

VIVIAN CARRÉ MISSIO

**COMPORTAMENTO DA FERRUGEM DO CAFEEIRO PELA APLICAÇÃO DE
SILÍCIO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008

VIVIAN CARRÉ MISSIO

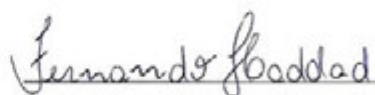
COMPORTAMENTO DA FERRUGEM DO CAFEEIRO PELA APLICAÇÃO DE
SILÍCIO

Tese apresentada à Universidade Federal
de Viçosa, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia,
para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 18 de julho de 2008.



Pesq. Antônio Fernando de Souza

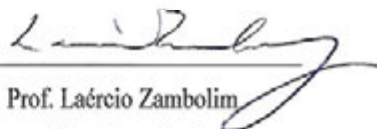


Pesq. Fernando Haddad



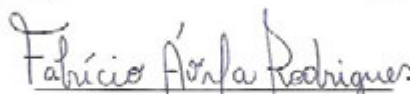
Prof. José Rogério de Oliveira

(Co-Orientador)



Prof. Laércio Zambolim

(Co-Orientador)



Prof. Fabrício de Ávila Rodrigues

(Orientador)

Aos meus pais, Elenir e Nery, por todo sacrifício, pela luta o amor imensurável e o grande exemplo de vida...

Aos meus irmãos Djne, Elvis e Ketty, pelo carinho...

Aos meus sobrinhos Lorenzo e Guillermo, alegrias da vida...

Ofereço

Ao meu marido Robson Fernando Missio, pelo exemplo de dedicação e humildade, com muito amor...

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo, em especial a minha família e amigos.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-graduação em Fitopatologia pela oportunidade de realização do curso de Doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudo e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste projeto (Processo N°: EDT-561/05).

Ao meu marido Dr. Robson Fernando Missio, presença constante de companheirismo, apoio, amizade e compreensão e, principalmente, pelas atitudes de carinho e muito amor, sentimentos esses que o tornam uma pessoa única em minha vida.

Aos meus pais Elenir Teresinha Carré e Nery Antônio Carré, pela educação, o carinho, o incentivo e força em todos os momentos. Tudo que tenho e sou devo a vocês.

Ao Professor Fabrício de Ávila Rodrigues, pela orientação, os ensinamentos, o incentivo, pelos muitos momentos de compreensão e pela confiança depositada para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor José Rogério de Oliveira pelos conselhos, a amizade, sobretudo a confiança depositada na realização do curso de Doutorado.

À Dalilla Carvalho Rezende e ao Daniel Augusto Schurt pela amizade, pelos inúmeros momentos de alegria e pela incansável ajuda na condução deste trabalho. A Natália B. Ribeiro por toda ajuda. Muito obrigada.

A amiga-irmã Sandra Cerqueira Pereira, pelo carinho e conforto, a rica troca de experiência e a ajuda fundamental na realização das análises enzimáticas.

Aos colegas do Laboratório da Interação Planta-Patógeno: Renata S. Resende, Wiler R. Moreira, Ricardo D. Reis, Henrique, Juliana Soares, Gisele P. Domiciano, Naiara F. A. de Souza, Camila C. L. de Andrade, Patrícia R. da Silveira, Maria S. Xavier, Leandro J. Dallagnol, Júlio Baroni, Roberto J. Gomes, José Eustáquio, Igor K. Kawamura, Mateus V. B. Mielli, Kelle J. T. Nascimento, pela convivência amigável, pela troca de experiência, ajuda mútua e principalmente pelos bons momentos.

As amigas da Pós-Graduação Cristiane G. Gardiano, Ivanete T. da Silva e Rosângela D. Giaretta, pelos conselhos, o companheirismo e os momentos de alegria.

Ao amigo Pesq. Fernando Haddad por toda ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

Aos Professores do Departamento de Fitopatologia por todo valioso conhecimento transmitido.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia: Maria Sueli de Oliveira Cardoso, Jésus Maciel Soares, Camilo D. Ferreira da Silva, aos simpáticos Braz Martins Paes, Délio Duarte e Rita Carmem S. Cardoso da secretaria. Ao José Bruno Ferreira, pela ajuda, pelo carinho e o sorriso constante no rosto alegrando os meus dias.

Aos companheiros do Laboratório de Proteção de Plantas, em especial ao Professor Laércio Zambolim pelos conselhos; ao amigo Pesq. Antônio Fernando de Souza e ao técnico Nivaldo Sérgio Milagres por toda ajuda na realização deste trabalho.

Ao Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro, em especial à Doutora Eunize Maciel Zambolim pela disponibilização de infra-estrutura para a realização desta tese.

À Professora Maria Goreti de Almeida Oliveira pelas sugestões e disponibilização do Laboratório de Enzimologia, Bioquímica de Proteínas e Peptídeos do BIOAGRO para realização das análises enzimáticas.

Ao Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica (NAP/MEPA ESALQ/USP) na pessoa do Professor Elliot W. Kitajima, pela disponibilização de infra-estrutura para realização das microanálises de raios-X.

Ao Professor Gaspar H. Konrdörfer da Universidade Federal de Uberlândia pela realização das análises de silício no solo e planta.

Ao Msc. Luiz Antônio Zanão Júnior pelo esclarecimento de dúvidas e os momentos alegres vividos.

À Empresa PQ Silicas pelo fornecimento do Fertilisil[®] para a realização dos ensaios e por ter financiado parte deste estudo.

A minha orientadora de mestrado, Professora Marli de Fátima Stradioto Papa que tanto me incentivou a cursar o Doutorado em Viçosa e que fez parte da minha vinda para o Departamento de Fitopatologia.

Ao Professor José Renato Stangarlin, amigo e conselheiro, que me ensinou as primeiras lições de Fitopatologia e transmitiu a paixão por essa Ciência.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, pela troca de experiências e principalmente pelo respeito mútuo.

BIOGRAFIA

Vivian Carré Missio, filha de Nery Antônio Carré e Elenir Teresinha Carré, nasceu em Medianeira, estado do Paraná, no dia 18 de Agosto de 1977.

Cursou o primeiro grau na Escola Estadual Presidente Kennedy, Distrito de Flor de Serra, no Município de Medianeira, PR. Cursou o primeiro e segundo ano do segundo grau no Colégio Estadual Presidente Costa e Silva, no município de Cascavel, PR. Concluiu o segundo grau no Colégio e Cursinho III Milênio em Curitiba, PR.

Em abril de 2003, concluiu o curso de Agronomia na Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste.

Em Julho de 2004, concluiu o curso de Mestrado em Sistemas de Produção pela Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira, São Paulo. Em agosto de 2004 iniciou o curso de Doutorado em Fitopatologia na Universidade Federal de Viçosa.

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
INTRODUÇÃO GERAL	1
Considerações gerais sobre o patossistema <i>Coffea arabica-Hemileia vastatrix</i>	1
Silício no sistema solo-planta	3
Silício no manejo de doenças em plantas	8
OBJETIVOS	14
Objetivo geral	14
Objetivos específicos	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15

CAPÍTULO I

APLICAÇÃO FOLIAR DE SILICATO DE POTÁSSIO NO COMPORTAMENTO DA FERRUGEM DO CAFEIEIRO

Resumo	22
Introdução	24
Material e Métodos	26
Material vegetal e condições de crescimento	26
Produção de inóculo de <i>Hemileia vastatrix</i> e inoculação.....	27
Efeito de doses de silicato de potássio na inibição da germinação de uredósporos de <i>Hemileia vastatrix</i>	28
Avaliação da severidade da ferrugem em mudas de cafeeiro submetidas a diferentes doses de silicato de potássio via foliar	28
Avaliação da translocação do silicato de potássio aplicado via foliar em mudas de cafeeiro..	29
Proteção (local ou sistêmica) de mudas de cafeeiro pelo silicato de potássio via foliar contra a ferrugem	30
Microscopia eletrônica de varredura	31
Determinação dos teores foliares de silício e potássio e microanálise de raios-X (MAX)	32
Análise estatística dos dados	33
Resultados	33
Efeito de doses de silicato de potássio <i>in vitro</i> na inibição da germinação de uredósporos de <i>Hemileia vastatrix</i>	33
Efeito de doses de silicato de potássio na intensidade da ferrugem do cafeeiro	33

Avaliação da translocação do silício em mudas cafeeiro pulverizadas com silicato de potássio	35
Avaliação do possível efeito protetor de silicato de potássio em mudas de cafeeiro contra a ferrugem	36
Análise microscópica da interação fungo-planta e microanálise de raios-X da deposição foliar de silício em folhas de mudas de cafeeiro	37
Discussão	38
Agradecimentos	43
Referências	44

CAPÍTULO II

SILÍCIO NOS COMPONENTES DE RESISTÊNCIA À FERRUGEM E NA ATIVIDADE DE ENZIMAS DE DEFESA

Resumo	61
Introdução	63
Material e Métodos.....	65
Material vegetal, condições de crescimento das plantas e tratamentos.....	65
Produção de inóculo de <i>Hemileia vastatrix</i> e inoculação.....	65
Quantificação de componentes de resistência e variáveis agronômicas.....	66
Determinação da atividade enzimática	68
β -1,3-glicanases (GLI).....	69
Peroxidases (POD)	70
Quitinases (QUI)	71
Determinação do teor de silício e potássio na raiz e folhas de cafeeiro	72
Análise estatística dos dados	73
Resultados	73
Discussão	75
Referências	79

RESUMO

MISSIO, Vivian Carré, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2008.

Comportamento da ferrugem do cafeeiro pela aplicação de silício. Orientador: Fabrício de Ávila Rodrigues. Co-Orientadores: José Rogério de Oliveira e Laércio Zambolim.

O silício (Si) tem um papel importante nas relações planta-ambiente, pois pode dar as plantas melhores condições para suportar adversidades climáticas, edáficas e biológicas. Dentro desse contexto, o objetivo deste trabalho foi investigar a possibilidade de utilização do Si no manejo da ferrugem (*Hemileia vastatrix*). Além disso, buscou-se elucidar os possíveis mecanismos de defesa, a nível microscópico e bioquímico, potencializados por esse elemento. No primeiro experimento avaliou-se o efeito doses de silicato de potássio (SP) (8, 20, 40 e 60 g L⁻¹) com alteração do pH para 5,5 e 7,5 ou sem alteração (pH ≈ 10,5) sob a germinação de uredósporos de *H. vastatrix*. No segundo experimento, as mesmas doses de SP utilizadas no ensaio *in vitro* foram avaliadas através da aplicação foliar, na redução da severidade da ferrugem em mudas de cafeeiro (cv. “Catuaí vermelho 44”). No terceiro experimento, avaliou-se a ação protetora do SP (15 e 35 g L⁻¹; pH 5,5) em mudas de cafeeiro à ferrugem. No quarto experimento, a absorção, translocação e deposição de Si em mudas de cafeeiro através da observação no microscópio eletrônico de varredura (MEV) e de alguns eventos da patogênese de *H. vastatrix*. No ensaio via solução nutritiva, mudas de cafeeiro foram cultivadas em solução hidropônica de Clarck (1975) modificada, nas doses de 0 e 2 mmol L⁻¹ de Si. Foram avaliados alguns componentes de resistência e variáveis agronômicas (matéria seca, comprimento de raiz, altura da parte aérea e diâmetro de caule), e quantificada a atividade das enzimas glicanases (GLI), peroxidases (POD) e quitinases (QUI) e os teor de Si em folhas e em raízes de mudas de cafeeiro. A aplicação foliar de SP foi eficiente na redução da severidade da ferrugem, entretanto o Si fornecido pela solução nutritiva não apresentou efeito na redução da doença. O SP apresentando efeito protetor local a partir da primeira data

de inoculação mantendo-se até 25 dias após a pulverização do produto, embora não houve aumento da absorção foliar de Si em mudas de cafeeiro. Não houve variação nos teores foliares de Si, independente da adição ou não do elemento na solução nutritiva. Observações no MEV indicaram um menor número de pústulas formadas e presença de deposição de placas de SP nas folhas de mudas de cafeeiro pulverizadas. Não houve diferença significativa para os componentes de resistência e variáveis agronômicas avaliadas entre os tratamentos 0 e 2 mmol L⁻¹ de Si. A atividade das enzimas GLI, POD e QUI foram exclusivamente potencializadas pela presença do patógeno. Pode-se concluir deste estudo que plantas de cafeeiro foram ineficientes em absorver o Si pelas raízes ou folhas e, assim, reduzir a severidade da ferrugem. No entanto, a aplicação foliar de SP apresentou potencial em reduzir a severidade da ferrugem possivelmente por um mecanismo diferente daquele possivelmente ativado quando o mesmo é capaz de ser absorvido ativamente pela raiz.

ABSTRACT

MISSIO, Vivian Carré, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July 2008. **Pattern of coffee leaf rust on coffee plants by silicon.** Adviser: Fabrício de Ávila Rodrigues. Co-Advisers: José Rogério de Oliveira and Laércio Zambolim.

Silicon (Si) plays an important role in plant-environment interaction, mainly because it helps plants to better performance under many abiotic or biotic types of stress. Therefore, this study aimed to investigate the possibility of using Si to control coffee leaf rust, caused by the fungus *Hemileia vastatrix*, on coffee. Indeed, it was also elucidated some possible mechanisms of resistance, at microscopic and biochemical levels, potentiated by this element. In the first experiment, the effect of potassium silicate (KSi) rates (8, 20, 40, and 60 g L⁻¹) without (pH 10.5) or with (pH 5.5 and 7.5) pH changes on uredospores germination was evaluated. In the second experiment, the effect of foliar spray of KSi, at the same rates and pH values mentioned above, on coffee plants (cv. “Catuaí vermelho 44”) to control rust was tested. In the third experiment, the protector effect of KSi rates (15 and 35 g L⁻¹; pH 5.5) on coffee leaves against fungus infection was studied. In the fourth experiment, the uptake, translocation, and Si deposition on coffee leaves were determined by grown plants on modified Clark’s nutrient solution containing 0 or 2 mmol of Si L⁻¹. In the fifth experiment, some events occurring during the pathogenesis of *H. vastatrix* on coffee leaves were investigated by using the scanning electron microscopy (SEM). Some components of host resistance, agronomic variables (dry matter, shoot height, root length, and stem diameter), as well as the activity of the enzymes quitinase (QUI), glucanases (GLU), and peroxidases (POX) were evaluated. Si content in leaf and root tissues was also quantified. KSi inhibited uredospores germination. The foliar application of KSi was efficient to decrease rust severity; however Si did not any effect in reducing disease when supplied from nutrient solution. KSi showed protector effect on rust control until 25 days after spray. It was not observed an increase on Si content in leaf tissue of plants sprayed with KSi or grown in nutrient solution

amended with 2 mmol Si L⁻¹. SEM observations showed that on coffee leaves from plants sprayed with KSi, a fewer number of pustules on leaves associated with a great extension of leaf area covered by plates of polymerized KSi were observed. There was no difference for the components of host resistance and the agronomic variables evaluated between the treatments 0 and 2 mmol Si L⁻¹. The activity of the enzymes QUI, GLU, and POX did not show any increase on inoculated plants regardless of the presence of Si. It can be concluded from this study that coffee plants were inefficient in uptake Si from either roots or leaves in order to decrease rust severity; however, the spray of KSi showed potential to decrease rust through a mechanism other than one possibly mediated by Si actively uptaken by roots.

INTRODUÇÃO GERAL

Considerações gerais sobre o patossistema *Coffea arabica*-*Hemileia vastatrix*

A ferrugem alaranjada do cafeeiro, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome, incide sob plantações de café em todas as regiões do mundo onde essa rubiácea é cultivada. As perdas causadas pela doença no Brasil, sob condições climáticas favoráveis a doença, giram em torno de 35 a 50% da produção (Zambolim et al., 2002).

O fungo *H. vastatrix* foi detectado pela primeira vez no ano de 1869, no Ceilão, atual Sri Lanka, ocasionando, em menos de 20 anos, o fim do cultivo do cafeeiro e a mudança de hábito de consumo de café para o chá nas ilhas britânicas (Bergamin Filho & Kimati, 1995). No Brasil, foi constatada em janeiro de 1970 no sul do estado da Bahia e aproximadamente, quatro meses depois, a doença já se encontrava distribuída em quase todas as lavouras cafeeiras dos estados do Brasil (Zambolim et al., 2005a). Já foram identificadas 45 raças fisiológicas do fungo, sendo a raça II a que se encontra mais amplamente distribuída nas regiões de cultivo do cafeeiro (Várzea & Marques, 2005). No Brasil já foram relatadas 18 raças do fungo (Zambolim et al., 2005b).

O fungo *H. vastatrix* pertence à ordem Uredinales e família Pucciniaceae, sendo um parasita biotrófico exclusivo do gênero *Coffea*. As características do gênero *Hemileia* são a penetração e a esporulação através dos estômatos e uredósporos reniformes equinulados dorsalmente e lisos ventralmente (Zambolim et al., 2005a). O fungo se desenvolve na superfície abaxial das folhas, a partir da germinação dos uredósporos na presença de água e temperatura favorável. Há formação de apressório na extremidade do tubo germinativo, usualmente sobre um estômato, em seguida, dando origem a hifa de penetração, a qual, após atravessar o ostíolo do estômato, diferencia-se

em vesícula sub-estomática. O desenvolvimento subsequente da hifa de infecção na câmara sub-estomática leva à colonização das células subsidiárias e do mesófilo, com formação do micélio intercelular e, em seguida, dos haustórios, responsáveis pela absorção dos nutrientes, dentro das células do hospedeiro (Zambolim et al., 2002 e 2005a).

O vento é o principal agente de disseminação dos propágulos do fungo a longas distâncias, sendo que a curtas distâncias a chuva tem papel primordial. As condições favoráveis à germinação dos uredósporos ocorrem à noite, pois a luz inibe tanto a germinação como o crescimento do tubo germinativo. Os sintomas da ferrugem são observados na face abaxial do limbo foliar, com manchas de coloração amarelo-pálidas inicialmente com 1 a 3 mm, podendo atingir até 2 cm, onde então apresentam aspecto pulverulento (uredósporos) de coloração amarelo-alaranjada, denominadas de pústulas. Na face superior das folhas são observadas áreas cloróticas que correspondem aos limites das pústulas (Zambolim et al., 2005a).

As duas espécies do gênero *Coffea* de maior importância comercial no Brasil são *Coffea arabica* L. (café arábica) e *Coffea canephora* Pierre (café robusta), as quais representam, respectivamente, 70 e 30% da produção no mundo (Matiello et al., 2002). O fungo ataca as duas espécies; entretanto o café robusta é resistente à maioria das raças do fungo, enquanto que os cultivares tradicionais de arábica são altamente suscetíveis à ferrugem (Matiello et al., 2002; Várzea et al., 2002). A cultivar Catuaí vermelho corresponde a uma recombinação resultante de um cruzamento artificial entre as variedades Caturra amarelo e Mundo novo de *C. arabica* (Fazuoli et al., 2002). Trata-se de um cultivar que apresenta ampla capacidade de adaptação e alta qualidade de bebida, entretanto é suscetível à maioria das raças de *H. vastatrix*, incluindo as mais comuns

como as raças I e II. A cultivar Catuaí vermelho, juntamente com as cultivares Catuaí amarelo e Mundo novo, correspondem por mais de 80% da cafeicultura nacional (Matiello et al., 2002).

Os principais prejuízos ocasionados pela ferrugem consistem na redução da área foliar fotossinteticamente ativa devido a formação de pústulas e queda precoce das folhas, assim como a seca de ramos laterais com gradual deformação das plantas. Quando a desfolha ocorre antes do florescimento, o desenvolvimento dos botões florais e a frutificação ficam comprometidos, e se ocorrer durante a formação dos frutos pode haver má formação de grãos, o que afeta produção (Zambolim et al., 2005a).

O controle químico da ferrugem no Brasil tem se mostrado eficaz e constitui-se na principal forma de manejo da doença. Segundo Zambolim et al. (2005b), são recomendadas de quatro a cinco pulverizações foliares com fungicidas cúpricos e uma a três com fungicidas sistêmicos do grupo dos triazóis. Entretanto, eleva os custos de produção e pode levar ao agravamento de outras doenças e pragas do cafeeiro, pela eliminação de inimigos naturais, bem como possibilitar o surgimento de populações de *H. vastatrix* resistentes aos fungicidas aplicados. O emprego de cultivares resistentes à *H. vastatrix*, quando disponíveis, constitui uma das medidas mais importante no controle da ferrugem do cafeeiro. Entretanto, devido ao contínuo aparecimento de novas raças fisiológicas do patógeno a resistência dos cultivares produzidos pelos melhoristas tem sido suplantada pela alta variabilidade do patógeno (Várzea et al., 2002).

Silício no sistema solo-planta

Os elementos considerados essenciais são absolutamente necessários para o crescimento de todas as espécies de plantas (Epstein & Bloom, 2005). Em contraste, os

elementos considerados benéficos apresentam efeitos positivos somente à algumas espécies de plantas e sob condições de crescimento específicas (Marschner, 1995).

O silício (Si) é considerado como um típico elemento benéfico, o qual apresenta efeitos positivos já bem estudados em espécies de plantas como o arroz, a cana-de-açúcar, o trigo, a cevada e o pepino, e mais recentemente em espécies como o morango, o feijão e a soja (Ma et al., 2001). Como uma particularidade, os efeitos benéficos do Si são usualmente expressos sob condições de estresse auxiliando a planta de maneira a suportá-los e, conseqüentemente, resultando no aumento de produtividade (Ma et al., 2001a). São exemplos de alguns efeitos benéficos do Si a redução na transpiração, maior taxa fotossintética das plantas em conseqüência da melhor arquitetura foliar (Deren, 2001; Epstein, 2001) e maior tolerância a pragas e doenças (Datnoff et al., 2007).

Na crosta terrestre, o Si é o segundo elemento mais abundante sendo superado apenas pelo oxigênio. Não é encontrado livre na natureza e sim sempre combinado principalmente com óxidos e silicatos (Gascho, 2001). Na fração disponível da solução do solo, o Si apresenta-se principalmente na forma de ácido monossilícico (H_4SiO_4) que após ser prontamente absorvido pela planta é depositado como sílica amorfa (SiO_2) abaixo da cutícula e na parede celular (Epstein, 1999). O Si também pode ser encontrado no solo adsorvido à óxidos de Al, Fe e Mn como sílica biogênica em formas amorfas ou poliméricas e em minerais silicatos primários e secundários, sendo a solubilidade desses afetada pelo pH, composição química e tamanho da partícula (Mckeague & Cline, 1963).

As principais fontes de Si utilizadas em adubações silicatadas são as escórias siderúrgicas (silicato de cálcio – $CaSiO_3$), que são resíduos provenientes da metalurgia

do ferro no Brasil, obtido de usinas de aço no Japão e da fabricação de fosfato tricálcico nos Estados Unidos (Gascho, 2001). A escória de siderurgia como fonte de Si tem sido amplamente estudada. Trabalhos recentes apontam essa como uma excelente fonte de Si, auxiliando na correção do pH do solo como também aumentando a concentração de Si disponível no solo (Fonseca et al., 2007).

Como fontes de Si existem ainda: o silicato de magnésio ($MgSiO_3$), também proveniente de siderurgia, embora com baixa solubilidade (Gascho, 2001); a volastonita, como silicato de cálcio puro, a qual é amplamente empregada na pesquisa por ser livre de contaminantes e rico em silicato de cálcio; o silicato de sódio (Na_2SiO_3) como fonte para aplicação via foliar e no solo, porém inviável economicamente para o solo (Pozza et al., 2004a) e o silicato de potássio (K_2SiO_3) utilizado em solução nutritiva e aplicações via foliar, principalmente visando o controle de doenças, como o oídio do pepino (Menzies et al., 1992; Liang, et al., 2005) e do morango (Kanto et al., 2004).

As plantas apresentam uma grande diferença na habilidade de acumular Si na parte aérea, variando de 0,1 a 10% do peso de folha seca (Epstein, 1994; Ma & Takahashi, 2002). As plantas classificadas como acumuladoras de Si (arroz, cana-de-açúcar e cevada) apresentam teor de Si maior que 1% na folha; intermediárias (morango, pepino e soja) com teor de Si entre 0,5 e 1%, e as não-acumuladoras (batata e tomate) apresentam teor de Si menor que 0,5% (Ma & Takahashi, 2002).

