embrapa Tabuleiros Costeiros

Item de dispêndio	Solicitado	Contrapartida	Outras Fontes	Total
CUSTEIO				
Material de consumo	15.500,00			15.500,00
Diárias	2.000,00			21.000,00
Passagens	2.000,00			2.000,00
Terceiros (Pessoa física)				
Terceiros (Pessoa jurídica)	1.500,00			1.500,00
Consultoria Especializada				
Bolsas			12.000,00	12.000,00
Sub Total	21.000,00		12.000,00	33.000,00
CAPITAL				
Obras civis				
Equipamentos/Material permanente/Bens				
Sub Total				
TOTAL GERAL	21.000,00		12.000,00	33.000,00

Plano de ação 04 Embrapa Agroindústria Tropical

Item de dispêndio	Solicitado	Contrapartida	Outras Fontes	Total
CUSTEIO				
Material de consumo	20.000,00			20.000,00
Diárias	8.000,00			8.000,00
Passagens	2.000,00			
Terceiros (Pessoa física)				2.000,00
Terceiros (Pessoa jurídica)	2.000,00			2.000,00
Consultoria Especializada				
Bolsas				
Sub Total	32.000,00			32.000,00
CAPITAL				
Obras civis				
Equipamentos/Material permanente/Bens				
Sub Total				
TOTAL GERAL	32.000,00			32.000,00

Plano de ação 05 Embrapa Tabuleiros Costeiros/Ceplac-Cepec

Item de dispêndio	Solicitado	Contrapartida	Outras Fontes	Total
CUSTEIO				
Material de consumo	15.000,00			15.000,00
Diárias	5.000,00			5.000,00
Passagens	2.000,00			2.000,00
Terceiros (Pessoa física)	2.500,00			2.500,00
Terceiros (Pessoa jurídica)	13.000,00			13.000,00
Consultoria Especializada				
Bolsas	21.000,00		28.800,00	49.800,00
Sub Total	58.500,00		28.800,00	92.300,00
CAPITAL				
Obras civis				
Equipamentos/Material permanente/Bens	10.000,00			10.000,00
Sub Total				
TOTAL GERAL	68.500,00		28.800,00	102.300,00

Plano de ação 06 Embrapa Tabuleiros Costeiros

Item de dispêndio	Solicitado	Contrapartida	Outras Fontes	Total
CUSTEIO				
Diárias	4.000,00			4.000,00
Passagens	10.000,00			10.000,00
Terceiros (Pessoa física)				
Terceiros (Pessoa jurídica)	5.000,00			5.000,00
Consultoria Especializada				
Bolsas				
Sub Total	19.000,00			19.000,00
CAPITAL				
Obras civis				
Equipamentos/Material permanente/Bens				
Sub Total				
TOTAL GERAL	19.000,00			19.000,00

ORÇAMENTO - Quadro Geral do Projeto

Item de dispêndio	Solicitado	Contrapartida	Outras Fontes	Total
CUSTEIO				
Material de consumo	111.000,00	20.000,00		131.400,00
Diárias	25.000,00			25.000,00
Passagens	21.000,00			21.000,00
Terceiros (Pessoa física)	6.100,00			6.100,00
Terceiros (Pessoa jurídica)	25.900,00			25.400,00
Consultoria Especializada				
Bolsas	30.000,00		52.800,00	82.800,00
Sub Total	219.000,00	20.000,00	52.800,00	291.800,00
CAPITAL¹				
Obras civis	10.000,00			10.000,00
Equipamentos/Material permanente/Bens	20.000,00			20.000,00
Sub Total	30.000,00			30.000,00
TOTAL GERAL	249.000,00	20.000,00	52.800,00	321.800,00

Quadro de Desembolso

Item de dispêndio	Total Solicitado (R \$)	Total Ano 2002	4º trimestre 2002	Total Ano 2003	1º trimestre 2003	2º trimestre 2003	3º trimestre 2003	4º trimestre 2003	Total Ano 2004	1º trimestre 2004
CUSTEIO										
Material de consumo	111.000,00	20.000,0 0	20.000,00	40.000,0 0	20.000,00	5.000,00	10.000,00	5.000,00	28.600,00	10.000,0 0
Diárias	25.000,00	2.500,00	2.500,00	10.000,0 0	2.500,00	2.500,00	2.500,00	2.500,00	10.000,00	2.500,00
Passagens	21.000,00	-	-	3.500,00	3.500,00	-	-	-	15.000,00	5.000,00
Terceiros (Pessoa física)	6.100,00	-	-	1.000,00	1.000,00	-	-	-	-	-
Terceiros (Pessoa jurídica)	25.900,00	10.000,0 0	10.000,00	12.500,0 0	10.000,00	2.500,00	-	-	8.400,00	1.400,00
Consultoria Especializada	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bolsas	30.000,00	2.500,00	2.500,00	10.000,0 0	2.500,00	2.500,00	2.500,00	2.500,00	10.000,00	2.500,00
Obras civis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sub Total	219.000,00	35.000,0 0	35.000,00	77.000,0 0	39.500,00	12.500,0 0	15.000,00	10.000,0 0	72.000,00	21.400,0 0
CAPITAL										
Obras civis	10.000,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Equip/Material permanente/bens	20.000,00	-	-	10.000,0 0	10.000,00	-	-	-	10.000,00	10.000,0 0
Sub Total	30.000,00	-	-	10.000,0 0	10.000,00	-	-	-	10.000,00	10.000,0 0
TOTAL GERAL	249.000,00	35.000,0 0	35.000,00	87.000,0 0	49.500,00	12.500,0 0	15.000,00	10.000,0 0	82.000,00	31.400,0 0

Item de dispêndio	2º trimestre 2004	3º trimestre 2004	4º trimestre 2004	Total Ano 2005	1º trimestre 2005	2º trimestre 2005	3º trimestre 2005
CUSTEIO							
Material de consumo	10.000,00	8.600,00	-	22.400,00	11.000,00	6.400,00	5.000,00
Diárias	2.500,00	2.500,00	2.500,00	2.500,00	1.250,00	1.250,00	-
Passagens	5.000,00	2.500,00	2.500,00	2.500,00	2.500,00	-	-
Terceiros (Pessoa física)	-	-	-	5.100,00	2.100,00	2.000,00	1.000,00
Terceiros (Pessoa jurídica)	5.000,00	1.000,00	1.000,00	5.000,00	2.500,00	1.500,00	1.000,00
Consultoria Especializada	-	-	-	-	-	-	-
Bolsas	2.500,00	2.500,00	2.500,00	7.500,00	2.500,00	2.500,00	2.500,00
Obras civis	-	-	-	-	-	-	-
Sub Total	25.000,00	17.100,00	8.500,00	45.000,00	28.850,00	13.650,00	9.500,00
CAPITAL							
Obras civis	-	-	-	-	-	-	-
Equipamentos/Material permanente/Bens	-	-	-	-	-	-	-
Sub Total							
TOTAL GERAL	25.000,00	17.100,00	8.500,00	45.000,00	28.850,00	13.650,00	9.500,00



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro de Pesquisa Agropecuária
dos Tabuleiros Costeiros
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Av. Beira-Mar, 3250, Caixa Postal 44
CEP 49001-970, Aracaju, SE
Fone (0**79) 226-1300 Fax (0**79) 226-1369
E-mail: sac@cpatc.embrapa.br*