A diferença no acúmulo de Si entre as espécies de plantas é resultado da diferença na habilidade delas em absorver Si e, desta maneira, as plantas podem ser classificadas quanto à absorção em: as que apresentam absorção ativa (ocorre mais rápido que a absorção da água), passiva (similar ao fluxo da água) ou as que rejeitam,

(absorvendo mais lentamente que a absorção de água) (Takahashi et al., 1990; Ma & Takahashi, 2002).

Estudos recentes em relação ao sistema de absorção e transporte de Si em arroz, indicam a existência de uma forma passiva e outra ativa, corroborando com hipóteses levantadas em estudos anteriores realizados por Takahashi et al. (1990). Mitani & Ma (2005) estudaram três espécies de plantas, o arroz, o pepino e o tomate, as quais apresentam alta, intermediária e baixa taxas de acumulação de Si, respectivamente. Os autores submeteram as três espécies as mesmas condições experimentais, e pelos valores da constante de afinidade (K_m), (semelhantes entre as espécies) e da velocidade máxima (V_m) (superior para arroz, intermediário para pepino e baixo para tomate), demonstrou-se que o transporte do Si da solução do solo para as células corticais da raiz é mediado por um transportador para as três espécies. Os autores ainda observaram que esse transportador encontra-se em diferente densidade na membrana das células da raiz entre as três espécies estudadas, seguindo à ordem decrescente para o arroz, pepino e tomate.

A determinação da concentração de Si na seiva de plantas de arroz (6 mM), de pepino (0,6 mM) e de tomate (menor que a solução externa), também foi realizada no estudo de Mitani & Ma (2005). Os resultados indicaram que a maior concentração de Si em pepino comparado com tomate, foi atribuída a maior densidade de transportadores na membrana responsáveis pelo transporte radial do Si da solução externa do solo para as células corticais, resultando em concentrações maiores do elemento nas células da raiz e, posteriormente, por difusão na seiva do xilema. Transportadores esses que no tomate encontravam-se em baixíssima densidade ou até mesmo ausentes. Já no arroz, os autores acreditam que a passagem do Si para o xilema é muito rápida, intermediada por

alta densidade de transportadores na membrana, sendo o Si carregado contra um gradiente de concentração, caracterizando um transporte ativo.

Completando os estudos descritos, Ma et al. (2006) identificaram um gene (*Lsi1*) responsável pela absorção ativa de Si em arroz, o qual codifica uma proteína que pertence à família das aquaporinas e é responsável pelo influxo do elemento na célula. O gene *Lsi1* (“Low silicon rice 1”), é constitutivamente expresso nas raízes, estando localizado na membrana plasmática do sítio distal das células exodérmicas e endodérmicas, onde a estria de Caspary está localizada, indicando que o mesmo é responsável pela absorção como pelo acúmulo de Si em arroz. Os autores relatam a importância da identificação do gene *Lsi1* como uma nova estratégia para produção de plantas com resistência a diferentes condições de estresse, em função da modificação genética das raízes na capacidade de absorver Si. Dentro deste contexto, a maioria das espécies dicotiledôneas que são incapazes de acumular Si em níveis suficientes para seu benefício poderão ser favorecidas.

Após ser absorvido, o Si é translocado para as folhas na forma de ácido monossilícico, sendo então depositado abaixo da cutícula como um material na forma de polímero hidratado (sílica amorfa ou opala – $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), formando a dupla camada de cutícula-sílica e dupla camada de celulose-sílica na superfície de folhas, colmo e casca (Yoshida, 1965). Segundo Yoshida (1975), 99% do Si acumulado no interior das plantas encontra-se na forma de ácido silícico polimerizado (opala), o restante (1%) apresenta-se na forma coloidal ou iônica, sendo que os maiores teores de Si são encontrados nas partes da planta que apresentam maior transpiração. Desta maneira, 71% do total encontra-se depositado nas folhas, seguido pela casca com 13%, pelas raízes com 10% e

pelo colmo 6%. Depois de depositado na forma de sílica gel, o Si não é translocado para os tecidos mais jovens da planta, justamente por se encontrar polimerizado.

Silício no manejo de doenças em plantas

Dentre os nutrientes minerais utilizados no manejo de doenças o Si destaca-se por reduzir a severidade de importantes doenças em várias culturas (Datnoff et al., 2007). O Si tem um papel importante nas relações planta-ambiente, pois pode dar às plantas melhores condições para suportar adversidades climáticas, edáficas e biológicas, tendo como resultado final um aumento e maior qualidade na produção.

A resistência das plantas às doenças pode ser aumentada por meio da formação de barreiras mecânicas ou pela alteração das respostas químicas da planta frente ao ataque pelo patógeno, aumentando a síntese de compostos fenólicos que podem agir como substâncias antimicrobianas (Chérif et al., 1992 e 1994; Fawe et al., 1998; Datnoff et al., 2007). Têm sido propostos dois mecanismos pelos quais o Si pode estar envolvido no aumento da resistência de plantas a doenças. Um desses mecanismos seria a barreira mecânica, e o mais recente diz respeito ao papel do Si como mediador ou potencializador de respostas de defesa das plantas (Fauteux et al., 2005). A barreira física inicialmente proposta, é atribuída a deposição de Si abaixo da cutícula formando uma a dupla camada de cutícula-sílica, que mecanicamente impediria a penetração de patógenos, e desta maneira interrompendo os processos de infecção (Yoshida, 1975; Takahashi, 1995).

Embora o papel mecânico do Si a princípio tenha sido interpretado como a única resposta para o controle de algumas doenças, estudos mais recentes revelaram que o Si está envolvido com respostas de defesa a nível bioquímico (Chérif et al., 1992 e 1994; Fawe et al., 1998; Bélanger et al., 2003; Rémus-Borel et al., 2005; Rodrigues et al.

2003, 2004 e 2005). Segundo Fauteux et al. (2005), as primeiras evidências de que a barreira física não se constituía a única resposta de defesa de plantas supridas com Si data da década de 90, sendo como modelo de estudo uma espécie dicotiledônea, o pepino. Essa evidência foi levantada por Samuels et al. (1991) através do estudo realizado com o patossistema pepineiro-*Podospaeria xanthii*, em que os autores demonstraram que assim que era interrompido o fornecimento de Si às plantas o seu efeito no controle do patógeno era perdido, questionando a hipótese de barreira mecânica, pois mesmo com a presença da dupla camada cutícula-sílica, a resistência foi reduzida. Os mesmos autores alguns anos depois, trabalhando com o mesmo patossistema, concluíram que para que a resistência das plantas possa ser manifestada de forma eficiente e constante, o Si deve estar na forma solúvel dentro da planta durante a penetração ou no início do processo de infecção pelo patógeno, e ainda, deve estar constantemente disponível à absorção pela planta.

Ainda na década de 90, os estudos de Menzies et al. (1991) contribuíram com a hipótese de uma resposta de defesa mediada pelo Si. Os autores observaram que houve uma resposta rápida nas células das plantas de pepineiro supridas com Si e colonizadas por *P. xanthii* através do acúmulo de compostos fenólicos, o que não ocorreu nas células de plantas que não receberam esse elemento. Seguindo semelhante linha de pesquisa, Chérif et al. (1992) observaram em microscopia eletrônica de transmissão, que plantas de pepineiro supridas com Si apresentavam na parede de células não colonizadas pelo patógeno, uma camada espessa de material amorfo, o qual exerceu um efeito tóxico que impediu o ingresso do patógeno. Material similar também foi observado nos vacúolos dessas células, fenômeno este não observado em plantas não supridas com Si. Os autores realizaram microanálise de raios-X nesse material, que foi negativa para a

presença de Si. Dessa maneira, concluíram que a resistência das plantas de pepineiro ao *Pythium ultimum*, não foi devido ao acúmulo de Si nos tecidos e na parede celular em locais de penetração pelo patógeno, e sim por um papel fisiológico resultando na potencialização das defesas da planta.

Comprovando a resposta de defesa mediada pelo Si solúvel em plantas de pepineiro, Chérif et al. (1994) observaram tanto aumento da atividade das enzimas peroxidases e polifenoloxidasas envolvidas na síntese de lignina, como também maior acúmulo de compostos fenólicos, ao contrário do observado em plantas que não foram supridas com Si. Segundo Fawe et al. (2001), o Si na forma de ácido monossilícico, apresenta alta afinidade por compostos orgânicos, tais como *orto*-difenóis, os quais participam da síntese de lignina. A lignina constitui um importante componente na resistência de plantas a patógenos. Sua presença nos tecidos da planta está relacionada ao aumento da resistência a infecções, pois muitos patógenos não podem degradar esse composto, o qual restringe a infecção e a colonização por eles por servir como uma barreira mecânica (Camili et al., 2005).

Fitoalexinas também foram associadas no aumento da resistência de plantas de pepino supridas com Si a *P. xanthii* (Fawe et al., 1998). Nesse estudo, Fawe et al. (1998) descobriram uma nova classe de fitoalexina, que é induzida em plantas de pepineiro supridas com Si após infecção por *P. xanthii*, sugerindo que esse elemento potencializa uma cascata de eventos bioquímicos relacionados com a defesa da planta, e explicando em parte a propriedade profilática do Si. Na cultura do morango, Kanto et al. (2004) estudaram o efeito do Si fornecido via solução nutritiva no controle do oídio. Através da determinação do teor de Si foliar, os autores observaram que quando as folhas apresentavam conteúdos de Si acima de 1,5%, a doença foi reduzida. Wang &

Galleta (1998) reportaram que a aplicação foliar de silicato de potássio potencializou mudanças metabólicas em plantas de morangueiro e redução na severidade do oídio.

Em monocotiledôneas, consideradas acumuladores de Si, numerosos trabalhos evidenciam o efeito positivo do Si no controle de doenças (Rodrigues & Datnoff, 2005; Bélanger et al., 2003; Datnoff et al., 2007). Análises citológicas da interação trigo-*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, revelaram que as células da epiderme de plantas supridas com Si apresentavam reações de defesa contra o patógeno que incluíram a produção de calose e a deposição de material osmiofílico eletro-denso, identificado através de marcação citoquímica como sendo fenóis glicolizados (Bélanger et al., 2003). Estes resultados sugerem que o Si atua em uma resposta de defesa local nas células de plantas de trigo.

Em uma análise ultraestrutural e citoquímica da interação arroz-*Magnaporthe grisea* em plantas supridas com Si, Rodrigues et al. (2003) observaram que as hifas do fungo presentes nas células da epiderme, do mesófilo e do sistema vascular apresentavam-se vazias e foram envolvidas por uma camada densa de material osmiofílico. Entretanto, em amostras de plantas sem Si, inúmeras células da epiderme e do mesófilo foram desprovidas de organelas funcionais, além de apresentarem a parede celular completamente degradada por enzimas produzidas pelo fungo. Desta maneira, foi sugerido que o aumento na resistência do arroz a brusone mediada pelo Si foi devido ao acúmulo de compostos fenólicos. Nesse mesmo patossistema, observou-se a acumulação diferencial de transcritos dos genes para glicanases, peroxidases e PR-1 e uma limitada colonização por *M. grisea* nas células da epiderme, como a redução dos danos causados pelo fungo nos tecidos das folhas de plantas de uma cultivar de arroz suprida com Si e suscetível à brusone (Rodrigues et al., 2005).

A aplicação foliar de Si também tem apresentado efetiva inibição sobre desenvolvimento de alguns patógenos. Folhas de videira pulverizadas com silicato de potássio apresentaram redução de 14% no número de lesões causadas por *Uncinula necator* (Bowen et al., 1992). Os autores também realizaram ensaios *in vitro* para avaliar o efeito do Si sobre o patógeno e constataram que houve redução na germinação dos esporos de *U. necator* quando o silicato de potássio foi incorporado ao meio. Houve deposição de Si ao redor do sítio de infecção do fungo, sendo a redução da doença atribuída à barreira física.

Menzies et al. (1992), realizaram aplicação de Si via foliar e constataram que fornecimento foliar do elemento foi efetivo no controle do oídio em plantas de pepino, melão e abóbora. Liang et al. (2005) compararam a aplicação de Si via foliar e solução nutritiva e observaram que as duas formas de fornecimento do elemento foram efetivas no controle do oídio em plantas de pepino. Os autores concluíram que o fornecimento de Si via solução nutritiva foi eficiente na redução da severidade da doença em função do aumento na atividade das enzimas peroxidases, polifenoloxidasas e quitinases; Já a aplicação foliar de Si não promoveu aumento na atividade dessas enzimas e o controle satisfatório da doença foi atribuído à barreira física ou mudanças no potencial osmótico ocorridas pela deposição de Si na superfície foliar.

Estudos realizados com arroz e trigo, onde foi avaliado o efeito da aplicação foliar de Si no controle do oídio e da brusone, não houve absorção eficiente de Si pelas plantas, embora tenha sido constatado que houve redução na severidade dessas doenças; Tal fato foi atribuído à ação direta do Si sobre o desenvolvimento do patógeno, conseqüentemente reduzindo a intensidade da doença (Guével et al., 2007; Buck et al., 2008). Pozza et al. (2004b) avaliaram o efeito do Si fornecido via solo na cercosporiose

do cafeeiro. Os autores constataram que plantas da variedade Catuaí supridas com Si via solo apresentaram redução de 63,2% de folhas lesionadas e 43% no número de lesões, quando comparadas à testemunha. Através da técnica de microanálise de raios-X e do mapeamento para Si, os autores observaram que houve uma distribuição uniforme do elemento em toda a superfície abaxial das folhas de cafeeiro. Ainda, pela microscopia eletrônica de varredura constatou-se que houve maior desenvolvimento da camada de cera da superfície abaxial de folhas de plantas supridas com Si. Desta maneira, os autores atribuíram a menor intensidade da doença a uma cutícula mais espessa e uma camada de cera epicuticular mais desenvolvida dificultando a penetração do patógeno pelos estômatos.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar o efeito do Si no comportamento da ferrugem do cafeeiro e os possíveis mecanismos de defesa potencializados por esse elemento.

Objetivos específicos

- avaliação de alguns componentes de resistência de plantas de cafeeiro à ferrugem na presença de Si;
- avaliação de possíveis mudanças na superfície foliar de mudas de cafeeiro supridas com Si que afetam a patogênese de *H. vastatrix* utilizando-se a microscopia eletrônica de varredura;
- determinar se ocorre absorção e deposição de Si em folhas de cafeeiro;
- avaliação da atividade das enzimas peroxidases (POD) quitinases (QUI) e glicanases (GLI) em mudas de cafeeiro supridas com Si.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bélangier, R. R.; Benhamou, N.; Menzies, J. G. Cytological evidence of an active role of silicon in wheat resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*). **Phytopathology**, v.93, p.402-412, 2003.
- Bergamin Filho, A.; Kimati, H. Importância das doenças de plantas. In: BERGAMIN Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. Editora Agronômica Ceres. São Paulo-SP. v.1, p.13-31. 1995.
- Bowen, P.; Menzies, J.; Ehret, D. Soluble silicon sprays inhibit powdery mildew development on grape leaves. **Journal American Soc. Hort. Science**, v.117, p.906-912. 1992.
- Buck, G.B.; Korndörfer, G.H.; Nolla, A.; Coelho, L. Potassium silicate as foliar spray and rice blast control. **Journal of Plant Nutrition**, v.31, p.231-237. 2008.
- Camili, E.C.; Cia, P.; Benato, E.A. Indução de resistência contra doenças de pós-colheita. In: Cavalcanti, L.S.; Di Pierro, R.M.; Pascholati, S.F.; Resende, M.L.V.; Romeiro, R.S. (Eds.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. v.13, p.195-218. 2005.
- Chérif, M., Asselin, A.; Bélangier, R.R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. **Phytopathology**, v.84, p.236-242. 1994.
- Chérif, M.; Benhamou, N.; Menzies, J.G.; Bélangier, R.R. Silicon induced resistance in cucumber plants against *Pythium ultimum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.41, p.411-425. 1992.
- Datnoff, L.E.; Rodrigues, F.Á.; Seebold, K.W. Silicon and Plant Nutrition. In: Datnoff, L.E.; Elmer, W.H.; Huber, D.M. (Eds.). **Mineral nutrition and plant disease**. APS-PRESS, St. Paul, Minesota, EUA. p.233-246. 2007.

- Deren, C.W. Plant genotype, silicon concentration, and silicon-related responses. In: Datnoff, L.E.; Snyder, G.H.; Korndörfer, G. H. (Eds.). **Silicon in Agriculture**. Studies in plants in Plant Science, 8. Elsevier: Amsterdam-Holland. p.149-158. 2001.
- Epstein, E. The anomaly of silicon in plant biology. **Proc. Natl. Acad. Science. USA**, v.91, p.11-17. 1994.
- Epstein, E. Silicon. **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.**, v.50, p.641-664. 1999.
- Epstein, E. Silicon in plants: facts vs. concepts. In: Datnoff, L.E.; Snyder, G.H.; Korndörfer, G. H. (Eds.). **Silicon in Agriculture**. Studies in plants in Plant Science, 8. Elsevier: Amsterdam-Holland. p.1-15. 2001.
- Epstein, E.; Bloom, A.J. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**. Sunderland: Sinauer Associates, 400p. 2005.
- Fauteux, F.; Rémus-Borel, W.; Menzies, J.G.; Bélanger, R.R. Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. **FEMS Microbiology Letters**, v.249, p.1-6. 2005.
- Fazuoli, L.C.; Filho, H.P.M.; Gonçalves, W.; Filho, O.G.; Silvarolla, M.B. Melhoramento do Cafeeiro: variedades tipo arábica obtidas no Instituto Agronômico de Campinas. In: Zambolim, L. (Ed.). **O Estado da Arte de Tecnologias de Produção de Café**. UFV-Viçosa-MG. p.163-216. 2002.
- Fawe, A.; Menzies, J.G.; Chérif, M.; Bélanger, R.R. Silicon and disease resistance in dicotyledons. In: Datnoff, L.E.; Snyder, G.H.; Korndörfer, G. H. (Eds.). **Silicon in Agriculture**. Studies in plants in Plant Science, 8. Elsevier: Amsterdam-Holland. p.159-169. 2001.

- Fawe, A.; Abou-Zaid, M.; Menzies, J.G.; Bélanger, R.R. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. **Phytopathology**, v.88, p.396-401, 1998.
- Fonseca, I.M.; Prado, R.M.; Vidal, A.A.; Nogueira, T.A.R. Efeito da escória e do calcário na disponibilidade de silício no solo. **IV Simpósio Brasileiro sobre Silício na Agricultura**. Anais dos Resumos, Botucatu-SP. p.26-28. 2007.
- Gascho, G.J. Silicon source for agriculture. In: Datnoff, L.E.; Snyder, G.H.; Korndörfer, G. H. (Eds.). **Silicon in Agriculture**. Studies in plants in Plant Science, 8. Elsevier: Amsterdam-Holland. p.197-208. 2001.
- Guével, M.H.; Menzies, J.G.; Bélanger, R.R. Effect of root and foliar applications of soluble silicon on powdery mildew control and growth of wheat plants. **Eur. Journal Plant Pathology**, v.119, p.429-436. 2007.
- Kanto, T.; Miyoshi, A.; Ogawa, T.; Maekawa, K.; Aino, M. Suppressive effect of potassium silicate on powdery mildew of strawberry in hydroponics. **Journal Gen. Plant Pathology**, v.70, p.207-211. 2004.
- Liang, Y.C.; Sun, W.C.; Si, J.; Römheld, V. Effects of foliar and root applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus*. **Plant Pathology**, v.54, p.678-685. 2005.
- Ma, J.F.; Miyake, Y.; Takahashi, E. Silicon as a beneficial element for crop plants. In: Datnoff, L.E.; Snyder, G.H.; Korndörfer, G. H. (Eds.). **Silicon in Agriculture**. Studies in plants in Plant Science, 8. Elsevier: Amsterdam-Holland. p.17-39. 2001.
- Ma, J.F.; Takahashi, E. **Soil, Fertilizer, and Plant Silicon Research in Japan**. Elsevier Science. Kyoto-Japan. 281p. 2002.
- Ma, J.F.; Tamai, K.; Yamaji, N.; Mitani, N.; Konishi, S.; Katsuhara, M.; Ishiguro, M.; Murata, Y.; Yano, M. A silicon transporter in rice. **Nature**, v.440, p.688-691. 2006.

- Marschner, H. **Mineral nutrition of higher plants**. Academic Press, San Diego-CA. 674p.1995.
- Matiello, J.B.; Santinato, R.; Garcia, A.W.R.; Almeida, S.R.; Fernandes, D.R. Cultura do Café no Brasil. In: Matiello, J.B. (Ed). **Novo Manual de Recomendações. MAPA/PROCAFÉ**. Rio de Janeiro-RJ. 387p. 2002.
- Mckeague, J.A.; Cline, M.G. Silica in soils solutions. II - The absorption of monosilicic acid by soil and by other substances. **Can. Journal Soil Science**, v.43, p.83-96. 1963.
- Menzies, J.G.; Ehret, D.L.; Glass, A.D.M.; Samuels, A. L. The influence of silicon on cytological interactions between *Sphaerotheca fuliginea* and *Cucumis sativus*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.39, p.403-414, 1991.
- Menzies, J.; Bowen, P.; Ehret, D. Foliar application of potassium silicate reduce severity of powdery mildew development on cucumber, muskmelon and zucchini squash. **Journal American Soc. Hort. Science**, v.117, p.902-905. 1992.
- Mitani, N.; Ma, J.F. Uptake system of silicon in different plant species. **Journal of Experimental Botany**, v.56, p.1255-1261. 2005.
- Nolla, A.; Korndörfer, G.H. produção de cana-de-açúcar e correção de acidez em neossolo submetido à aplicação de carbonato e silicato de cálcio. **IV Simpósio Brasileiro sobre Silício na Agricultura**. Anais dos Resumos, Botucatu-SP. p.30-33. 2007.
- Pozza, A.A.A.; Alves, E., Pozza, E.A.; Botelho, D.M.S. O silício no controle de doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas –RAPP**. v.12, p.373-402. 2004a.

- Pozza, A.A.A.; Alves, E.; Pozza, E.A.; Carvalho, J. G. de; Montanari, M.; Guimarães, P.T.G.; Santos, D.M. Efeito do silício no controle da cercosporiose em três variedades de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.185-188. 2004b.
- Rémus-Borel, W.; Menzies, J.G.; Bélanger, R.R. Silicon induces antifungal compounds in powdery mildew-infected wheat. **Physiological and Mol. Plant Pathol.**, v.66, p.108-115. 2005.
- Rodrigues, F.Á., Benhamou, N.; Datnoff, L.E.; Jones, J.B.; Bélanger, R.R. Ultrastructural and cytochemical aspects of silicon-mediated rice blast resistance. **Phytopathology**, v.93, p.535-546, 2003.
- Rodrigues, F.Á.; McNally, D.J.; Datnoff, L.E.; Jones, J.B.; Labbé, C.; Benhamou, N.; Menzies, J.G.; Bélanger, R.R. Silicon enhances the accumulation of diterpenoid phytoalexins in rice: a potential mechanism for blast resistance. **Phytopathology**, v.94, p.177-183, 2004.
- Rodrigues, F.Á.; Jurick, W.M.; Datnoff, L.E.; Jones J.B.; Rollins, J.A. Silicon influences cytological and molecular events in compatible rice-*Magnaporthe grisea* interactions. **Physiol. Mol. Plant Pathol.**; v.66, p.144-159. 2005.
- Rodrigues, F.Á.; Datnoff, L.E. Silicon and rice disease management. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, p.457-469. 2005.
- Samuels, A.L.; Glass, A. D.M.; Ehret, D.L.; Menzies, J.G. Mobility and deposition of silicon in cucumber plants. **Plant Cell Environ.**, v.14, p.485-492, 1991.
- Takahashi, E.; Ma, J.F.; Miyake, Y. The possibility of silicon as an essential element for higher plants. **Comments on Agriculture and Food Chemical**, v.2, p.99-122, 1990.

- Takahashi E. Uptake mode and physiological functions of silica. **Science Rice Plant**, v.2, p.58-71. 1975.
- Várzea, V.M.P.; Marques, D.V. Population variability of *Hemileia vastatrix* vs. coffee durable resistance. In: Zambolim, L.; Zambolim, E.M.; Várzea, V.M.P. (Eds.). **Durable Resistance to Coffee Leaf Rust**. UFV, Viçosa-MG. p.53-75. 2005.
- Zambolim, L.; Vale, F.X.R.; Costa, H.; Pereira, A.A.; Chaves, G.M. Epidemiologia e controle integrado da ferrugem-do-cafeeiro. In: Zambolim, L. (Ed.). **O Estado da Arte de Tecnologias de Produção de Café**. UFV-Viçosa-MG. p.369-450. 2002.
- Zambolim, L.; Vale, F.X.R.; Zambolim, E.M. Doenças do cafeeiro (*Coffea arabica* e *C. canephora*). In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A.; Camargo, L.E.A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia – Doenças das Plantas Cultivadas**. Editora Agronômica Ceres. São Paulo-SP. v.2, p.165-180. 2005a.
- Zambolim, L.; Zambolim, E.M.; Vale, F.X.R.; Pereira, A.A.; Sakyama, N.S.; Caixeta, E.T. Physiological races of *Hemileia vastatrix* Berk. Et Br. In Brazil – Physiological variability, current situation and future prospects. In: Zambolim, L.; Zambolim, E.M.; Várzea, V.M.P. (Eds.). **Durable Resistance to Coffee Leaf Rust**. UFV, Viçosa-MG. p.75-98. 2005b.
- Wang, S.W.; Galleta, G.J. Foliar application of potassium silicate induces metabolic changes in strawberry plants. **Journal of Plant Nutrition**, v.20, p.157-167. 1998.
- Yoshida, S. Chemical aspects of the role of silicon in physiology of the rice plant. **Bulletin of the National Institute of Agriculture Science**, v.15, p.1-58, 1965.
- Yoshida, S. The physiology of silicon in rice. Taipei, Taiwan: Food Fertilization Technology Centre, **Technical Bulletin**, n.25, 30p. 1975.

Aplicação foliar de silicato de potássio no comportamento da ferrugem do cafeeiro

Vivian Carré-Missio¹, Fabrício de Ávila Rodrigues¹, Daniel Augusto Schurt¹, Dalilla Carvalho Rezende¹, Gaspar H. Korndörfer² & Laércio Zambolim¹

¹Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil, 36570-000. ²Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil, 38400-602.

Autor correspondente: Fabrício de Ávila Rodrigues, Laboratório da Interação Planta-Patógeno, Universidade Federal de Viçosa, Av. PH Rolfs s/n - Campus Universitário, Viçosa, MG, Brasil, CEP 36570-000, Fax: (55) 31 3899-2622, E-mail: fabricao@ufv.br

Resumo

Foram realizados cinco ensaios para estudar a influência do silicato de potássio (SP) via foliar, na redução da intensidade da ferrugem do cafeeiro. Os experimentos realizados foram: 1) avaliação do efeito de doses crescentes de SP (8, 20, 40 e 60 g L⁻¹) com alteração do pH para 5,5 e 7,5 ou sem alteração (pH ≈ 10,5), o fungicida oxicloreto de cobre (7,5 g L⁻¹) e água destilada estéril (pH 5,5; 7,5 e 10,5) na inibição da germinação de uredósporos de *H. vastatrix*; 2) o efeito das mesmas doses de SP utilizadas no ensaio *in vitro* na intensidade da ferrugem do cafeeiro; 3) avaliação da translocação de SP em mudas de cafeeiro através da pulverização com a dose de 20 g L⁻¹ de SP (pH 5,5 e 10,5) de duas maneiras: a) pulverização do 3º par de folhas, a partir do ápice, protegendo o 2º par com saco plástico e b) pulverização de um par de folhas lateral, protegendo o par de folhas da outra lateral com saco plástico; 4) avaliação do efeito protetor do SP, sendo os tratamentos: SP (15 e 35 g L⁻¹; pH 5,5), Acibenzolar-S-Metil (ASM) (1 g L⁻¹) e água destilada, pulverizados no 3º par de folhas, a partir do ápice, sendo que o 2º par de folhas foi protegido com saco plástico e após intervalos de 1, 5, 15, 25 e 35 dias, inoculou-se a face abaxial dos dois pares de folhas (2º e 3º) por planta e 5) observação no microscópio eletrônico de varredura (MEV) de alguns eventos da patogênese de *H. vastatrix* e da deposição de silício (Si) através da microanálise de raios-X (MAX). Foram avaliados o número de pústulas por folha (NPF), a severidade (SEV) e o índice de esporulação (IE). Determinou-se os teores de Si e K nos experimentos 2 e 3. As doses de SP foram eficientes em inibir a germinação dos uredósporos de *H. vastatrix* e em reduzir o IE, NPF e a SEV da ferrugem do cafeeiro, independentemente do ajuste de pH. O SP apresentou efeito protetor local a partir da primeira data de inoculação e manteve-se até 25 dias após a pulverização de SP. A pulverização de SP nas folhas não aumentou a absorção foliar de Si. Observações no MEV indicaram um menor número

de pústulas formadas e presença de deposição de SP nas folhas de mudas de cafeeiro pulverizadas com SP. Pela MAX, detectou-se presença de Si somente na superfície foliar de plantas pulverizadas com SP, embora em baixa quantidade em relação à testemunha. A aplicação foliar de SP reduziu significativamente o progresso da ferrugem nas folhas de mudas de cafeeiro, independente do pH da solução, através de uma barreira física na superfície da epiderme após sua polimerização, o que negativamente afetou a patogênese de *H. vastatrix*.

Palavras-chave: silicato de potássio, cafeeiro, *Hemileia vastatrix*, nutrição mineral, componentes de resistência, microscopia eletrônica.

Introdução

A ferrugem do cafeeiro (*Coffea arabica* L.), causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome, atualmente atinge todas as regiões produtoras de café do Brasil e os prejuízos em condições climáticas favoráveis são em torno de 35 a 50% da produção (Zambolim et al., 2002). No Brasil, o controle químico da doença é realizado através da utilização de fungicidas cúpricos e sistêmicos do grupo dos triazóis (Matiello et al., 2002; Zambolim et al., 2002). Entretanto, o uso contínuo do controle químico pode levar ao agravamento de outras doenças e pragas do cafeeiro pela eliminação de inimigos naturais, bem como possibilitar o surgimento de populações do fungo resistentes aos fungicidas aplicados por pressão de seleção. A utilização de cultivares resistentes à *H. vastatrix* consiste em uma outra técnica viável por causar menor impacto ambiental. Entretanto, o contínuo aparecimento de novas raças fisiológicas do patógeno tem ocasionado a suplementação da resistência dos cultivares produzidos pelos melhoristas (Várzea et al., 2002).

O uso do silício (Si) no manejo de doenças em espécies de dicotiledôneas apresenta-se como uma alternativa viável, envolvendo tanto a potencialização de respostas de defesa bioquímicas como o melhoramento fisiológico da planta (Chérif et al. 1992; Fawe et al., 1998; Liang et al., 2005; Fauteux et al., 2006). Os estudos relacionados ao controle de doenças pelo Si, em sua maioria, envolvem a absorção do elemento pela raiz através de ensaios conduzidos no solo ou solução nutritiva, havendo pouca informação a respeito da aplicação foliar de fontes contendo Si. A aplicação foliar de Si tem inibido o desenvolvimento de alguns patógenos (Bowen et al., 1992; Menzies et al., 1991; Liang et al., 2005; Guével et al., 2007; Buck et al., 2008). A maioria desses estudos indica que aplicação foliar de silicato de potássio, como fonte

solúvel de Si, atua como uma barreira física após sua polimerização ou promove um efeito osmótico na superfície foliar, não apresentando habilidade em potencializar a atividade de enzimas envolvidas com as respostas de defesa ao ataque por patógenos.

A hipótese da barreira física tem sido atribuída tanto para dicotiledôneas como para as monocotiledôneas; embora as mono sejam classificadas como acumuladoras de Si com absorção ativa de Si (Ma & Takahashi, 2002). Em estudos realizados com arroz e trigo, em que se avaliou o efeito da aplicação foliar de Si no controle do oídio e da brusone, não houve absorção significativa do Si pelas plantas, embora tenha ocorrido redução na severidade das duas doenças. Tal fato foi atribuído à ação direta do silicato de potássio, utilizado com fonte de Si, no desenvolvimento do patógeno (Buck et al., 2008; Guével et al., 2007). O silicato de potássio também apresentou ação direta no desenvolvimento de patógenos como *Alternaria solani*, *Colletotrichum coccodes*, *Fusarium solani* e *Phytophthora cinnamomi* (Kaiser et al., 2005).

Em um dos primeiros estudos realizados com a aplicação foliar do Si, a fonte de silicato de potássio pulverizada em folhas de videira promoveu redução de 14% no número de lesões de *Uncinula necator* e também inibiu a germinação dos esporos quando o silicato de potássio foi incorporado ao meio de cultura (Bowen et al., 1992). Os autores observaram através de microanálise de raios-X que a deposição de Si ocorreu ao redor do apressório do fungo, sendo a redução do oídio atribuída à barreira física. Liang et al. (2005) comparam a aplicação de Si via foliar e solução nutritiva, constataram que as duas formas de fornecimento desse elemento foram efetivas no controle do oídio em plantas de pepino. Os autores concluíram que o fornecimento de Si via solução nutritiva foi eficiente em reduzir a severidade da doença em função do aumento na atividade das enzimas peroxidases, polifenoloxidasas e quitinasas.

Enquanto que a aplicação foliar de Si não promoveu aumento na atividade dessas enzimas, o controle da doença foi atribuído à barreira física ou ao efeito osmótico após a polimerização do silicato de potássio na superfície foliar.

Pozza et al. (2004) avaliaram o efeito do Si fornecido via solo no controle da cercosporiose do cafeeiro e obtiveram uma redução de 63% de folhas lesionadas e 43% no número de lesões em relação à testemunha. Através da técnica de microanálise de raios-X e do mapeamento para Si, os autores observaram que houve uma distribuição uniforme do elemento em toda a superfície abaxial das folhas de cafeeiro. Pela observação em microscopia eletrônica de varredura, os autores atribuíram a menor severidade da doença a cutícula mais espessa e enrijecida e uma camada de cera epicuticular mais desenvolvida o que dificultou a penetração do patógeno pelos estômatos. Em razão do potencial da aplicação foliar de Si no controle de doenças e o número reduzido de informações a respeito da sua utilização em cafeeiro, este trabalho teve como objetivo avaliar a aplicação foliar do silicato de potássio no comportamento da ferrugem do cafeeiro.

Material e Métodos

Material vegetal e condições de crescimento

Sementes de cafeeiro (*C. arabica*) cv. Catuaí vermelho 44, provenientes do banco de germoplasma do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, foram semeadas em leito de areia umedecida e, após 60 dias, no estágio de orelha de onça, foram transplantadas para vasos plásticos contendo 1 kg de substrato composto de uma mistura de solo de barranco, esterco de curral curtido e areia lavada na proporção de 2,5:1:0,5. Foi realizada a adubação tradicional de acordo com a recomendação descrita por Malavolta et al. (1997). Para todos os ensaios, foram

utilizadas mudas de cafeeiro com quatro pares de folhas. Depois de realizada aplicação dos produtos e a inoculação com o patógeno, as mudas permaneceram em câmara de crescimento a 22°C, em fotoperíodo de 12 h, sob luz fluorescente (7,35 Wm⁻²).

Produção de inóculo de *Hemileia vastatrix* e inoculação

Uredósporos de *H. vastatrix*, foram coletados de folhas de plantas de café (cv. Catuaí vermelho 44) naturalmente infectadas na área experimental do Viveiro de Café da Universidade Federal de Viçosa. Os uredósporos foram recolhidos com auxílio de um pincel, raspando-se suavemente as lesões da superfície abaxial das folhas. Em seguida, os uredósporos foram armazenados em ampolas de vidro vedadas com algodão e colocadas em dessecador contendo, na parte inferior, solução aquosa de ácido sulfúrico na concentração de 32,6% (v/v), de modo a manter a umidade relativa em torno de 50% no ambiente interno (Zambolim & Chaves, 1974).

A viabilidade dos uredósporos foi avaliada antes da inoculação das mudas. Para o teste de viabilidade, uma alíquota de 50 µL da suspensão de uredósporos (1 mg de uredósporos mL⁻¹) foi colocada em cinco placas de Petri contendo ágar-água a 2%. Em seguida, as placas foram incubadas a 22°C no escuro e o percentual de germinação foi determinado 16 h após o início do teste, utilizando lactofenol para paralisar a germinação dos uredósporos, seguido de observação ao microscópio de luz. Nos testes de inoculação foram utilizados uredósporos com germinação superior a 20%.

As inoculações foram realizadas com uma suspensão de 1 mg de uredósporos de *H. vastatrix* mL⁻¹, com auxílio de um atomizador Paasche (modelo VL-SET) alimentado por sucção. Em seguida, as plantas foram transferidas para câmara úmida (UR > 95%, 23-25°C) e mantidas no escuro por 48 h.

Efeito de doses de silicato de potássio na inibição da germinação de uredósporos de *Hemileia vastatrix*

Para esse teste, foram utilizadas as doses de 8, 20, 40 e 60 g L⁻¹ de silicato de potássio (Fertilil[®] - 12% de SiO₂ e 15% de K₂O) com alteração do pH para 5,5 e 7,5 ou em pH normal (pH ≈ 10,5). O fungicida oxicloreto de cobre (7,5 g L⁻¹) e água destilada estéril (pH 5,5; 7,5 e 10,5) serviram como tratamentos testemunhas. Uma alíquota de 40 µL da suspensão de uredósporos de *H. vastatrix* (1 mg de uredósporos mL⁻¹) e outra de 40 µL das soluções de silicato de potássio e água destilada, nos três valores de pH, e de fungicida foram colocadas em placas de Petri (4 cm de diâmetro) contendo meio ágar-água solidificado, seguido de homogeneização com auxílio de uma alça de Drigalski. Em seguida, as placas de Petri foram incubadas a 22°C no escuro e o percentual de germinação determinado 16 h após o início do teste, utilizando lactofenol para paralisar a germinação dos uredósporos. Quantificou-se a germinação dos uredósporos pela observação ao microscópio de luz. Considerou-se como uredósporo germinado aquele que apresentou tubo germinativo maior ou igual a sua largura. A porcentagem de inibição da germinação (PIG) dos uredósporos foi calculada para cada dose de silicato de potássio em relação ao tratamento com água destilada. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com 15 tratamentos em arranjo fatorial 5 (doses de silicato de potássio e fungicida) x 3 (valores de pH), com cinco repetições. Cada repetição foi representada por uma placa de Petri.

Avaliação da severidade da ferrugem em mudas de cafeeiro submetidas a diferentes doses de silicato de potássio via foliar

O 2º e 3º par de folhas de mudas de cafeeiro, considerando-se como primeiro par as folhas logo abaixo da gema apical, foram pulverizados com as doses de 8, 20, 40 e 60

g L⁻¹ de silicato de potássio com pH 5,5 ou em pH normal (pH ≈ 10,5). Folhas de mudas pulverizadas com água destilada, fungicida Epoxiconazole (1 mL L⁻¹) e hidróxido de potássio (KOH) (6,5 g L⁻¹) com pH ajustado para 5,5 e 10,5, serviram como tratamentos controle. O tratamento com KOH foi utilizado de forma a equilibrar o teor de potássio (K) com a quantidade desse elemento presente na dose de 40 g L⁻¹ de silicato de potássio. Vinte e quatro horas após a aplicação dos produtos foi realizada a inoculação da face abaxial dos dois pares de folhas de cada muda, nos quais foi realizada a avaliação da severidade da ferrugem aos 40 dias após a inoculação com a utilização de uma escala desenvolvida por Kushalappa & Chaves (1978). Contou-se o número de pústulas por folha e determinou-se o índice de esporulação de acordo com uma escala de notas de 1 a 3 sendo: 1– pústulas com baixa intensidade de esporulação (coloração amarelo claro), 2– pústulas com média intensidade de esporulação (coloração amarelo intenso) e 3– pústulas com alta intensidade de esporulação (coloração laranja). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com oito repetições por tratamento. Cada unidade experimental foi composta de um vaso plástico contendo 1 kg de material de solo e uma muda de cafeeiro.

Avaliação da translocação do silicato de potássio aplicado via foliar em mudas de cafeeiro

Mudas de cafeeiro foram pulverizadas com a dose de 20 g L⁻¹ de silicato de potássio com pH 5,5 ou em pH normal (pH ≈ 10,5). As pulverizações foram realizadas de duas maneiras: 1) pulverização do 3º par de folhas, a partir do ápice, protegendo o 2º par com saco plástico e 2) pulverização de um par de folhas da lateral esquerda, protegendo o par de folhas da lateral direita com saco plástico. Os tratamentos com o fungicida sistêmico Epoxiconazole (1 mL L⁻¹), Acibenzolar-S-Metil (1 g L⁻¹) (padrão de

indução de resistência) e água destilada (controle), também foram utilizados. Vinte quatro horas após a aplicação dos tratamentos, foi realizada a inoculação da face abaxial dos respectivos pares de folhas previamente protegidos e dos que não receberam pulverização. A severidade da ferrugem foi realizada no par de folhas inoculado aos 40 dias após a inoculação com a utilização de uma escala desenvolvida por Kushalappa & Chaves (1978). Contou-se o número de pústulas por folha e determinou-se o índice de esporulação de acordo com uma escala de notas de 1 a 3 sendo: 1– pústulas com baixa intensidade de esporulação (coloração amarelo claro), 2– pústulas com média intensidade de esporulação (coloração amarelo intenso) e 3– pústulas com alta intensidade de esporulação (coloração laranja). O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 10 tratamentos em arranjo fatorial 5 (silicato de potássio nos dois valores de pH, Epoxiconazole, Acibenzolar-S-Metil e água destilada) x 2 (formas de pulverização), com oito repetições. Cada unidade experimental foi composta de um vaso plástico contendo 1 kg de material de solo e uma muda de cafeeiro.

Proteção (local ou sistêmica) de mudas de cafeeiro pelo silicato de potássio via foliar contra a ferrugem

Soluções de silicato de potássio nas doses de 15 e 35 g L⁻¹ (pH 5,5), Acibenzolar-S-Metil (1 g L⁻¹) (padrão de indução de resistência) e água destilada (controle), foram pulverizados no 3º par de folhas (a partir do ápice) de mudas de cafeeiro, protegendo-se o 2º par de folhas com saco plástico, e aos 1, 5, 15, 25 e 35 dias após pulverização a face abaxial dos dois pares de folhas (2º e 3º) de cada muda foi inoculada com *H. vastatrix*. A avaliação da severidade da ferrugem foi realizada no 2º e 3º par de folhas de cada muda aos 40 dias após a inoculação com a utilização de uma escala desenvolvida por Kushalappa & Chaves (1978). Contou-se o número de pústulas

por folha e determinou-se o índice de esporulação de acordo com uma escala de notas de 1 a 3 sendo: 1– pústulas com baixa intensidade de esporulação (coloração amarelo claro), 2– pústulas com média intensidade de esporulação (coloração amarelo intenso) e 3– pústulas com alta intensidade de esporulação (coloração laranja). O ensaio foi instalado num delineamento inteiramente casualizado no esquema de parcelas subdivididas com oito repetições. Cada unidade experimental foi composta de um vaso plástico contendo 1 kg de material de solo e uma muda de cafeeiro.

Microscopia eletrônica de varredura

O 2º par de folhas de mudas de cafeeiro foi pulverizado com 20 g L⁻¹ de silicato de potássio com pH 5,5 ou em pH normal (pH ≈ 10,5). Folhas de mudas pulverizadas com água destilada serviram como testemunha. Vinte e quatro horas após a aplicação dos tratamentos, foi realizada a inoculação da face abaxial do 2º par de folhas de cada muda. Amostras de folhas foram coletadas aos 5, 15 e 35 dias após a inoculação, cortadas em fragmentos de ± 0,5 cm², transferidos para frascos contendo 3 mL de fixativo glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (pH 7,2) por um período mínimo de 24 horas a 5°C. Em seguida, os fragmentos foram lavados três vezes por 15 min com tampão cacodilato de sódio 0,1 M (pH 7,2) e, subseqüentemente, desidratadas em série etanólica crescente (30, 50, 70, 80, 90, 95 e 100%) por 10 min. Posteriormente, iniciou-se a secagem ao ponto crítico em aparelho Balzers modelo TEC-030. Após secagem ao ponto crítico, em algumas amostras foi realizada fratura e remoção da cutícula com auxílio de fita adesiva. Em seguida, todas as amostras foram metalizadas com ouro em equipamento Balzers modelo FDU-010. As condições de trabalho foram de 20 kv a uma distância de até 24 mm. As amostras foram visualizadas

no microscópio eletrônico de varredura (MEV) (LEO VP1430) e as imagens foram geradas e registradas digitalmente.

Determinação dos teores foliares de silício e potássio e microanálise de raios-X (MAX)

Para determinação dos teores foliares de silício (Si) e potássio (K), foram coletadas amostras de folhas de mudas de cada tratamento e repetição dos ensaios de translocação e doses de silicato de potássio, descritos anteriormente. As folhas foram inicialmente lavadas com água de torneira, em seguida em água deionizada, posteriormente com uma solução de HCl 0,1 M e finalizando com enxágüe com água deionizada. Em seguida, as folhas foram secas em estufa com ventilação forçada de ar a 60°C por 72 h, sendo então trituradas em moinho tipo Wiley equipado com peneira de 20 mesh. Foi utilizada a metodologia proposta por Korndörfer et al. (2004) para determinação do teor foliar de Si. A determinação do teor foliar de K foi por digestão nitroperclórica e espectrofotometria de absorção atômica (Silva et al., 1999).

A preparação e a observação no MEV (DSM940–Zeiss) acoplado ao sistema de microanálise de raios-X (EDS-OXFORD INSTRUMENT Link ISIS) foi realizada no NAP/MEPA da ESALQ/USP. Um total de dez fragmentos de folhas foram montados em suportes de alumínio com a face inferior voltada para cima. Estes espécimes foram colocados em dessecador contendo sílica gel onde permaneceram por 24 h. Em seguida, os mesmos foram metalizados em equipamento Balzers modelo MED 010, com uma fina camada de carbono. As condições de trabalho foram de 20 kv a uma distância de 25 mm. Foi realizada análise dos elementos presentes nas amostras com ênfase para o elemento Si.

Análise estatística dos dados

Os ensaios foram realizados duas vezes e os dados de cada variável foram combinados após ser confirmada a homogeneidade da variância pelo teste de Bartlett (Gomez & Gomez, 1994). Os dados de cada variável foram submetidos à análise da variância e a comparação das médias dos tratamentos foi feita pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Foram realizados ajustes de equações de regressão para as respostas às doses crescentes de silicato de potássio. No ensaio de avaliação do efeito protetor, as médias dos valores do índice de esporulação, número de pústulas por folha e da severidade em cada época de inoculação e dentro de cada tratamento foram comparadas pelo teste-t de Student ao nível de 5% de probabilidade. Para todas as análises foi utilizado o programa SAS System v.9.1.

Resultados

Efeito de doses de silicato de potássio *in vitro* na inibição da germinação de uredósporos de *Hemileia vastatrix*

No ensaio *in vitro*, houve inibição da germinação dos uredósporos à medida que as doses de silicato de potássio aumentaram de 0 para 60 g L⁻¹, com efeito significativo para o ajuste de regressão linear para as soluções nos três valores de pH testados (Figura 1). As doses de 40 e 60 g L⁻¹ apresentaram os maiores índices de inibição independente do ajuste de pH das soluções, sendo, em média, de 29% o percentual de inibição da germinação dos uredósporos de *H. vastatrix*.

Efeito de doses de silicato de potássio na intensidade da ferrugem do cafeeiro

Houve decréscimo significativo no índice de esporulação, número de pústulas por folha e severidade da ferrugem à medida que as doses de silicato de potássio com pH da solução ajustado para 5,5 aumentaram de 0 para 60 g L⁻¹, com efeito significativo

para o ajuste de regressão linear (Figura 2). Para as doses em que não foi realizada a alteração de pH ($\text{pH} \approx 10,5$), o índice de esporulação, o número de pústulas por folha e a severidade apresentaram resposta quadrática negativa (Figura 2). Houve redução de 63, 83 e 79%, respectivamente, no índice de esporulação, número total de pústulas e severidade da dose de 0 para a dose de 40 g L^{-1} de silicato de potássio para soluções com ajuste de $\text{pH} \approx 10,5$. O menor valor de severidade ocorreu para dose de $40,7 \text{ g L}^{-1}$ de silicato de potássio.

No experimento realizado para isolar o efeito do K na severidade da ferrugem, não houve diferença significativa entre o tratamento com KOH ($6,5 \text{ g L}^{-1}$) e o tratamento controle (água destilada) para todas as variáveis avaliadas, independentemente do pH das soluções (Figura 3). O tratamento com silicato de potássio não diferiu estatisticamente do tratamento controle apenas para o número de pústulas, quando o pH da solução foi ajustado para 5,5. Para as demais variáveis, independente do pH testado, o tratamento com silicato de potássio foi efetivo em reduzir em 60% o índice de esporulação e em 78% a severidade da ferrugem e diferiu dos tratamentos controle e com KOH (Figura 2).

O teor foliar médio de Si nas mudas de cafeeiro pulverizadas com silicato de potássio ($\text{pH} 5,5$) foi de $2,8 \text{ g kg}^{-1}$. Ajustou-se o modelo linear apenas para os dados do ensaio em que o pH das soluções de silicato de potássio foi corrigido para 5,5 havendo aumento significativo da concentração de Si foliar à medida que as doses aumentaram de 0 para 60 g L^{-1} (Tabela 1). O teor foliar de Si variou de 2,2 a $2,4 \text{ g kg}^{-1}$ no experimento com soluções de silicato de potássio sem ajuste de pH ($\text{pH} \approx 10,5$), não sendo significativa a análise estatística para o ajuste de regressão (Tabela 1). Os tratamentos com silicato de potássio e KOH nos dois pH testados diferiram entre si

quanto ao teor foliar de Si, sendo que as mudas que receberam o tratamento com KOH apresentaram o maior teor foliar de Si ($3,7 \text{ g kg}^{-1}$).

Não houve ajuste de modelos linear ou quadrático para o teor foliar de K em função das doses crescentes de silicato de potássio (Tabela 1). Houve diferença significativa quanto ao teor foliar de K entre o tratamento controle (água destilada) e os tratamentos com silicato de potássio e KOH, independente do pH das soluções (Figura 3). O maior teor foliar de K (31 g kg^{-1}) ocorreu em mudas de cafeeiro pulverizadas com água destilada.

Avaliação da translocação do silício em mudas cafeeiro pulverizadas com silicato de potássio

O tratamento com silicato de potássio em pH 5,5 aplicado no terceiro par de folhas de mudas de cafeeiro reduziu a severidade da ferrugem no segundo par de folhas (Figura 5). Houve redução de 57, 50 e 55% no índice de esporulação, número de pústulas por folha e severidade, respectivamente, em relação ao tratamento controle. O tratamento com silicato de potássio não diferiu estatisticamente do indutor Acibenzolar-S-Metil (Figura 5). Quando a solução de silicato de potássio foi aplicada em folhas de uma das laterais das mudas, somente foi observada redução de 39% na severidade em relação aos pares de folhas das mudas no tratamento controle. Entretanto, folhas pulverizadas com a solução de silicato de potássio em pH normal ($\text{pH} \approx 10,5$), independentemente da forma de aplicação, não resultou em translocação do Si e, conseqüentemente, não houve redução nos valores dos três componentes de resistência avaliados (Figura 5). O teor foliar de Si nas mudas de cafeeiro pulverizadas com silicato de potássio nos dois valores de pH, independente da forma de aplicação, se no par de folhas inferior ou lateral, não diferiu estatisticamente dos demais tratamentos (Figura 6).

Avaliação do possível efeito protetor de silicato de potássio em mudas de cafeeiro contra a ferrugem

Nos ensaios realizados para avaliar o efeito protetor do silicato de potássio, as doses de 15 e 35 g L⁻¹ em pH 5,5 apresentaram efeito semelhante quanto ao desenvolvimento da ferrugem em relação aos três componentes de resistência avaliados (Tabelas 2 e 3). A proteção local contra *H. vastatrix* foi expressa a partir do primeiro dia após a aplicação do silicato de potássio no terceiro par de folhas, prolongando-se até aos 25 dias entre a aplicação desse produto e a inoculação com *H. vastatrix*. Níveis máximos de proteção local foram obtidos entre 5 e 15 dias após a pulverização com silicato de potássio nas duas doses testadas. Para esse intervalo de dias, foi observada, em média, uma redução de 40% no índice de esporulação, de 76% no número de pústulas por folha e de 78% na severidade da ferrugem com a dose de 15 g L⁻¹ de silicato de potássio. Para a dose de 35 g L⁻¹, no mesmo intervalo de dias, houve em média, uma redução de 28; 69 e 75% no índice de esporulação, número de pústulas e severidade, respectivamente. A proteção sistêmica no segundo par de folhas foi detectada apenas para o intervalo de um dia após a aplicação silicato de potássio, com redução de 34 e 31% na severidade da ferrugem em mudas de cafeeiro tratadas com 15 e 35 g L⁻¹ de silicato de potássio, respectivamente (Tabelas 2 e 3).

O indutor Acibenzolar-S-Metil promoveu proteção local e sistêmica contra *H. vastatrix*, a qual foi expressa a partir do primeiro dia após a aplicação do produto, sendo observada até aos 35 dias entre o tratamento com o indutor e a inoculação com o patógeno (Tabela 4). Níveis máximos de proteção local e sistêmica foram observados entre 5 e 15 dias após a aplicação do indutor.

Análise microscópica da interação fungo-plantas e microanálise de raios-X da deposição foliar de silício em folhas de mudas de café

Em folhas de mudas de café pulverizadas com água aos 15 dias após a inoculação com *H. vastatrix* foram observadas pústulas em início de desenvolvimento, enquanto que em folhas tratadas com silicato de potássio com pH normal (pH \approx 10,5), os uredósporos haviam apenas germinado (Figura 8A e B). Aos 35 dias após a inoculação, foi observado um maior número de pústulas completamente formadas nos fragmentos de folhas das mudas pulverizadas com água em relação aos fragmentos obtidos de folhas tratadas com silicato de potássio (pH \approx 10,5) (Figura 8C e D). Observações semelhantes foram detectadas em amostras obtidas de plantas tratadas com solução de silicato de potássio com pH de 5,5 (Figuras 9 e 10). Nessas amostras, foi realizada remoção da cutícula e parte delas foram fraturadas, o que possibilitou a visualização de estruturas do fungo nos tecidos da folha (Figura 9). Observou-se que a intensidade do crescimento do fungo, foi menor nas amostras das folhas tratadas com silicato de potássio foi menor.

Após pulverização das folhas com silicato de potássio, foi observado manchas de aspecto seco e cristalino e coloração branca (Figura 7). Pela MEV pôde-se constatar que se tratava de placas de silicato de potássio polimerizado sobre a epiderme. A presença dessas placas na epiderme abaxial de folhas de mudas de café foi detectada aos 6, 16 e 36 dias após a aplicação do produto nos dois valores de pH testados (Figuras 8, 9 e 10). A microanálise de raios-X confirmou a presença de Si somente em amostras de folhas de mudas tratadas com silicato de potássio, embora em baixa quantidade em relação à testemunha (Figura 11). A análise de amostras de folhas coletadas aos 10 dias após a aplicação de silicato de potássio, indicou presença de Si em torno de 15% em

relação aos demais elementos detectados (Figura 11B). Essa porcentagem reduziu para 6,4%, quando foram analisadas amostras de folhas coletadas aos 35 dias após a aplicação de silicato de potássio (Figura 11D). Em corte transversal de fragmentos de folha o Si não foi detectado (dados não apresentados).

Discussão

Este trabalho apresenta os primeiros resultados referentes à aplicação foliar de Si em mudas de cafeeiro no que se diz respeito à absorção de Si e seu efeito no comportamento da ferrugem. Dicotiledôneas, em geral, são consideradas plantas não acumuladoras de Si, pois apresentam teores desse elemento inferiores a 0,5%, exceto para espécies da família *Cucurbitaceae*, com teores de Si em torno de 2,9% do peso da matéria seca das plantas (Ma & Takahashi, 2002). No presente trabalho, a aplicação foliar de silicato de potássio não influenciou no teor de Si nas folhas de mudas de cafeeiro. Pela análise de amostras de folhas, o teor máximo de Si encontrado foi de 0,3% em mudas que foram tratadas com 60 g L⁻¹ (pH 5,5) de silicato de potássio. Santos-Botelho et al. (2005) em estudos realizados com fontes de Si visando o manejo da cercosporiose em mudas de cafeeiro (cv. Catuaí IAC 99), também verificaram que o teor foliar de Si não foi influenciado pela aplicação desse elemento, embora tenha ocorrido redução na porcentagem de plantas doentes com o aumento das doses de silicato de sódio aplicadas ao substrato. Esses resultados têm ocorrido também em plantas monocotiledôneas capazes de absorver Si. Guével et al. (2007) observaram através de microanálise de raios-X desprezível quantidade de Si em folhas de trigo pulverizadas com silicato de potássio e concluíram que a provável redução na severidade do oídio foi em função de um efeito deletério do silicato de potássio sobre o fungo.

Embora a aplicação foliar de silicato de potássio não aumentou o teor foliar de Si, as doses crescentes desse produto foram efetivas em reduzir o desenvolvimento da ferrugem. A severidade da ferrugem apresentou, em média, um decréscimo de 87% da dose de 0 para a dose de 60 g L⁻¹ de silicato de potássio nos dois valores de pH testados. A baixa eficiência na absorção de Si pelas folhas de cafeeiro pode ser atribuída à formação de polímeros de silicato na superfície foliar. O Si na forma solúvel de ácido monossilícico em concentrações elevadas e sob pH baixo, é transformado em ácido polisilícico, o qual é facilmente polimerizado tornando-se indisponível para ser absorvido pelas plantas (Iler, 1979; Knight & Kinrade, 2001).

No presente trabalho, após pulverização das folhas com silicato de potássio, foi observado manchas de aspecto seco e cristalino e coloração branca. Pela análise de MEV, observou-se na epiderme abaxial de folhas de mudas de cafeeiro pulverizadas com silicato de potássio a presença de camadas espessas de placas sobre a cutícula, sendo evidente que nas áreas onde se localizavam esses depósitos houve um menor número de pústulas. Confirmou-se pela microanálise de raios-X que esse material tratava-se de placas de silicato polimerizado. Depósitos de placas de silicato de potássio que se formam na superfície das folhas após a secagem da solução pulverizada podem ser considerados como barreira física a penetração de patógenos na epiderme (Menzies et al., 1992).

A deposição de silicato de potássio foi observada em amostras coletadas até mesmo aos 36 dias após a aplicação das soluções, sugerindo que o efeito protetor local observado em mudas de cafeeiro ocorreu em consequência da presença do silicato de potássio polimerizado sobre a superfície foliar, que possivelmente interferiu no desenvolvimento do fungo pela ação deletéria direta que acabou por reduzir a

severidade da ferrugem. A proteção local contra *H. vastatrix* foi expressa a partir do primeiro dia após a aplicação de silicato de potássio no terceiro par de folhas, prolongando-se durante um intervalo de tempo de até 25 dias entre a aplicação da fonte de Si e a inoculação com o fungo. Entre 5 e 15 dias após a pulverização com silicato de potássio foram observados os maiores níveis de redução na severidade, em média de 76,3% para as duas doses de silicato de potássio testadas. Guzzo et al (2004) observaram efeito protetor local e sistêmico contra *H. vastatrix* em mudas de cafeeiro (cv. Mundo novo) tratadas com Acibenzolar-S-Metil até o intervalo de 35 dias após a aplicação do indutor, a semelhança do que foi observado no presente estudo.

Os mecanismos pelos quais o Si confere resistência à determinada doença pode ser por barreira física com o acúmulo desse elemento na parede das células da epiderme e da cutícula, ou acúmulo no local de penetração do patógeno (Bowen et al., 1992; Seebold et al., 2001), ou ainda, por promover respostas de defesa da planta como o acúmulo de compostos fenólicos e ativação de genes-PR (Fawe et al., 1998; Bélanger et al., 2003; Rodrigues et al., 2005). A hipótese de uma resposta de defesa física até mesmo de ação direta sobre o patógeno é a que mais se encaixa no efeito da aplicação foliar de Si sobre o desenvolvimento de doenças. A maioria dos estudos realizados que avaliam a fertilização foliar de Si no controle de doenças preconizam a ação direta do silicato de potássio em função da deposição e polimerização desse produto, afetando o desenvolvimento do patógeno na superfície foliar da planta hospedeira. Liang et al. (2005) em estudo comparando a aplicação de silício via foliar e solução nutritiva, constataram que as duas formas de fornecimento do elemento foram efetivas no controle do oídio em plantas de pepino. O Si absorvido pelas raízes promoveu aumento da atividade das enzimas peroxidases, polifenoloxidasas e quitinasas. Tal fato não foi

observado no fornecimento de Si via foliar, sendo que o controle da doença foi atribuído à barreira física ou ao efeito osmótico do silicato de potássio aplicado na superfície foliar.

O fato de ter ocorrido inibição na germinação de uredósporos de *H. vastatrix* em função das doses crescentes de silicato de potássio no ensaio *in vitro* contribui com a hipótese de que houve além de uma barreira física, pela presença do silicato polimerizado na superfície foliar, uma ação direta do silicato de potássio pulverizado nas folhas sobre o fungo. Embora os percentuais de inibição observados sejam relativamente baixos, com índice máximo de 22% para a dose de 60 g L⁻¹, contudo, levando-se em consideração que a média de uredósporos germinados no tratamento controle foi de 35% (dados não apresentados), esse percentual de inibição da germinação dos uredósporos pode ser considerado significativo para redução da severidade da ferrugem. Bowen et al. (1992) em estudos realizados com a aplicação de silicato de potássio em folhas de videira, observaram redução de 14% no número de lesões de *Uncinula necator* e inibição da germinação dos esporos quando o silicato de potássio foi incorporado ao meio de cultura. Os autores observaram através de microanálise de raios-X que a deposição de Si localizava-se ao redor do apressório do fungo, sendo a redução do oídio atribuída à barreira física. A ação direta do silicato de potássio também ocorre no desenvolvimento de patógenos como *Alternaria solani*, *Colletotrichum coccodes*, *Fusarium solani* e *Phytophthora cinnamomi* (Kaiser et al., 2005).

Quando avaliada a translocação do Si em mudas de cafeeiro, houve redução da severidade da ferrugem no par de folhas que não foi realizada a aplicação de silicato de potássio (pH 5,5). Entretanto, pela análise de amostras de folhas tratadas e não tratadas

com o produto foi observado que as mesmas não apresentaram diferença no teor foliar de Si que foi, em média, de 0,2%. Para o ensaio realizado para avaliar o efeito protetor sistêmico à *H. vastatrix*, também houve redução da severidade da ferrugem em folhas não pulverizadas, em média, de 32% no intervalo de um dia após a aplicação silicato de potássio. É importante ressaltar que a redução da severidade da ferrugem ocorreu somente quando foi aplicada solução de silicato de potássio em pH 5,5. Como mencionado anteriormente, em pH mais baixo o Si solúvel tende a se polimerizar rapidamente, enquanto que para os demais elementos, incluindo o K, essa condição de pH é a mais apropriada para absorção pelas plantas, pois o mesmo encontra-se disponível (Taiz & Zeiger, 2004).

É plausível inferir a possibilidade de uma maior absorção de K pelas folhas, e que esse elemento em função da alta mobilidade na planta possa ter promovido alguma interferência no metabolismo da planta, de maneira a interferir na resposta de defesa. É sabido que o K constitui-se como um elemento vital nos processos da planta atuando como regulador de várias rotas fisiológicas e afeta a atividade de mais de 50 diferentes enzimas, além de reduzir a intensidade de várias doenças causadas por fungos e bactérias (Prabhu et al., 2007). Considerando-se a ausência de informação para o patossistema estudado, em patossistemas como trigo e algumas espécies de fungo que causam ferrugem, o K redução na severidade da doença (Russell, 1978; Sweeney et al., 2000). No patossistema cafeeiro-*Cercospora coffeicola* o K também apresentou efeito positivo na redução da severidade, sendo que o elemento, isolado ou em associação com Ca, reduziu a incidência da cercosporiose (Júnior et al., 2003).

Em cafeeiro, os mecanismos pelos quais o Si aumenta a resistência a patógenos ainda não estão bem esclarecidos. Trabalhos em que o fornecimento de Si foi realizado

via solo com objetivo de avaliar o efeito sobre o desenvolvimento da cercosporiose em mudas de cafeeiro, Pozza et al. (2004) atribuíram o espessamento da cutícula e o aumento da absorção de micronutrientes ao aumento da resistência; enquanto que em outros estudos atribui-se ao acúmulo de lignina a redução na intensidade da doença (Santos-Botelho et al., 2005).

Com base nos resultados obtidos desse estudo, conclui-se que a aplicação foliar de silicato de potássio foi eficiente na redução da intensidade da ferrugem do cafeeiro, formando uma barreira física na superfície da epiderme após sua polimerização, o que, possivelmente, tenha afetado a germinação dos uredósporos até mesmo influenciado a penetração do fungo via estômato.

Agradecimentos

Ao Professor Elliot W. Kitajima (NAP/MEPA ESALQ/USP) pela ajuda e disponibilização de infra-estrutura para realização das microanálises de raios-X e a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) (Processo N°: EDT-561/05) pelo apoio financeiro.

Referências

- Bélangier, R.R.; Benhamou, N.; Menzies, J.G. Cytological evidence of an active role of silicon in wheat resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*). **Phytopathology**, v.93, p.402-412, 2003.
- Bowen, P.; Menzies, J.; Ehret, D. Soluble silicon sprays inhibit powdery mildew development on grape leaves. **Journal Amer. Soc. Hort. Science**, v.117, p.906-912. 1992.
- Buck, G.B.; Korndörfer, G.H.; Nolla, A.; Coelho, L. Potassium silicate as foliar spray and rice blast control. **Journal of Plant Nutrition**, v.31, p.231-237. 2008.
- Chérif, M., Benhamou, N., Menzies, J.G.; Bélangier, R.R. Silicon induced resistance in cucumber plants against *Pythium ultimum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.41, p.411-425. 1992.
- Fauteux, F.; Chain, F.; Belzile, F.; Menzies, J.G.; Bélangier, R.R. The protective role of silicon in the *Arabidopsis*-powdery mildew pathosystem. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. v.103, p.17554-17559. 2006.
- Fawe, A.; Abou-Zaid, M.; Menzies, J.G.; Bélangier, R.R. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. **Phytopathology**, v.88, p.396-401, 1998.
- Gomez, K.A.; Gomez, A.A. **Statistical procedures for agricultural research**. 2nd Edition, Wiley, New York, USA. 1994.
- Guével, M.H.; Menzies, J.G.; Bélangier, R.R. Effect of root and foliar applications of soluble silicon on powdery mildew control and growth of wheat plants. **Eur. Journal Plant Pathology**, v.119, p.429-436. 2007.

- Guzzo, S.D.; Harakava, R.; Lucon, C.M.M.; Tsai, S.M. Resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e indução local e sistêmica de quitinases e β -1,3-glucanases por acibenzolar-S-metil. **Summa Phytopathologica**, v.30, p.376-381. 2004.
- Iler, R.K. **The chemistry of silica**. Wiley Interscience, New York, EUA. 1979.
- Júnior, D.G.; Pozza, E.A.; Pozza, A.A.A.; Souza, P.E.; Carvalho, J.G.; Balieiro, A.C. Incidência e severidade da cercosporiose do cafeeiro em função do suprimento de potássio e cálcio em solução nutritiva. **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.286-291. 2003.
- Kaiser, C.; Merwe, R. van der; Bkker, T.F.; Labuschagne, N. *In-vitro* inhibition of mycelial growth of several phytopathogenic fungi, including *Phytophthora cinnamomi* by soluble silicon. **South African Avocado growers' Association Yearbook**, v.28, p.70-74. 2005.
- Knight, C.T.G.; Kinrade, S.D. A primer on the aqueous chemistry of silicon. In: Datnoff, L.E.; Snyder, G.H.; Korndörfer, G. H. (Eds.). **Silicon in Agriculture. Studies in plants in Plant Science**. Elsevier: Amsterdam, Holland. v.8, p.57-84. 2001.
- Korndörfer, G.H.; Pereira, H.S.; Nolla, A. **Análise de silício: solo, planta e fertilizante**. Uberlândia: GPSI/ICIAG/UFU, 34p. (Boletim Técnico). 2004.
- Kushalappa, A.C.; Chaves, G.M. Escala para avaliar a percentagem de área foliar com ferrugem do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.3, (Suplemento), p.119. 1978.
- Liang, Y.C.; Sun, W.C.; Si, J.; Römheld, V. Effects of foliar and root applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus*. **Plant Pathology**, v.54, p.678-685. 2005.

- Ma, J.F.; Takahashi, E. **Soil, Fertilizer, and Plant Silicon Research in Japan**. Elsevier Science. Kyoto-Japan. 281p. 2002.
- Malavolta, E.; Vitti, G.C.; Oliveira, S.A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. POTAFOS, 2 ed. Piracicaba-SP. 319p. 1997.
- Matiello, J.B.; Santinato, R.; Garcia, A.W.R.; Almeida, S.R.; Fernandes, D.R. Cultura do Café no Brasil. In: Matiello, J.B. (Ed). **Novo Manual de Recomendações. MAPA/PROCAFÉ**. Rio de Janeiro-RJ. 387p. 2002.
- Menzies, J.G., Ehret, D.L., Glass, A.D. M., Samuels, A.L. The influence of silicon on cytological interactions between *Sphaerotheca fuliginea* and *Cucumis sativus*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.39, p.403-414. 1991.
- Pozza, A.A.A.; Alves, E.; Pozza, E.A.; Carvalho, J. G. de; Montanari, M.; Guimarães, P.T.G.; Santos, D.M. Efeito do silício no controle da cercosporiose em três variedades de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.185-188. 2004.
- Prabhu, A.S.; Fragarie, N.K.; Huber, D.M.; Rodrigues, F.Á. Potassium and Plant disease. In: Datnoff, L.E.; Elmer, W.H.; Huber, D.M. (Eds.). **Mineral nutrition and plant disease**. APS-PRESS, St. Paul, Minesota, EUA. p.57-78. 2007.
- Rodrigues, F.A.; Jurick, W.M.; Datnoff, L.E.; Jones, J.B.; Rollins, J.A. Silicon influences cytological and molecular events in compatible rice-*Magnaporthe grisea* interactions. **Physiol. Mol. Plant Pathol.**, v.66, p.144-159. 2005.
- Russell, G.E. Some effects of applied sodium and potassium chloride on yellow rust in winter wheat. **Ann. Appl. Biol.**, v.90, p.163-168. 1978.
- Santos-Botelho, D.M.; Pozza, E.A.; Pozza, A.A.A.; Carvalho, J.G.; Botelho, C.E.; Souza, P.E. Intensidade da cercosporiose em mudas de cafeeiro em função de fontes e doses de silício. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, p.582-588. 2005.

- Seebold, K.W.; Kuchareku, T.A.; Datnoff, L.E.; Correa-Victoria, F.J.; Marchetti, M.A. The influence of silicon on components of resistance to blast in susceptible, partially resistant, and resistant cultivars of rice. **Phytopathology**, v.91, p.63-69. 2001.
- Silva, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: EMBRAPA (Org.), 370 p. 1999.
- Sweeney, D.W.; Granade, G.V.; Eversmeyer, M.G.; Whitney, D.A. Phosphorus, potassium, chloride, and fungicide effects on wheat yield and leaf rust severity. **Journal Plant Nutr.**, v.23, p.1267-1281. 2000.
- Taiz, L.; Zeiger, E. **Fisiologia Vegetal**. 3º Ed. Artmed, Porto Alegre, RS. p.95-113. 2004.
- Várzea, V.M.P.; Rodrigues, C.J.; Silva, M.do C.M.L.; Gouveia, M.; Marques, D.V.; Guerra-Guimarães, L.; Ribeiro, A. Resistência do cafeeiro a *Hemileia vastatrix*. In: Zambolim, L. (Eds.). **O Estado da Arte de Tecnologias de Produção de Café**. UFV – Viçosa-MG, Brasil. p.297-320. 2002.
- Zambolim, L.; Chaves, G.M. Efeito de baixas temperaturas e do binômio temperatura-umidade relativa sobre a viabilidade dos uredósporos de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. e *Uromyces phaseoli typica* Arth. **Experientiae**, v.17, p.151-184. 1974.
- Zambolim, L.; Vale, F.X.R.; Costa, H.; Pereira, A.A.; Chaves, G.M. Epidemiologia e controle integrado da ferrugem do cafeeiro. In: Zambolim, L. (Eds.). **O Estado da Arte de Tecnologias de Produção de Café**. UFV – Viçosa-MG, Brasil. p.369-450. 2002.

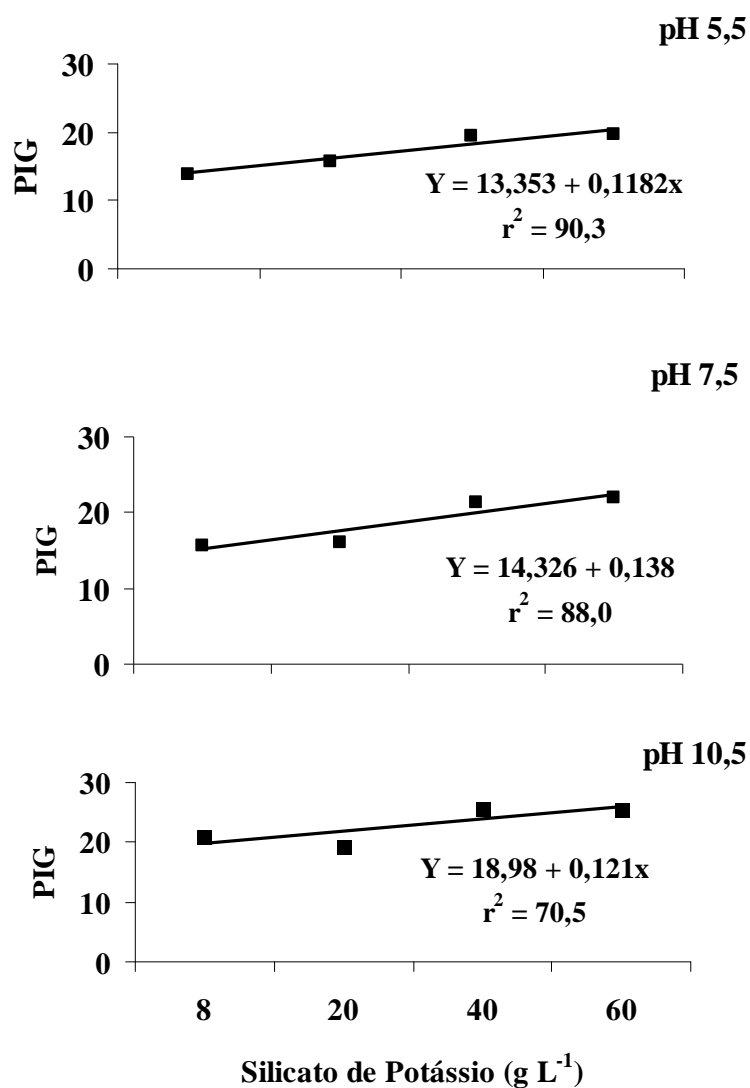


Figura 1. Percentual de inibição da germinação (PIG) de uredósporos de *Hemileia vastatrix* em função de doses crescentes de silicato de potássio e fungicida em três valores de pH.

Tabela 1. Teor foliar de silício (Si) e potássio (K) em folhas de mudas de cafeeiro pulverizadas com doses crescentes de silicato de potássio (SP) com (pH 5,5) ou sem ajuste (pH ≈ 10,5) do pH da solução.

Doses de SP (g L ⁻¹)	Si (g kg ⁻¹)		K (g kg ⁻¹)	
	pH 5,5	pH 10,5	pH 5,5	pH 10,5
0	2,2	2,2	31,1	31,1
8	2,4	2,3	21,5	24,8
20	2,7	2,5	22,8	26,5
40	3,1	2,2	26,5	25,3
60	3,0	2,4	27,3	22,8
	*	ns	ns	ns

*Significativo (P ≥ 0,05) de acordo com a análise de regressão (Y = 2,13 + 0,03x; r² = 81); ns: não significativo.

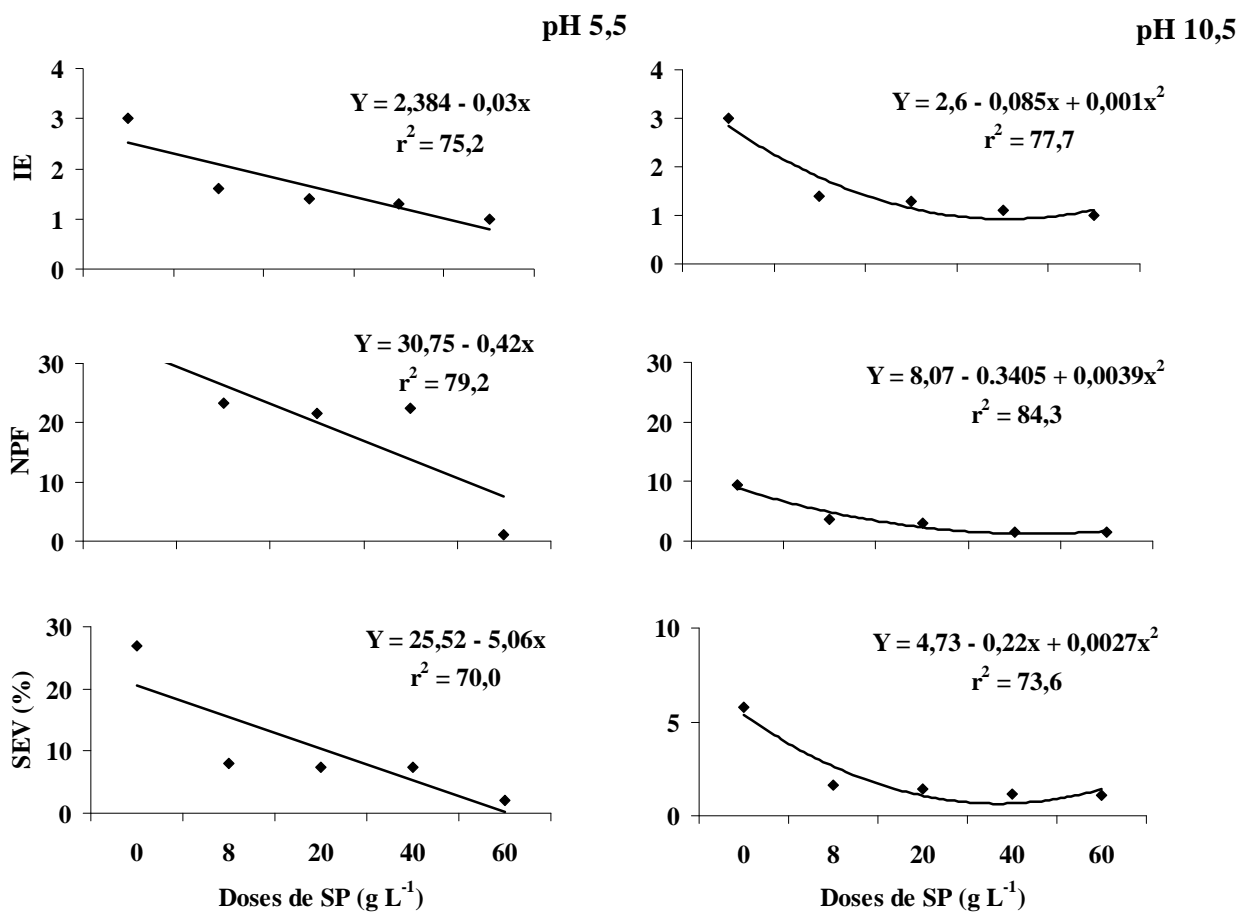


Figura 2. Índice de esporulação (IE), número de pústulas por folha (NPF) e severidade (SEV) da ferrugem em mudas de cafeeiro em função de doses crescentes de silicato de potássio (SP).

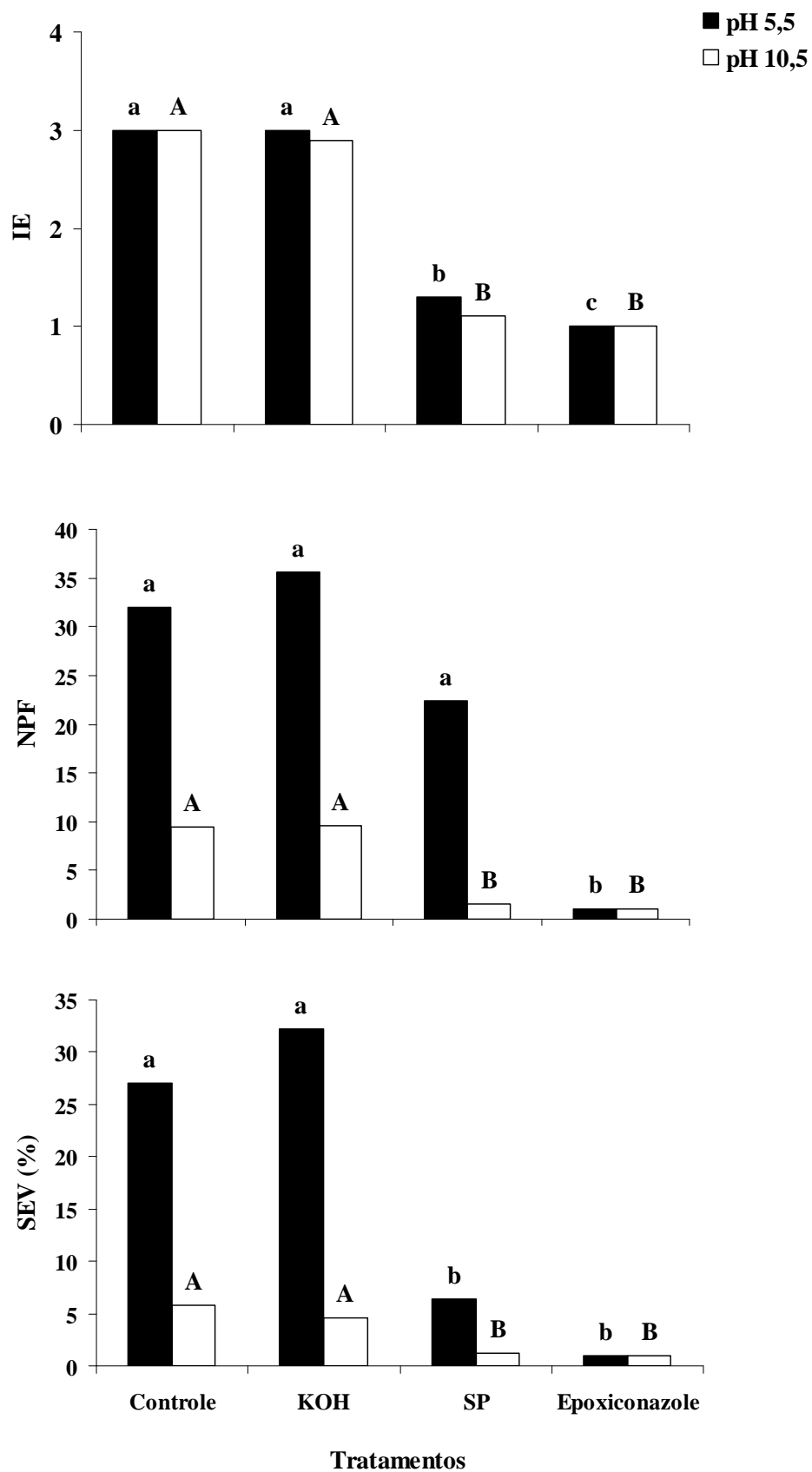


Figura 3. Índice de esporulação (IE), número de pústulas por folha (NPF) e severidade (SEV) da ferrugem em mudas de cafeeiro em função de diferentes tratamentos. SP: silicato de potássio (40g L⁻¹). Colunas seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

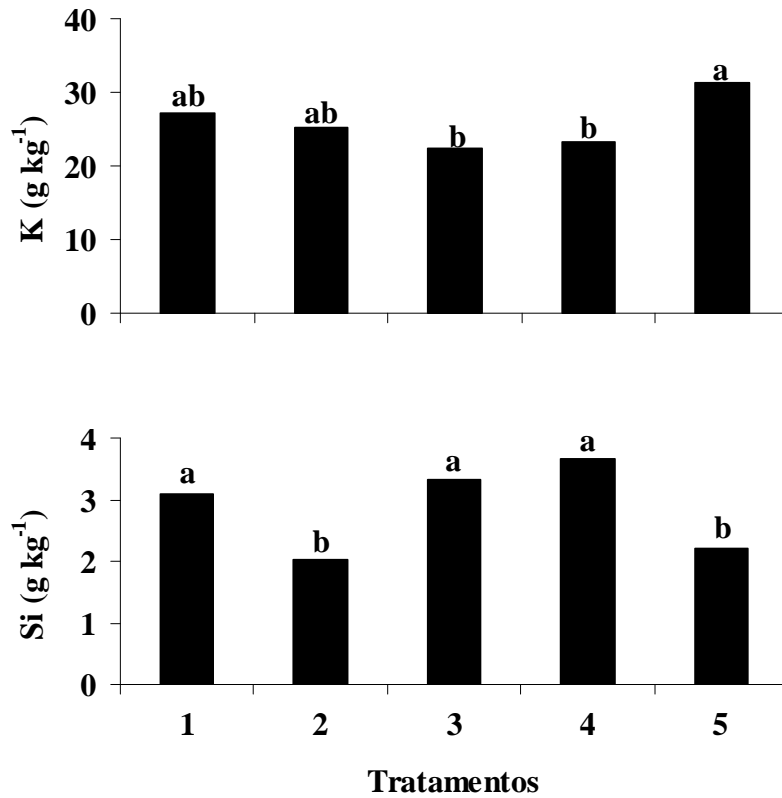


Figura 4. Teor foliar de potássio (K) e de silício (Si) em mudas de cafeeiro em função dos tratamentos: 1 – silicato de potássio (SP) 40 g L⁻¹ (pH 5,5); 2 – SP 40 g L⁻¹ (pH ≈ 10,5); 3 – Hidróxido de potássio (KOH) (pH 5,5); 4 – KOH (pH ≈ 10,5) e 5 – controle (pulverização com água destilada). Colunas seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

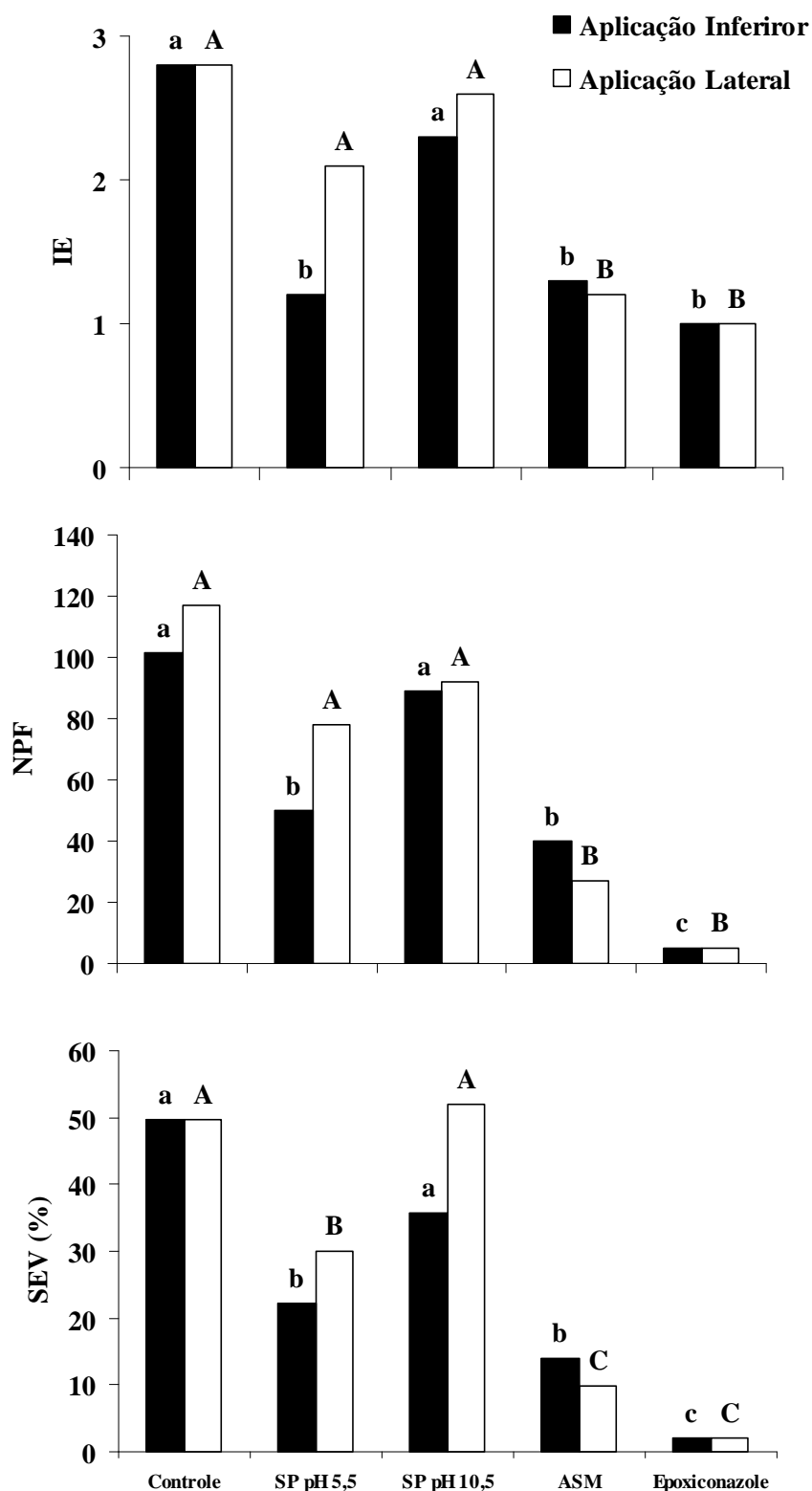


Figura 5. Índice de esporulação (IE), número de pústulas por folha (NPF) e severidade (SEV) da ferrugem em mudas de cafeeiro em função da pulverização de silicato de potássio (SP), água destilada (controle), Acibenzolar-S-Metil (ASM) ou Epoxiconazole nos dois pares de folhas laterais (aplicação lateral) ou no 3º par de folhas a partir do ápice (aplicação inferior). Colunas seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

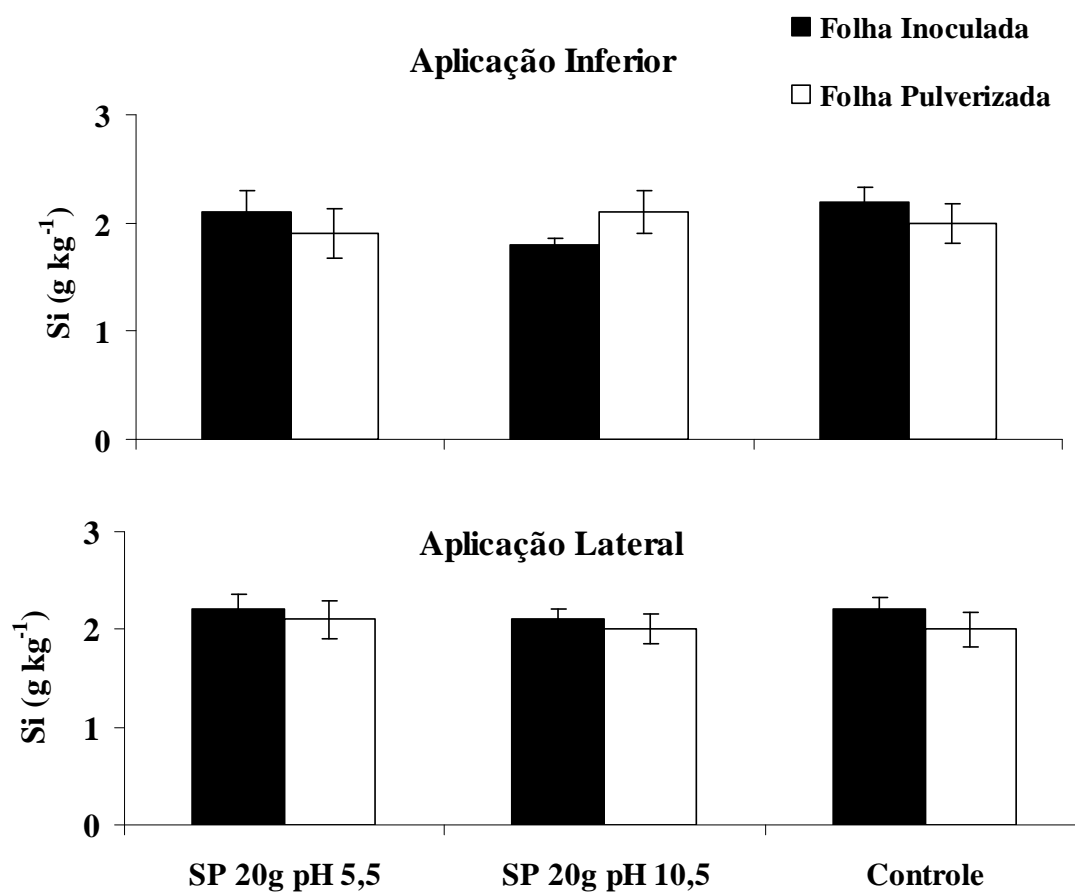


Figura 6. Teor foliar de silício (Si) em mudas de cafeeiro em função da pulverização de silicato de potássio (SP) ou água destilada (controle) nos dois pares de folhas laterais (aplicação lateral) ou no 3º par de folhas a partir do ápice (aplicação inferior). As folhas inoculadas com *H. vastatrix* não foram pulverizadas com SP. O desvio padrão da média está representado em cada barra.

Tabela 2. Índice de esporulação (IE), número de pústulas por folha (NPF) e severidade (SEV) da ferrugem em mudas de cafeeiro inoculadas com *Hemileia vastatrix* após diferentes intervalos de tempo da aplicação do tratamento foliar com silicato de potássio (SP) na dose de 15 g L⁻¹.

Intervalo em dias ¹	Proteção local (3 ^{os} pares de folhas)					
	IE ²		NPF ²		SEV (%) ²	
	Controle ³	SP	Controle	SP	Controle	SP
1	2,6 ± 0,1	1,9 ± 0,1*	69,0 ± 5,8	32,6 ± 4,3*	55,7 ± 9,2	13,4 ± 1,8*
5	2,1 ± 0,2	1,3 ± 0,1*	78,6 ± 4,2	16,6 ± 2,9*	60,7 ± 10,2	10,1 ± 1,7*
15	1,9 ± 0,2	1,1 ± 0,1*	61,0 ± 5,2	16,4 ± 2,1*	43,6 ± 10,6	11,9 ± 1,6*
25	2,6 ± 0,2	1,7 ± 0,1*	149,3 ± 9,9	57,6 ± 4,8*	89,9 ± 3,8	38,6 ± 7,3*
35	2,3 ± 0,1	2,0 ± 0,1 ^{ns}	70,6 ± 9,1	64,3 ± 5,2 ^{ns}	37,6 ± 4,8	30,9 ± 1,3 ^{ns}

Intervalo em dias ¹	Proteção sistêmica (2 ^{os} pares de folhas)					
	IE		NPF		SEV (%)	
	Controle	SP	Controle	SP	Controle	SP
1	2,4 ± 0,1	2,7 ± 0,1 ^{ns}	54,6 ± 7,3	60,3 ± 6,1 ^{ns}	30,1 ± 1,6	19,9 ± 2,6*
5	2,2 ± 0,2	2,1 ± 0,2 ^{ns}	63,6 ± 8,0	60,3 ± 1,3 ^{ns}	33,1 ± 3,5	45,4 ± 5,1 ^{ns}
15	2,1 ± 0,2	1,8 ± 0,1 ^{ns}	90,3 ± 19,3	75,6 ± 4,2 ^{ns}	39,3 ± 6,8	38,0 ± 6,7 ^{ns}
25	2,6 ± 0,2	2,6 ± 0,1 ^{ns}	154,0 ± 8,5	135,1 ± 6,6 ^{ns}	94,7 ± 2,3	86,4 ± 4,6 ^{ns}
35	2,2 ± 0,2	1,9 ± 0,1 ^{ns}	92,1 ± 7,0	109,7 ± 6,7 ^{ns}	42,6 ± 6,2	63,4 ± 7,9 ^{ns}

¹O silicato de potássio foi aplicado na superfície abaxial do 3^o par de folhas a partir do ápice. Após determinados intervalos de tempo em dias, o 2^o e o 3^o par de folhas foram inoculados com *H. vastatrix*; ²média de dois experimentos ± erro padrão; ³plantas pulverizadas com água destilada. *Médias dos valores de cada variável no tratamento com SP diferem significativamente dos respectivos controles ao nível de 5% pelo teste-t de Student; ns: não significativo.

Tabela 3. Índice de esporulação (IE), número de pústulas por folha (NPF) e severidade (SEV) da ferrugem em mudas de cafeeiro inoculadas com *Hemileia vastatrix* após diferentes intervalos de tempo da aplicação do tratamento foliar com silicato de potássio (SP) na dose de 35 g L⁻¹.

Intervalo em dias ¹	Proteção local (3 ^{os} pares de folhas)					
	IE ²		NPF ²		SEV (%) ²	
	Controle ³	SP	Controle	SP	Controle	SP
1	2,6 ± 0,1	1,9 ± 0,2*	69,0 ± 5,8	33,9 ± 4,4*	55,7 ± 9,2	19,7 ± 2,8*
5	2,1 ± 0,2	1,6 ± 0,2*	78,6 ± 4,2	14,3 ± 2,2*	60,7 ± 10,2	10,4 ± 1,6*
15	1,9 ± 0,2	1,3 ± 0,1*	61,0 ± 5,2	26,4 ± 5,6*	43,6 ± 10,6	14,6 ± 3,4*
25	2,6 ± 0,2	2,0 ± 0,2*	149,3 ± 9,9	95,6 ± 10,1*	89,9 ± 3,8	56,4 ± 9,7*
35	2,3 ± 0,1	2,0 ± 0,1 ^{ns}	70,6 ± 9,1	50,4 ± 8,9 ^{ns}	37,6 ± 4,8	29,7 ± 4,2 ^{ns}

Intervalo em dias ¹	Proteção sistêmica (2 ^{os} pares de folhas)					
	IE		NPF		SEV (%)	
	Controle	SP	Controle	SP	Controle	SP
1	2,4 ± 0,13	2,5 ± 0,2 ^{ns}	54,6 ± 7,3	43,4 ± 7,1 ^{ns}	30,1 ± 1,6	20,9 ± 3,3*
5	2,2 ± 0,20	2,7 ± 0,2 ^{ns}	63,6 ± 8,0	52,3 ± 5,2 ^{ns}	33,1 ± 3,5	31,6 ± 5,2 ^{ns}
15	2,1 ± 0,20	1,7 ± 0,1 ^{ns}	90,3 ± 19,3	68,7 ± 15,9 ^{ns}	39,3 ± 6,8	25,4 ± 3,0 ^{ns}
25	2,6 ± 0,20	2,4 ± 0,2 ^{ns}	154,0 ± 8,5	133,7 ± 10,0 ^{ns}	94,7 ± 2,3	89,1 ± 2,4 ^{ns}
35	2,2 ± 0,20	1,9 ± 0,1 ^{ns}	92,1 ± 7,0	87,3 ± 7,7 ^{ns}	42,6 ± 6,2	48,4 ± 6,7 ^{ns}

¹O silicato de potássio foi aplicado na superfície abaxial do 3^o par de folhas a partir do ápice. Após determinados intervalos de tempo em dias, o 2^o e o 3^o par de folhas foram inoculados com *H. vastatrix*; ²média de dois experimentos ± erro padrão; ³plantas pulverizadas com água destilada. *Médias dos valores de cada variável no tratamento com SP diferem significativamente dos respectivos controles ao nível de 5% pelo teste-t de Student; ns: não significativo.

Tabela 4. Índice de esporulação (IE), número de pústulas por folha (NPF) e severidade (SEV) da ferrugem em mudas de cafeeiro inoculadas com *Hemileia vastatrix* após diferentes intervalos de tempo da aplicação do tratamento foliar com Acibenzolar-S-Metil (ASM).

Intervalo em dias ¹	Proteção local (3 ^{os} pares de folhas)					
	IE ²		NPF ²		SEV (%) ²	
	Controle ³	ASM	Controle	ASM	Controle	ASM
1	2,6 ± 0,10	2,1 ± 0,1*	69,0 ± 5,8	18,7 ± 2,9*	55,7 ± 9,2	18,6 ± 3,1*
5	2,1 ± 0,20	1,3 ± 0,1*	78,6 ± 4,2	18,1 ± 2,4*	60,7 ± 10,2	11,0 ± 0,9*
15	1,9 ± 0,20	1,1 ± 0,1*	61,0 ± 5,2	14,3 ± 2,9*	43,6 ± 10,6	12,3 ± 0,9*
25	2,6 ± 0,20	1,6 ± 0,1*	149,3 ± 9,9	62,1 ± 9,9*	89,9 ± 3,8	30,6 ± 4,8*
35	2,3 ± 0,10	1,1 ± 0,1*	70,6 ± 9,1	18,7 ± 3,1*	37,6 ± 4,8	13,4 ± 2,2*

Intervalo em dias ¹	Proteção sistêmica (2 ^{os} pares de folhas)					
	IE		NPF		SEV (%)	
	Controle	ASM	Controle	ASM	Controle	ASM
1	2,4 ± 0,1	2,4 ± 0,1 ^{ns}	54,6 ± 7,3	31,4 ± 3,6*	30,1 ± 1,6	17,3 ± 2,5*
5	2,2 ± 0,2	1,6 ± 0,2*	63,6 ± 8,0	35,7 ± 4,0*	33,1 ± 3,5	22,1 ± 2,4*
15	2,1 ± 0,2	1,4 ± 0,2*	90,3 ± 19,3	42,0 ± 3,2*	39,3 ± 6,8	22,9 ± 2,8*
25	2,6 ± 0,2	1,8 ± 0,1*	154,0 ± 8,5	106,0 ± 2,3*	94,7 ± 2,3	52,6 ± 3,3*
35	2,2 ± 0,2	1,0 ± 0,0*	92,1 ± 7,0	42,0 ± 6,1*	42,6 ± 6,2	24,3 ± 3,2*

¹Acibenzolar-S-Metil (ASM, 1 g L⁻¹) foi aplicado na superfície abaxial do 3^o par de folhas a partir do ápice. Após determinados intervalos de tempo em dias, o 2^o e o 3^o par de folhas foram inoculados com *H. vastatrix*; ²média de dois experimentos ± erro padrão; ³plantas pulverizadas com água destilada. *Médias dos valores de cada variável no tratamento com SP diferem significativamente dos respectivos controles ao nível de 5% pelo teste-t de Student; ns: não significativo.



Figura 7. Superfície adaxial (A e C) e abaxial (B e D) de folhas de mudas de cafeeiro aos 15 dias após a pulverização com silicato de potássio (20 g L^{-1}) em pH 5,5 (A e B) ou em pH $\approx 10,5$ (C e D).

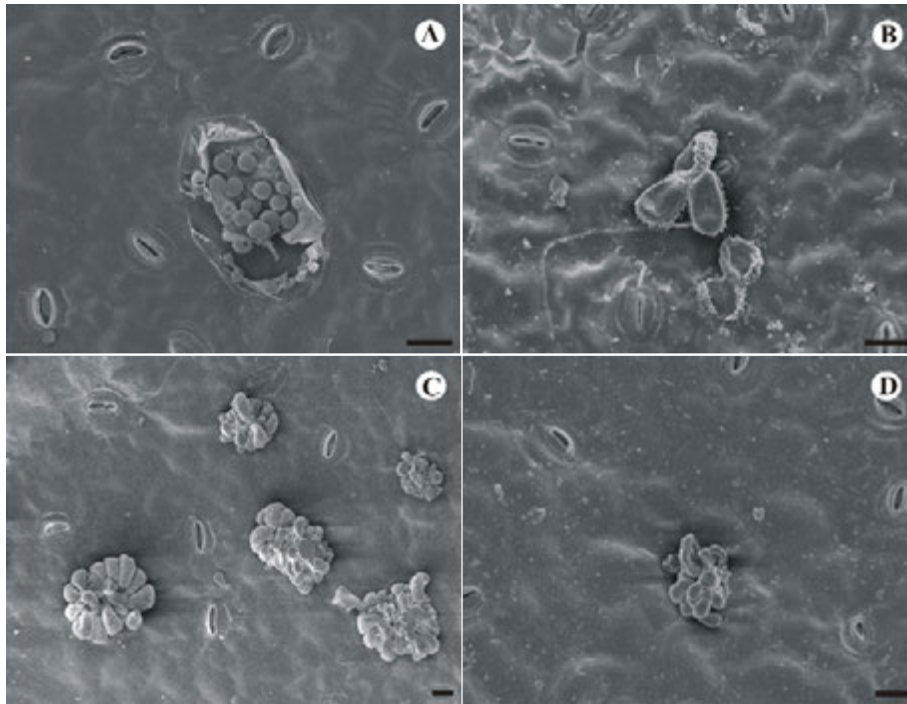


Figura 8. Eletromicrografias de varredura da epiderme abaxial de folhas de cafeeiro inoculadas com *Hemileia vastatrix* e coletadas aos 16 (A e B) e aos 36 (C e D) dias após a pulverização (B e D) ou não (A e C) com silicato de potássio (20 g L^{-1} , $\text{pH} \approx 10,5$). Barras = $20 \mu\text{m}$.

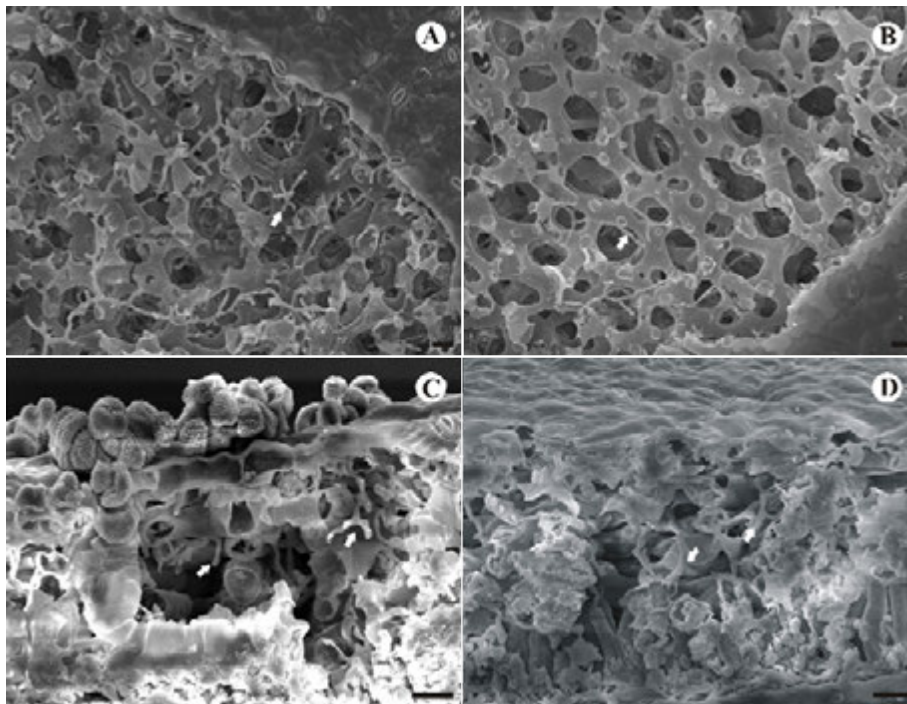


Figura 9. Eletromicrografias de varredura da fratura da epiderme abaxial de folhas de cafeeiro inoculadas com *Hemileia vastatrix* e coletadas aos 36 dias após a pulverização (B e D) ou não (A e C) com silicato de potássio (20 g L^{-1} , $\text{pH} 5,5$). Estruturas do fungo (setas). Barras = $20 \mu\text{m}$ (A, B e D) e $30 \mu\text{m}$ (C).

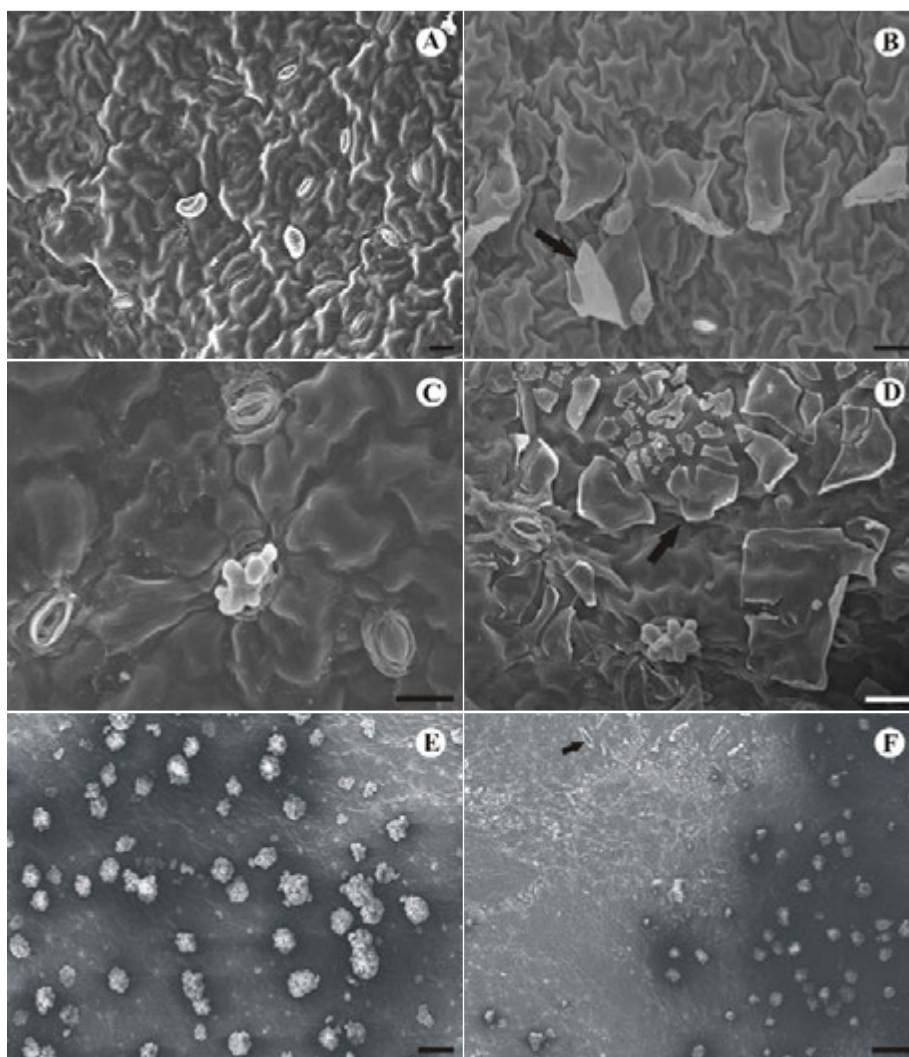


Figura 10. Eletromicrografias de varredura da epiderme abaxial de folhas de cafeeiro inoculadas com *Hemileia vastatrix* e coletadas aos 6 (A e B), 16 (C e D) e 36 (E e F) dias após pulverização (B, D e F) ou não (A, C e E) com silicato de potássio (20 g L^{-1} , pH 5,5). Placas de silicato de potássio (setas). Barras = $20 \mu\text{m}$ (A, B, C e D), $100 \mu\text{m}$ (E) e $200 \mu\text{m}$ (F).

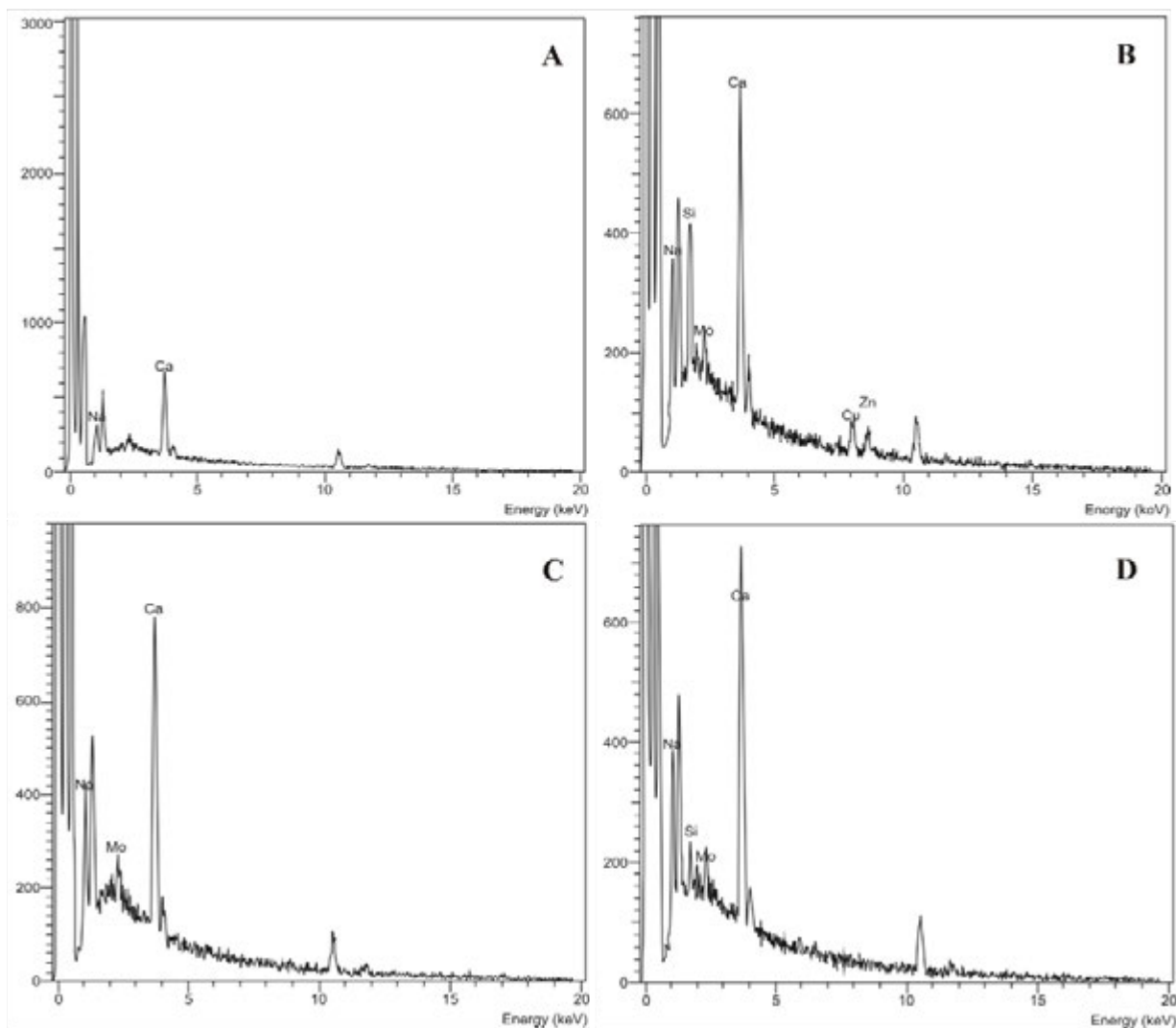


Figura 11. Microanálise de raios-X da epiderme abaxial de folhas de mudas de cafeeiro coletadas aos 10 (A e B) e aos 36 (C e D) dias após pulverização (B e D) ou não (A e C) com silicato de potássio (20 g L^{-1} , pH 5,5).

Silício nos componentes de resistência do cafeeiro à ferrugem e na atividade de enzimas de defesa

Vivian Carré-Missio^{1,2}, Fabrício de Ávila Rodrigues^{1,2}, Daniel Augusto Schurt^{1,2}, Sandra Cerqueira Pereira^{1,3}, Maria Goreti de Almeida Oliveira^{1,3} & Laércio Zambolim^{1,2}

¹Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil, 36570-000; ²Departamento de Fitopatologia; ³Departamento de Bioquímica Agrícola.

Autor correspondente: Fabrício de Ávila Rodrigues, Laboratório da Interação Planta-Patógeno, Universidade Federal de Viçosa, Av. PH Rolfs s/n - Campus Universitário, Viçosa, MG, Brasil, CEP 36570-000, Fax: (55) 31 3899-2622, E-mail: fabricao@ufv.br

Resumo

A ferrugem (*Hemileia vastatrix*) atualmente atinge todas as regiões produtoras de café no Brasil e pode causar perdas na produção de até 50%. Os efeitos benéficos do silício (Si) são usualmente expressos sob condições de estresse, auxiliando a planta a suportá-los. O presente trabalho teve como objetivo investigar a resposta de defesa de mudas de café supridas com Si via solução nutritiva através da quantificação da atividade das enzimas glicanases (GLI), quitinases (QUI) e peroxidases (POD), pela avaliação de componentes de resistência do cafeeiro à ferrugem, além da produção de matéria seca da parte aérea e raiz, altura da parte aérea, comprimento da raiz e diâmetro do caule. Mudas de cafeeiro (cv. Catuaí vermelho 44) foram crescidas em solução nutritiva de Clark (1975) modificada, com aeração, com (2 mmol L⁻¹) ou sem (0 mmol L⁻¹) adição de Si. Mudas com três pares de folhas completos foram inoculadas com uma suspensão de uma mg de uredósporos de *H. vastatrix* mL⁻¹, em seguida transferidas para câmara úmida (UR > 95%, 23-25°C) e mantidas no escuro por 48 h. Após esse período, as mudas permaneceram em câmara de crescimento a 22°C, com fotoperíodo de 12 h, sob luz fluorescente (7,35 Wm⁻²). As mudas de cafeeiro não apresentaram resposta positiva para adição de Si na solução nutritiva em relação à redução dos componentes de resistência. Não houve diferença significativa entre as mudas de cafeeiro supridas ou não com Si quanto ao peso da matéria seca da parte aérea e raiz, altura da parte aérea, comprimento da raiz e diâmetro do caule. Não houve variação nos teores foliares de Si, independente da adição ou não do elemento na solução nutritiva. A atividade das enzimas GLI, POD e QUI foram exclusivamente potencializadas pela presença do patógeno. Os resultados deste estudo mostraram que mudas de cafeeiro não apresentam capacidade de acumular Si na parte aérea, ficando este elemento restrito as raízes, e

conseqüentemente, não influenciando nas respostas de defesa da planta à ferrugem do cafeeiro.

Palavras-chave: silicato de potássio, cafeeiro, *Hemileia vastatrix*, componentes de resistência.

Introdução

A cafeicultura impõe um constante desafio aos produtores, devido ao grande número de doenças e pragas que ocorrem durante praticamente todo o ciclo da cultura. A ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berkeley & Broome) constitui-se na principal doença do cafeeiro (*Coffea arabica* L.), atingindo todas as regiões produtoras de café do Brasil e pode causar perdas de até 50% na produção (Zambolim et al., 2002). O manejo da ferrugem envolve principalmente o uso de fungicidas protetores cúpricos, sistêmicos do grupo dos triazóis isoladamente ou em mistura com as estrubirulinas e o uso de variedades resistentes (Zambolim et al., 2005). Entretanto, devido à variabilidade do patógeno a resistência duradoura é difícil de ser obtida (Várzea & Marques, 2005) e o uso contínuo do controle químico pode levar o surgimento de populações do fungo resistentes aos fungicidas.

Os nutrientes atuam das formas mais variadas possíveis na resposta da planta ao ataque por patógenos. Muitos nutrientes são cofatores enzimáticos, ativadores, inibidores e moduladores de vários processos metabólicos, bem como são necessários para síntese de barreiras químicas e físicas, e desta maneira, a nutrição de plantas determina em grande parte a sua resistência ou susceptibilidade às doenças (Epstein & Bloom, 2005). O silício (Si) é considerado como elemento benéfico para as plantas. A presença desse elemento tem sido relacionada principalmente ao aumento da resistência contra pragas e doenças e tolerância à toxidez, sendo seu efeito usualmente expresso sob condições de estresse, tanto abiótico como biótico (Ma et al., 2001a).

O efeito do Si no controle de doenças de plantas, bem como seu modo de ação ainda não estão totalmente esclarecidos. A hipótese de formação de barreira física é fundamentada na forma do Si acumular-se abaixo da cutícula. A deposição de Si na

parede das células formando a dupla camada de cutícula-sílica, a qual mecanicamente impediria a penetração de patógenos e desta maneira afeta os processos de infecção (Fauteux et al., 2005). Contudo, a alteração da nutrição da planta promovida pela fertilização silicatada e a observação de aumento na atividade de enzimas e produção de fitoalexinas levantaram também a hipótese de seu envolvimento na potencialização das reações de defesa da planta (Bélanger et al., 2003; Bélanger & Menzies, 2003; Rodrigues et al., 2003). Na literatura existem relatos de estudos que evidenciam a potencialização de respostas de defesa pelo Si, com o aumento na atividade das enzimas peroxidases, polifenoloxidase e quitinases (Liang et al., 2005); pelo acúmulo de fitoalexina e compostos fenólicos nos sítios de infecção (Fawe et al., 1998; Chérif et al., 1992 e 1994; Rodrigues et al., 2005) ou por promover mudanças fisiológicas nas células da planta alterando a composição química da camada cuticular, e assim, inibindo o desenvolvimento de patógenos (Pozza et al., 2004; Datnoff et al., 2007; Kanto et al., 2007).

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do Si no comportamento de componentes de resistência do cafeeiro à ferrugem, além de determinar a atividade de algumas enzimas relacionadas com a defesa de plantas à patógenos.

Material e Métodos

Material vegetal, condições de crescimento das plantas e tratamentos

Mudas de cafeeiro (*C. arabica*) cv. Catuaí vermelho 44, provenientes de leito de areia umedecida, no estádio de orelha de onça, foram transplantadas para vasos plásticos com 3,5 L de solução nutritiva. A solução nutritiva básica utilizada foi a de Clark (1975) modificada, composta em mmol L⁻¹, de 5,7 de N-NO₃⁻; 1,0 de N-NH₄⁺; 0,1 de P-H₂PO₄⁻; 2,4 de K; 1,2 de Ca⁺⁺; 0,6 de Mg⁺⁺; 0,7 de S-SO₄⁻; e em μmol L⁻¹, 35,0 de Fe; 0,8 de Cu; 1,5 de Zn; 5,0 de Mn; 17,0 de B e 0,1 de Mo. A solução nutritiva, com aeração, foi trocada uma vez por semana e o pH monitorado a cada dois dias, sendo mantido próximo a 5,5 com a adição de soluções de HCl ou NaOH (1 M). As doses de Si usadas foram 0 e 2 mmol L⁻¹ aplicadas via solução nutritiva. O Si foi fornecido na forma de ácido monossilícico, obtido pela passagem de uma solução de silicato de potássio (Fertilisil[®] - 12% de SiO₂ e 15% de K₂O) através de uma coluna de troca de cátions (Ma et al., 2001b).

Assim que as mudas atingiram três pares de folhas completos, realizou-se a inoculação. As mudas permaneceram em câmara de crescimento a 22°C, com fotoperíodo de 12 h, sob luz fluorescente (7,35 Wm⁻²). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 10 repetições por tratamento. Cada unidade experimental foi composta de um vaso plástico com 4 mudas de café.

Produção de inóculo de *Hemileia vastatrix* e inoculação

Uredósporos de *H. vastatrix*, foram coletados na área experimental do Viveiro de Café da Universidade Federal de Viçosa, a partir de plantas de café (cv. Catuaí vermelho 44) naturalmente infectadas. Os uredósporos foram recolhidos com auxílio de um pincel, raspando-se suavemente as lesões da superfície abaxial das folhas. Em

seguida os uredósporos foram armazenados em ampolas de vidro vedadas com algodão e colocadas em dessecador, contendo na parte inferior solução aquosa de ácido sulfúrico na concentração de 32,6% (v/v), de modo a manter a umidade relativa em torno de 50% no ambiente interno (Zambolim & Chaves, 1974).

A viabilidade dos uredósporos foi avaliada antes da inoculação das mudas. Para o teste de viabilidade, uma alíquota de 50 μL da suspensão de uredósporos (1 mg de uredósporos mL^{-1}) foi colocada em cinco placas de Petri contendo ágar-água a 2%. Em seguida, as placas foram incubadas a 22°C no escuro e o percentual de germinação foi determinado 16 h após o início do teste, utilizando lactofenol para paralisar a germinação dos uredósporos. Quantificou-se a germinação dos uredósporos pela observação ao microscópio de luz. Foram utilizados, nos testes de inoculação, uredósporos com germinação superior a 20%. A face abaxial do 2º par de folhas (a partir do ápice) de cada muda foi inoculada com uma suspensão de 1 mg de uredósporos de *H. vastatrix* mL^{-1} , com auxílio de um atomizador Paasche (modelo VL-SET) alimentado por sucção. Em seguida, as mudas foram transferidas para câmara úmida (UR > 95%, 23-25°C) e mantidas no escuro por 48 h.

Quantificação de componentes de resistência e variáveis agronômicas

As avaliações foram realizadas no 2º par (a partir do ápice) de folhas de cada muda. Os componentes de resistência avaliados foram: 1) período de incubação (PI) - tempo em dias, decorrido desde a inoculação até o aparecimento dos primeiros sintomas de ferrugem em cada folha inoculada. O PI foi avaliado pela observação visual diária, a partir do décimo dia da inoculação até a constatação dos primeiros sintomas (“flecks”) nas folhas; 2) período latente (PL₆₀) - tempo em dias, desde a inoculação até a esporulação de 60% das pústulas presentes na folha inoculada. O PL₆₀ foi avaliado

visualmente até o aparecimento de uredósporos nas lesões presentes. A partir do décimo dia após a inoculação, as observações realizaram-se a cada dois dias até a finalização do experimento; 3) número de pústulas: contou-se o número de pústula por folha no final do experimento; 4) expansão das pústulas: 10 pústulas por par de folha de cada muda foram selecionadas aleatoriamente e com paquímetro digital mediu-se o comprimento (em mm) assim que ocorreu o PL₆₀ e depois a cada cinco dias; 5) diâmetro de pústulas: as 10 pústulas selecionadas tiveram seu diâmetro maior e menor obtidos, calculando-se suas áreas em mm²; 6) severidade da ferrugem: avaliada a cada cinco dias com a utilização de uma escala desenvolvida por Kushalappa & Chaves (1978) e 7) escala de notas proposta por D'Oliveira (1957) com modificações (Tabela 1), para avaliação do desenvolvimento dos sintomas da ferrugem. Os dados da severidade foram utilizados para calcular a área abaixo da curva do progresso da ferrugem (AACPF) de acordo com a equação proposta por Shaner & Finney (1977).

Após a finalização dos experimentos, as mudas foram divididas em folhas, caule e raiz e procedeu-se a avaliação das seguintes variáveis: diâmetro do caule, altura da parte aérea, comprimento do sistema radicular e matéria seca das folhas, raiz e caule. O diâmetro do caule foi medido 2 cm acima da região inicial de formação do sistema radicular com um paquímetro digital. Considerou-se como altura da parte aérea a região compreendida entre a gema apical até o início de formação do sistema radicular. Para medir o comprimento do sistema radicular, considerou-se a região que compreende o início de formação do sistema radicular até a extremidade da raiz. Para a determinação da matéria seca, as folhas, o caule e a raiz foram armazenados separadamente em sacos de papel e colocados em estufa com circulação forçada de ar, na temperatura de 65°C até a obtenção de peso constante.

Tabela 1. Escala de notas para a quantificação dos sintomas da ferrugem do cafeeiro¹.

Nota	Descrição
1	Ausência de sintomas de ferrugem macroscopicamente visíveis.
2	“Flecks”, pequenas lesões cloróticas, de difícil observação macroscópica, mas visíveis microscopicamente com lente de aumento ou quando observada contra a luz.
3	“Flecks”, pequenas lesões cloróticas, de fácil observação macroscópica.
4	Lesões cloróticas de tamanho médio a grande sem esporulação.
5	Lesões cloróticas de tamanho médio a grande com alguns uredósporos.
6	Lesões cloróticas com baixa intensidade de esporulação.
7	Lesões cloróticas com média intensidade de esporulação.
8	Lesões cloróticas com intensa esporulação, normalmente circundadas por um pequeno halo clorótico.

¹Escala proposta por D'Oliveira (1957) com modificações.

Determinação da atividade enzimática

Para determinação da atividade de enzimas relacionadas com a defesa do cafeeiro à ferrugem, coletaram-se folhas de mudas de café aos 5, 10, 15, 20 e 30 dias após a inoculação com *H. vastatrix*. Cada amostra coletada foi composta por 3 folhas retiradas de cada muda para cada enzima por tratamento, perfazendo um total de 3 amostras, sendo que 3 mudas (repetições) foram usadas para cada amostra coletada. As amostras foram colocadas individualmente em pacotes de papel alumínio e imediatamente congeladas em nitrogênio (N₂) líquido, sendo armazenadas em ultra-

freezer, a -80°C , para posterior análise. De cada extrato foliar obtido procederam-se aos ensaios enzimáticos em triplicata.

β -1,3-glicanases (GLI)

A obtenção do extrato foliar foi realizada segundo metodologia descrita por Lanna et al. (1996). Amostras de folhas foram pesadas e imediatamente congeladas em N_2 líquido. Em seguida, foram trituradas no almofariz até obtenção de um pó fino. Em seguida, adicionou-se polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1% (p/v) e fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF) 1mM, cuja quantidade foi calculada com base no volume final da extração. Posteriormente, macerou-se em tampão para extração fosfato de sódio 50 mM pH 6,5 na proporção de 1:3 (p/v). Preparou-se uma seringa com um pequeno pedaço de gaze, dobrado em quatro camadas, umedecida com água e foi feita a filtração do macerado obtido para tubos de centrífuga. Estabilizou-se a centrífuga nas condições necessárias, a saber: velocidade: 20.000 x g; temperatura: 4°C ; tempo: 25 minutos. Após a centrifugação o sobrenadante (extrato bruto) foi armazenado a 4°C para posterior detecção da atividade enzimática. Uma alíquota do extrato foi utilizada para determinação da concentração de proteínas seguindo o procedimento desenvolvido por Warburg & Christian (1941).

A atividade de β -1,3-glicanases nas amostras foi determinada conforme método descrito por Lever (1972) com modificações: ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) em substituição à hidrazida do ácido *p*-hidroxibenzóico (Miller, 1956). A mistura de reação, que foi incubada a 45°C por 30 minutos, continha 230 μL do tampão de reação acetato de sódio 100 mM pH 5,0, 250 μL da solução de substrato laminarina 4 mg mL^{-1} e 20 μL do extrato vegetal. Após esse período, foram acrescentados 1 mL de DNS, e em seguida esta mistura foi aquecida a 100°C por 5 minutos. Após o resfriamento em gelo até a

temperatura de 30°C, as amostras tiveram a absorbância determinada no comprimento de onda 540 nm em um ensaio colorimétrico no espectrofotômetro. Todas as incubações foram realizadas em triplicatas. Subtraiu-se o valor de absorbância de cada amostra do valor de absorbância do controle (uma mistura idêntica à da amostra, com a reação paralisada no início). Os resultados foram expressos em unidades de absorbância $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína (atividade específica).

Peroxidases (POD)

A obtenção do extrato foliar foi realizada segundo metodologia descrita por Peixoto (1998). Amostras de folhas foram pesadas e imediatamente congeladas em N_2 líquido. Em seguida, foram trituradas no almofariz até a obtenção de um pó fino. Em seguida, adicionou-se polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1% (p/v). Posteriormente, macerou-se em tampão para extração fosfato de potássio 100 mM pH 6,8, contendo fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF) 1mM e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 0,1 mM, na proporção de 1:20 (p/v). Preparou-se uma seringa com um pedaço de gaze e realizou-se a filtração do macerado obtido para tubos de centrífuga. Estabilizou-se a centrífuga nas condições necessárias, a saber: velocidade: 12.000 x g; temperatura: 4°C; tempo: 15 minutos. Após a centrifugação o sobrenadante (extrato bruto) foi armazenado a 4°C para posterior detecção da atividade enzimática. Uma alíquota do extrato foi utilizada para a determinação da concentração de proteínas seguindo o procedimento desenvolvido por Warburg & Christian (1941).

A atividade de peroxidases nas amostras foi determinada conforme método descrito por Kar & Mishra (1976). A mistura de reação que continha 950 μL de água destilada, 750 μL do tampão para reação fosfato de potássio 100 mM pH 6,8, 600 μL da solução de substrato pirogallol 100 mM e 600 μL da solução de substrato peróxido de

hidrogênio 100 mM, foi levada ao banho-maria à temperatura de 25°C para estabilização por aproximadamente 4 minutos. Ao meio de reação foram adicionados 100 µL do extrato vegetal e, então, o aumento na absorbância foi registrado no comprimento de onda 420 nm em um ensaio colorimétrico no espectrofotômetro durante um período de 5 minutos em intervalos de 60 segundos (Pereira, 2007). Todas as incubações foram realizadas em triplicatas. A atividade da enzima foi medida utilizando-se para os cálculos o coeficiente de extinção molar $2,47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Chance & Maehley, 1955). Posteriormente, os resultados foram divididos pela concentração de proteínas no extrato e foram expressos em $\text{M min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína (atividade específica).

Quitinases (QUI)

A obtenção do extrato foliar foi realizada segundo metodologia descrita por Lanna et al. (1996). Amostras de folhas foram pesadas e imediatamente congeladas em N_2 líquido. Em seguida, foram trituradas no almofariz até a obtenção de um pó fino. Em seguida, adicionou-se polivinilpolipirrolidona (PVPP) 1% (p/v). Posteriormente, macerou-se em tampão para extração fosfato de sódio 50 mM pH 6,5, contendo fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF) 1mM, na proporção de 1:3 (p/v). Preparou-se uma seringa com um pequeno pedaço de gaze e realizou-se a filtração do macerado obtido para tubos de centrifuga. Estabilizou-se a centrifuga nas condições necessárias, a saber: velocidade: 20.000 x g; temperatura: 4°C; tempo: 25 minutos. Após a centrifugação o sobrenadante (extrato bruto) foi armazenado a 4°C para posterior detecção da atividade enzimática. Uma alíquota do extrato foi utilizada para determinação da concentração de proteínas seguindo o procedimento desenvolvido por Warburg & Christian (1941).

A atividade de quitinases nas amostras foi determinada conforme método descrito por Yedidia et al. (1999). A mistura de reação, que foi incubada a 37°C por 2 horas, continha 470 µL do tampão para reação acetato de sódio 50 mM pH 5,0, 10 µL da solução de substrato *p*-nitrofenil-β-D-*N,N'*-diacetilquitobiose (PNP) 2 mg mL⁻¹ e 20 µL do extrato vegetal. Após esse período, foram acrescentados 0,5 mL de carbonato de sódio (Na₂CO₃) 0,2 M. Posteriormente, as amostras tiveram a absorvância determinada no comprimento de onda 410 nm em um ensaio colorimétrico no espectrofotômetro. Todas as incubações foram realizadas em triplicatas. Subtraiu-se o valor de absorvância de cada amostra do valor de absorvância do controle (uma mistura idêntica à da amostra, com a reação paralisada no início) (Pereira, 2007). A atividade da enzima foi medida utilizando-se para os cálculos o coeficiente de extinção molar $7 \times 10^3 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Posteriormente, os resultados foram divididos pela concentração de proteínas no extrato e foram expressos em µM min⁻¹ mg⁻¹ de proteína (atividade específica).

Determinação do teor de silício e potássio na raiz e folhas de caféiro

Obteve-se uma amostra de folhas de mudas cultivadas em solução nutritiva com ou sem adição de Si para cada repetição. As folhas foram lavadas com água de torneira, em seguida em água deionizada, posteriormente com uma solução de HCl 0,1 M e finalizando com enxágüe com água deionizada. Em seguida, as folhas foram secas em estufa com ventilação forçada de ar a 60°C por 72 h, sendo então trituradas em moinho tipo Wiley equipado com peneira de 20 mesh. Foi utilizada a metodologia proposta por Korndörfer et al. (2004) para determinação do teor de Si. A determinação do teor de K foi por digestão nitroperclórica e espectrofotometria de absorção atômica (Silva et al., 1999).

Análise estatística dos dados

Os experimentos foram realizados duas vezes e os dados de cada variável foram combinados após ser confirmada a homogeneidade da variância pelo teste de Bartlett (Gomez & Gomez, 1994). Os dados de cada variável foram submetidos à análise da variância e a comparação das médias dos tratamentos foi feita pelo teste-t de Student ao nível de 5% de probabilidade. No ensaio enzimático, as médias dos valores da atividade de cada enzima em cada época de coleta dentro de cada tratamento foram comparadas pelo teste-t de Student ao nível de 5% de probabilidade. O programa SAS System v.9.1 foi utilizado para a realização das análises.

Resultados

Não houve redução dos componentes de resistência avaliados em mudas de cafeeiro supridas com Si. Embora a AACPF, o diâmetro de pústulas por folha, as notas para os sintomas da ferrugem e a severidade tenham apresentado valores menores em mudas supridas com Si, sem diferença significativa quando comparadas com mudas não supridas com Si (Tabela 2). Comportamento semelhante foi observado para o PI e PL₆₀, não sendo observado aumento significativo para esses dois componentes de resistência em mudas de cafeeiro cultivadas em solução nutritiva contendo Si e inoculadas com *H. vastatrix* (Tabela 2).

Quando avaliado o efeito do Si no progresso da expansão das pústulas, nas notas para os sintomas e na severidade da ferrugem, houve comportamento semelhante para as três variáveis, todas apresentaram índices menores em mudas supridas com Si (Figuras 1, 2 e 3). Em média, a expansão da pústula, as notas de sintomas e a severidade foram, respectivamente, 5, 13 e 14% inferiores em mudas cultivadas na presença de Si em comparação às mudas cultivadas na ausência do elemento (Figuras 1, 2 e 3). A baixa

diferença entre mudas cultivadas em solução nutritiva na ausência ou presença de Si na redução da severidade da ferrugem foi também comprovada pelos sintomas da doença nas folhas das mudas que receberam esses tratamentos (Figura 4).

Em mudas supridas com Si não houve aumento no teor foliar de Si e potássio. Ocorreu diferença significativa apenas para o teor de Si nas raízes, sendo, em média, de 5,1 g kg⁻¹ nas mudas supridas com Si e de 2,6 g kg⁻¹ em mudas que não receberam esse elemento (Figura 5). Embora tenha ocorrido aumento no teor de Si nas raízes, não houve resposta na produção de matéria seca da parte aérea e de raízes em mudas de cafeeiro supridas com Si (Figura 6). Houve diferença significativa apenas para o comprimento das raízes, sendo que as mudas cultivadas na ausência de Si apresentaram os maiores valores dessa variável (Figura 6). Quanto ao diâmetro do caule, não houve diferença entre os tratamentos (dados não apresentados).

Os resultados obtidos com a determinação da atividade enzimática das enzimas GLI, POD e QUI em amostras de folhas de mudas supridas ou não com Si, são reflexo do que foi observado na avaliação dos componentes de resistência, ou seja, não houve resposta de defesa por meio da potencialização da atividade de enzimas. Observa-se que a atividade de GLI em folhas de mudas cultivadas sem Si aumentou na presença do patógeno, com pico de atividade aos cinco dias após a inoculação, seguindo-se por oscilação da atividade até os 30 dias (Figura 7A). Para as mudas supridas com Si, a atividade de GLI também respondeu à presença do patógeno, mantendo-se inferior ao observado em mudas sem Si até os 20 dias após a inoculação, com pico de atividade aos 30 dias. O comportamento da atividade de GLI em mudas cultivadas com ou sem adição de Si foi semelhante a partir dos 20 dias após a inoculação, coincidindo com a ocorrência do período de incubação, entre 18 e 20 dias aproximadamente (Figura 7A).

A POD apresentou valores de atividade superiores em mudas supridas com Si até os 15 dias após a inoculação em relação a mudas não supridas, embora a tendência da atividade tenha sido de diminuir até aos 20 dias, quando então voltou a apresentar aumento em atividade. Na ausência de Si, a atividade de POD nas folhas de mudas de cafeeiro apresentou acréscimo apenas no intervalo de 10 a 20 dias após a inoculação (Figura 7B).

Na presença de Si, folhas de mudas de cafeeiro apresentaram alteração significativa na atividade de QUI em resposta à infecção por *H. vastatrix* (Figura 7C). Essa atividade manteve-se constante até aos 20 dias após a inoculação, seguindo de uma queda acentuada. Em mudas não supridas com Si, o comportamento da atividade de QUI foi semelhante. No entanto a resposta da atividade ocorreu um pouco mais tarde, aos cinco dias após a inoculação e manteve-se em aumento constante até aos 30 dias após a inoculação (Figura 7C).

Discussão

Diversas famílias de plantas apresentam uma grande diferença na habilidade de acumular Si na parte aérea, variando de 0,1 a 10% do peso de folha seca (Epstein, 1994; Ma & Takahashi, 2002). As plantas classificadas como acumuladoras de Si (arroz, cana-de-açúcar e cevada) apresentam teor de Si maior que 1% na folha; intermediárias (morango, pepino e soja) com teor de Si entre 0,5 e 1%, e as não-acumuladoras (batata e tomate) apresentam teor de Si menor que 0,5% (Ma & Takahashi, 2002). Essa diferença no acúmulo de Si entre as espécies de plantas é resultado da diferença na habilidade delas em absorver esse elemento. No presente trabalho, as raízes de mudas de cafeeiro cultivadas em solução nutritiva com adição de Si apresentaram aumento na quantidade desse elemento, com teor de até 0,5%. O teor de Si foliar observado foi de 0,45 e 0,43%,

respectivamente, para mudas cultivadas em solução nutritiva com e sem adição de Si, percentual atribuído a espécies de plantas que não apresentam capacidade em acumular Si. Estudos indicam a existência de uma forma passiva e ativa em relação ao sistema de absorção e transporte de Si em plantas superiores (Ma & Yamaji, 2006). O transporte do Si da solução externa para as células corticais da raiz é mediado por um transportador, sendo que quanto maior a densidade de transportadores na membrana das células da raiz, maior será a concentração do elemento na raiz, e posteriormente por difusão mais Si terá na seiva do xilema (Mitani & Ma, 2005). Dessa maneira, plantas que apresentam baixa densidade de transportadores nas células na raiz, conseqüentemente, além de absorver baixas quantidades de Si tendem a restringi-lo pela incapacidade de transportá-lo.

O teor foliar e radicular de potássio também não apresentou variação entre as mudas supridas ou não com Si, indicando que provavelmente não tenha ocorrido interferência desse elemento na absorção de Si. Em plantas com capacidade de absorver Si sob estresse salino, o suprimento desse elemento pode favorecer a absorção de potássio. Em estudo realizado com cevada em solução nutritiva, Liang (1999) verificou que sob estresse salino as plantas supridas com Si tiveram aumento na atividade da enzima H^+ -ATPase na membrana plasmática da raiz, aumentando a captação e a translocação do potássio.

Na literatura existem registros de estudos avaliando o efeito do Si em adição à solução nutritiva na redução de doenças em dicotiledôneas, através da potencialização de respostas de defesa como o aumento na atividade das enzimas peroxidases, polifenoloxidase e quitinases (Liang et al., 2005); pelo acúmulo de fitoalexina e compostos fenólicos nos sítios de infecção (Chérif et al, 1992 e 1994; Fawe et al., 1998; Rodrigues et al., 2005) ou por promover mudanças fisiológicas nas células da planta

alterando a composição química da camada cuticular, e assim, inibindo o desenvolvimento de patógenos (Pozza et al., 2004; Kanto et al., 2007). Entretanto, no presente trabalho, não houve redução nos componentes de resistência do cafeeiro à ferrugem na presença de silício. Mudas de cafeeiro supridas com Si além de não apresentarem resposta positiva no desenvolvimento fisiológico, como a produção de matéria seca, altura da parte aérea e comprimento da raiz, não tiveram respostas de defesa potencializadas pela presença do Si. É importante ressaltar que os valores dos componentes de resistência do cafeeiro à ferrugem em mudas supridas com Si foram menores, embora não diferentes significativamente dos observados em mudas não supridas com esse elemento.

Trabalhos realizados com o patossistema cafeeiro-*Cercospora coffeicola* indicaram que o Si incorporado no solo apresentou efeito na redução da severidade da cercosporiose. Não foi observado aumento no teor foliar de Si, porém houve aumento na absorção de outros nutrientes, que segundo os autores podem ter favorecido a uma melhor resposta da planta ao ataque pelo patógeno (Pozza et al., 2004; Santos-Botelho et al., 2005). A nutrição de plantas determina em grande parte a sua resistência ou susceptibilidade às doenças, pois os nutrientes são necessários para a síntese de barreiras químicas e físicas, estando envolvidos nos mecanismos de defesa das plantas como componentes da célula, substratos, enzimas, ou como ativadores, inibidores ou reguladores do metabolismo da planta (Datnoff et al., 2007).

Os resultados obtidos com a avaliação dos componentes de resistência são refletidos na quantificação da atividade de enzimas. No que se refere à ativação de respostas bioquímicas da planta em defesa ao ataque por *H. vastatrix* através da alteração nos níveis enzimáticos, pôde-se observar que atipicamente a enzima POD foi a

única que não teve seu valor de atividade aumentado no início da infecção pelo fungo. Por outro lado, as enzimas GLI e QUI apresentaram aumento nas suas atividades com o início das etapas de infecção pelo patógeno em mudas supridas ou não com Si. As enzimas GLI e QUI, que catalisam a hidrólise de componentes da parede da hifa do fungo, comumente estão relacionadas com as respostas de defesa das plantas à patógenos, inclusive no patossistema cafeeiro-*H. vastatrix* (Anguelova-Merhar et al., 2001; Silva et al., 2002; Guzzo et al., 2004). Estudos com plantas transgênicas mostram que o aumento na síntese de GLI e QUI está relacionado com a diminuição dos danos causados por patógenos (Broglie et al., 1991; Jach et al., 1995).

Neste trabalho, a atividade da GLI, POD e QUI em folhas de mudas de cafeeiro cultivadas em solução nutritiva com ou sem a adição de Si e inoculadas com *H. vastatrix*, em geral, apresentou comportamento semelhante entre os dois tratamentos. Esta observação leva a crer que o aumento na atividade destas enzimas foi exclusivamente potencializado pela presença do patógeno e não pelo Si.

Em conclusão, os resultados deste estudo indicam que o cafeeiro foi ineficiente em translocar o Si das raízes para a parte aérea, restringindo-o ao sistema radicular. Assim, a possível potencialização de mecanismos de defesa comumente atribuídos à esse elemento em outros patossistemas passam a não serem fatores determinantes da resistência do cafeeiro à ferrugem. Entretanto, vale ressaltar os resultados do presente estudo apontam para possibilidade de se utilizar o Si no controle de patógenos radiculares.

Referências

- Anguelova-Merhar, V.S.; Van Der Westhuizen, A.J.; Pretorius, Z.A. β -1,3-glucanase and chitinase activities and the resistance response of wheat to leaf rust. **Journal Phytopathology**, v.149, p.381-384, 2001.
- Bélangier, R.R.; Benhamou, N.; Menzies, J.G. Cytological evidence of an active role of silicon in wheat resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*). **Phytopathology**, v.93, p.402-412, 2003.
- Bélangier, R.R.; Menzies, J.G. Use of silicon to control diseases in vegetable crops. In: Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 36, Uberlândia, **Fitopatologia Brasileira**, v.28, p.42-45. 2003.
- Brogli, K.; Chet, I.; Holliday, M.; Cressman, R.; Biddle, P.; Knowlton, S.; Mauvais, C. J.; Brogli, R. Transgenic plants with enhanced resistance to the fungal pathogen *Rhizoctonia solani*. **Science**, v.254, p.1194-1197, 1991.
- Chance, B.; Maehley, A.C. Assay of catalases and peroxidases. **Methods in Enzymology**. New York, v.2, p.764-775, 1955.
- Chérif, M.; Benhamou, N.; Menzies, J.G.; Bélangier, R.R. Silicon induced resistance in cucumber plants against *Pythium ultimum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.41, p.411-425. 1992.
- Chérif, M.; Asselin, A.; Bélangier, R.R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. **Phytopathology**, v.84, p.236-242. 1994.
- Clark, R.B. Characterization of phosphatase of intact morize roots. **Journal Agric. Food Chem.**, v.23, p.458-460, 1975.

- Datnoff, L.E.; Rodrigues, F.Á.; Seebold, K.W. Silicon and Plant Nutrition. In: Datnoff, L.E.; Elmer, W.H.; Huber, D.M. (Eds.). **Mineral nutrition and plant disease**. APS-PRESS, St. Paul, Minesota, EUA. p.233-246. 2007.
- D'Oliveira, B. As ferrugens do cafeeiro. Oeiras, Junta de Investigações do Ultramar, CIFIC, s.d. **Separata da Revista do Café Português**, 61p. 1957.
- Epstein, E. The anomaly of silicon in plant biology. **Proc. Natl. Acad. Science. USA**, v.91, p.11-17. 1994.
- Epstein, E.; Bloom, A.J. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**. Sunderland: Sinauer Associates, 400p. 2005.
- Fauteux, F.; Rémus-Borel, W.; Menzies, J.G.; Bélanger, R.R. Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. **FEMS Microbiology Letters**, v.249, p.1-6. 2005.
- Fawe, A.; Abou-Zaid, M.; Menzies, J.G.; Bélanger, R.R. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. **Phytopathology**, v.88, p.396-401, 1998.
- Gomez, K.A.; Gomez, A.A. **Statistical procedures for agricultural research**. 2nd Edition, Wiley, New York, USA. 1994.
- Guzzo, S.D.; Harakava, R.; Lucon, C.M.M.; Tsai, S.M. Resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e indução local e sistêmica de quitinases e β -1,3-glucanases por acibenzolar-S-metil. **Summa Phytopathologica**, v.30, p.376-381. 2004.
- Jach, G.; Görnhardt, B.; Mundy, J.; Logemann, J.; Pinsdorf, E.; Leah, R.; Schell, J.; Maas, C. Enhanced quantitative resistance against fungal disease by combinatorial expression of different barley antifungal proteins in transgenic tobacco. **The Plant Journal**, v.8, p.97-109, 1995.

- Kanto, T.; Maekawa, K.; Aino, M. Supression of conidial germination and apressorial formation by silicate treatment in powdery mildew of strawberry. **Journal Gen. Plant Pathol.**, v.73, p.1-7. 2007.
- Kar, M.; Mishra, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, v.57, p.315-319, 1976.
- Korndörfer, G.H.; Pereira, H.S.; Nolla, A. **Análise de silício: solo, planta e fertilizante**. Uberlândia: GPSi/ICIAG/UFU, 34p. (Boletim Técnico). 2004.
- Kushalappa, A.C.; Chaves, G.M. Escala para avaliar a percentagem de área foliar com ferrugem do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.3, (Suplemento), p.119. 1978.
- Lanna, A. C.; Oliveira, M. G. A.; Barros, E. G.; Moreira, M. A. Kinetic parameters of leaf lipoxygenases pool from normal soybean genotypes and from a line devoid of seed lipoxygenases. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.8, p.87-92, 1996.
- Lever, M. A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates. **Analytical Biochemistry**, v.47, p.273-279, 1972.
- Liang, Y. Effects of silicon on enzyme activity and sodium, potassium and calcium concentration in barley under salt stress. **Plant Soil**, v.209, p.217-224, 1999.
- Liang, Y.C.; Sun, W.C.; Si, J.; Römheld, V. Effects of foliar and root applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus*. **Plant Pathology**, v.54, p.678-685. 2005.
- Ma, J.F.; Miyake, Y.; Takahashi, E. Silicon as a beneficial element for crop plants. In: Datnoff, L.E.; Snyder, G.H.; Korndörfer, G. H. (Eds.). **Silicon in Agriculture**. Studies in plants in Plant Science, 8. Elsevier: Amsterdam-Holland. p.17-39. 2001a.
- Ma, J.F.; Goto, S.; Tamai, K.; Ighii, M. Role of root hairs and lateral roots in silicon uptake by rice. **Plant Physiol**, v.127, p.1773-1780. 2001b.

- Ma, J.F.; Takahashi, E. **Soil, Fertilizer, and Plant Silicon Research in Japan**. Elsevier Science. Kyoto-Japan. 281p. 2002.
- Ma, J.F.; Yamaji, N. Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends in Plant Science**, v.11, p.392-397. 2006.
- Miller, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v.31, p.426-428, 1956.
- Mitani, N.; Ma, J.F. Uptake system of silicon in different plant species. **Journal of Experimental Botany**, v.56, p.1255-1261. 2005.
- Pereira, S. C. **Silício como potencializador da atividade de enzimas de defesa à ferrugem em plantas de café e soja**. Tese (Mestrado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2007.
- Peixoto, P. H. P. **Peroxidação de lipídios em membranas e tecidos de dois cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) com tolerância diferencial ao alumínio**. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 1998.
- Pozza, A.A.A.; Alves, E.; Pozza, E.A.; Carvalho, J. G. de; Montanari, M.; Guimarães, P.T.G.; Santos, D.M. Efeito do silício no controle da cercosporiose em três variedades de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**. v.29, p.185-188. 2004.
- Rodrigues, F.A., Benhamou, N.; Datnoff, L.E.; Jones, J.B.; Bélanger, R.R. Ultrastructural and cytochemical aspects of silicon-mediated rice blast resistance. **Phytopathology**, v.93, p.535-546, 2003.
- Rodrigues, F.A.; Jurick, W.M.; Datnoff, L.E.; Jones, J.B.; Rollins, J.A. Silicon influences cytological and molecular events in compatible rice- *Magnaporthe grisea* interactions. **Physiol. Mol. Plant Pathol.**, v.66, p.144-159. 2005.

- Santos Botelho, D.M.; Pozza, E.A.; Pozza, A.A.A.; Carvalho, J.G.; Botelho, C.E.; Souza, P.E. Intensidade da cercosporiose em mudas de cafeeiro em função de fontes e doses de silício. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, p.582-588. 2005.
- Shaner, G.; Finney, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathol.**, v.70, p.1183-1186, 1977.
- Silva, F. C. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: EMBRAPA (Org.), 370 p. 1999.
- Silva, M.C.; Nicole, M.; Guerra-Guimarães, L.; Rodrigues Jr, C.J. Hypersensitive cell death and post-haustorial defence responses arrest the orange rust (*Hemileia vastatrix*) growth in resistant coffee leaves. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.60, p.169-183, 2002.
- Várzea, V.M.P.; Marques, D.V. Population variability of *Hemileia vastatrix* vs. coffee durable resistance. In: Zambolim, L. (Ed.). **Durable Resistance to Coffee Leaf Rust**. UFV - Viçosa, MG, Brasil. p.53-74. 2005.
- Zambolim, L.; Chaves, G.M. Efeito de baixas temperaturas e do binômio temperatura-umidade relativa sobre a viabilidade dos uredósporos de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. e *Uromyces phaseoli typica* Arth. **Experientiae**, v.17, p.151-184. 1974.
- Zambolim, L.; Vale, F.X.R.do; Costa, H.; Pereira, A.A.; Chaves, G.M. Epidemiologia e controle integrado da ferrugem-do-cafeeiro. In: Zambolim, L. (Ed.). **O Estado da Arte de Tecnologias de Produção de Café**. UFV - Viçosa, MG, Brasil. p.369-450. 2002.
- Zambolim, L.; Vale, F.X.R.; Zambolim, E.M. Doenças do cafeeiro (*Coffea arabica* e *C. canephora*). In: Kimati, H.; Amorim, L.; Rezende, J.A.M.; Bergamin Filho, A.;

Camargo, L.E.A. (Eds.). **Manual de Fitopatologia – Doenças das Plantas Cultivadas**. Editora Agronômica Ceres. São Paulo-SP. v.2, p.165-180. 2005.

Warburg, O.; Christian, W. Isohering und kristallisation des grungs ferments enolase. **Biochemistry Zoology**, p.384-421, 1941.

Yedidia, I; Benhamou, N.; Chet, I. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. **Microbiology**, p.1061-1070, 1999.

Tabela 2. Período de incubação (PI), período latente (PL₆₀), número de pústulas por folha (NPF), diâmetro de pústula, severidade final e área abaixo da curva do progresso da ferrugem (AACPF) em mudas de café cultivadas em solução nutritiva com (2 mmol L⁻¹) ou sem (0 mmol L⁻¹) adição de silício (Si) e inoculadas com *Hemileia vastatrix*.

Componentes de resistência	Si (mmol L ⁻¹)	
	0	2
PI (dias)	18,7 ¹	19,0
PL ₆₀ (dias)	34,8	35,8
NPF	83,2	85,4
Diâmetro de pústula (mm ²)	17,8	17,3
Severidade final (%)	44,5	40,8
AACPF	2609,87	2168,95

¹Médias para cada componente de resistência entre os tratamentos com ou sem Si não diferem significativamente pelo teste-F ao nível de 5% de probabilidade.

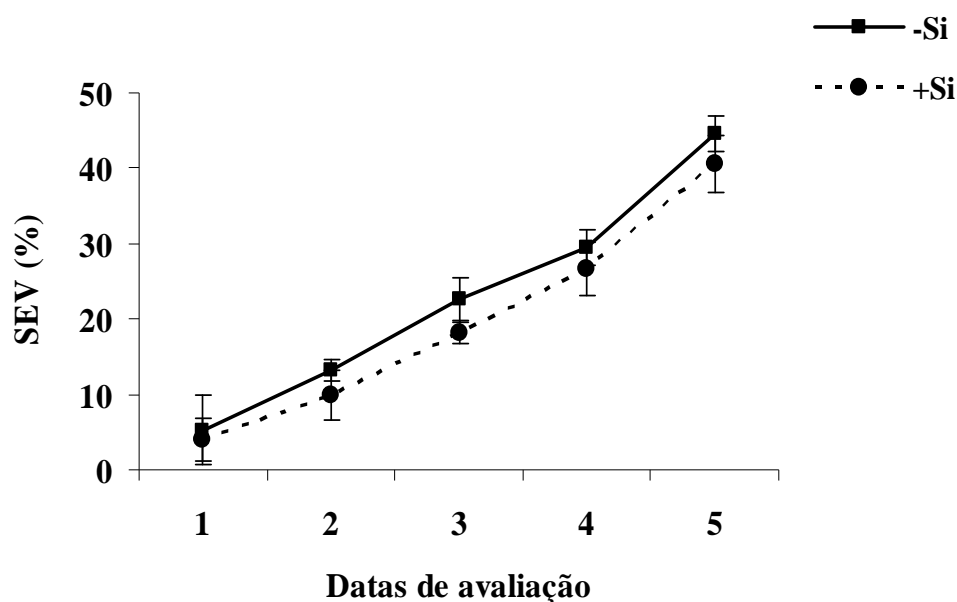


Figura 1. Curva de progresso da severidade (SEV) da ferrugem em folhas de mudas de café cultivadas em solução nutritiva com (2 mmol L⁻¹) ou sem (0 mmol L⁻¹) adição de silício (Si). A SEV foi avaliada assim que ocorreu o período latente e depois a cada cinco dias. O desvio padrão da média está representado em cada ponto.

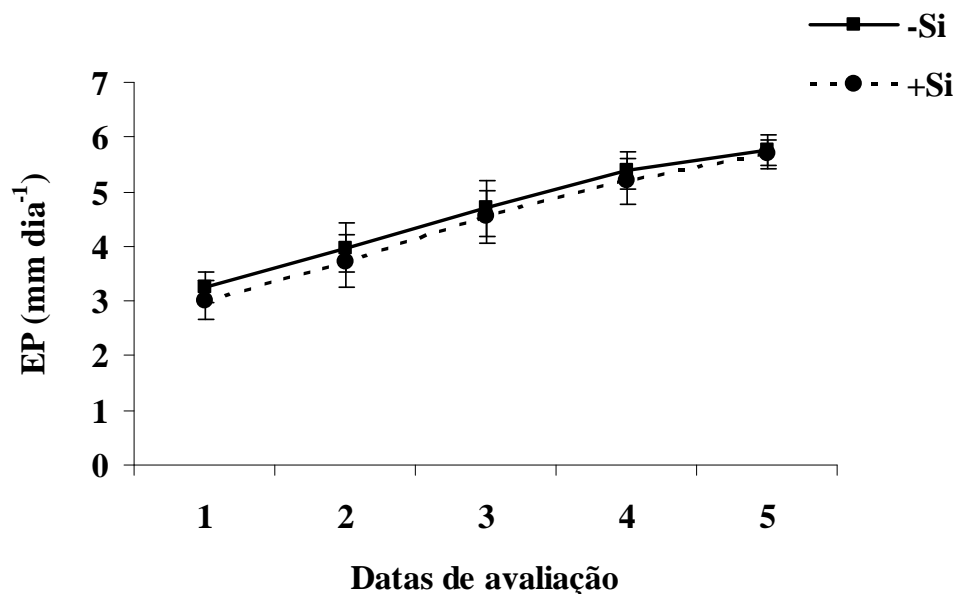


Figura 2. Curva de progresso da expansão de pústulas (EP) de ferrugem em folhas de mudas de cafeeiro cultivadas em solução nutritiva com (2 mmol L^{-1}) ou sem (0 mmol L^{-1}) adição de silício (Si). A expansão das pústulas foi avaliada assim que ocorreu o período latente e depois a cada cinco dias. O desvio padrão da média está representado em cada ponto.

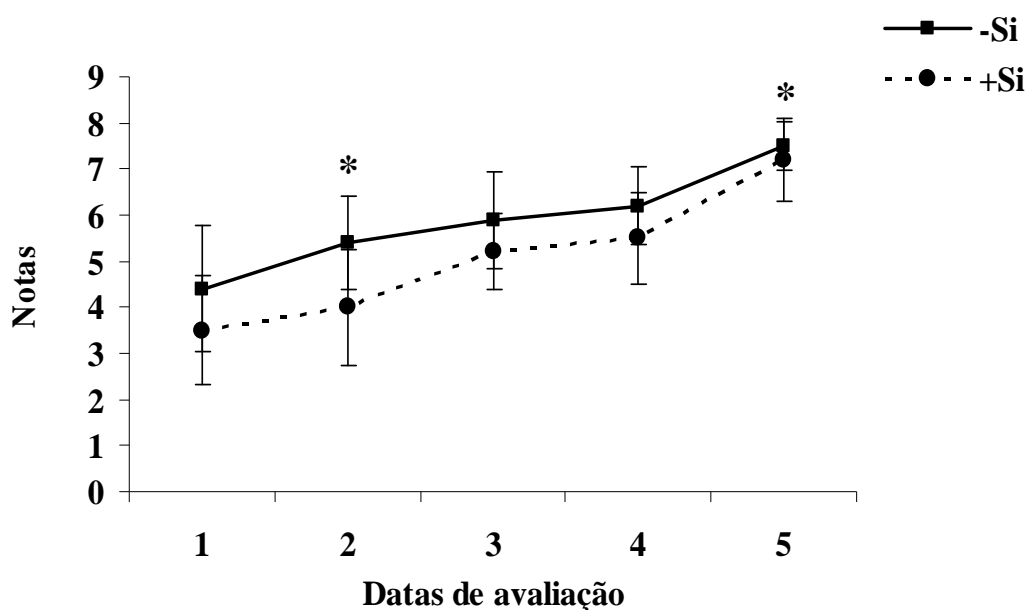


Figura 3. Curva do progresso das notas para os sintomas da ferrugem em folhas de mudas de cafeeiro cultivadas em solução nutritiva com (2 mmol L^{-1}) ou sem (0 mmol L^{-1}) adição de silício (Si). As avaliações se iniciaram assim que ocorreu o período de incubação e realizadas a cada cinco dias. *Médias dos tratamentos com ou sem Si diferem entre si pelo teste-t de Student ao nível de 5% de probabilidade. O desvio padrão da média está representado em cada ponto.

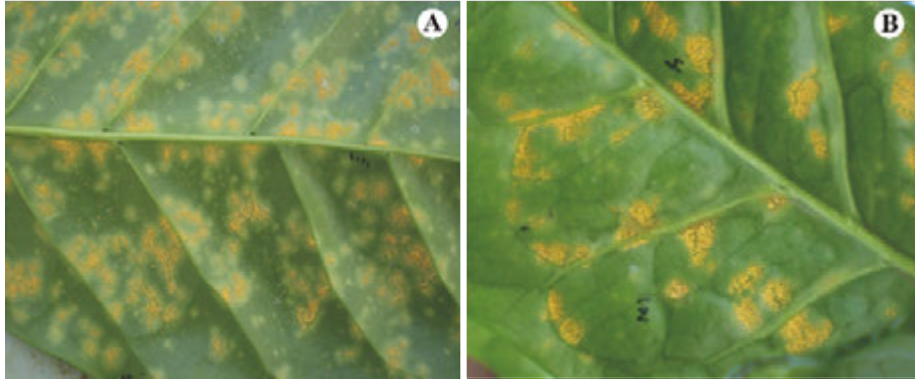


Figura 4. Sintomas da ferrugem na face abaxial de folhas de mudas de cafeeiro cultivadas em solução nutritiva com (2 mmol L^{-1}) (A) ou sem (0 mmol L^{-1}) (B) adição de silício aos 50 dias após a inoculação com *Hemileia vastatrix*.

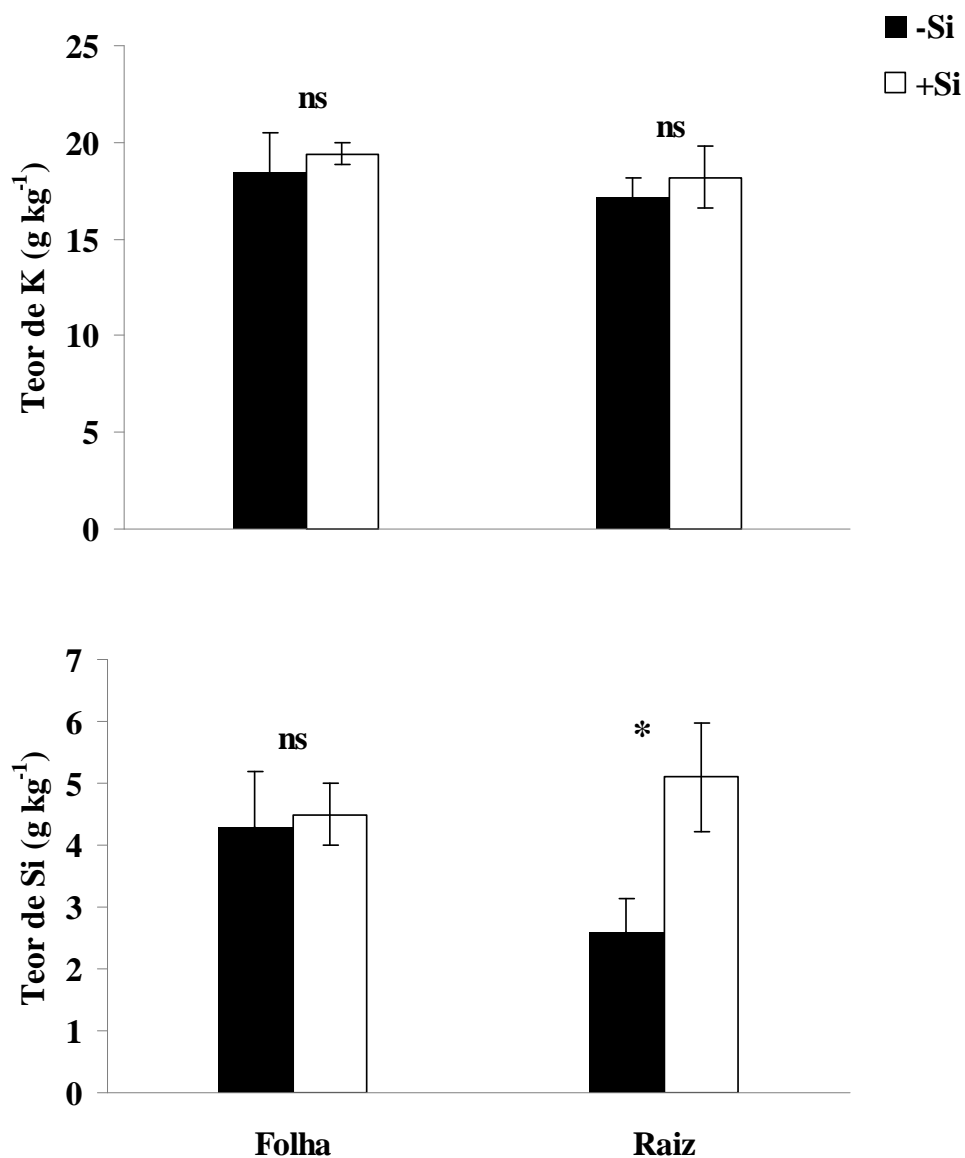


Figura 5. Teor de potássio (K) e silício (Si) na folha e raiz de mudas de cafeeiro cultivadas em solução nutritiva com (2 mmol L⁻¹) ou sem (0 mmol L⁻¹) adição de Si. ns, * = não significativo e significativo pelo teste-t de Student ao nível de 5% de probabilidade. O desvio padrão da média está representado em cada barra.

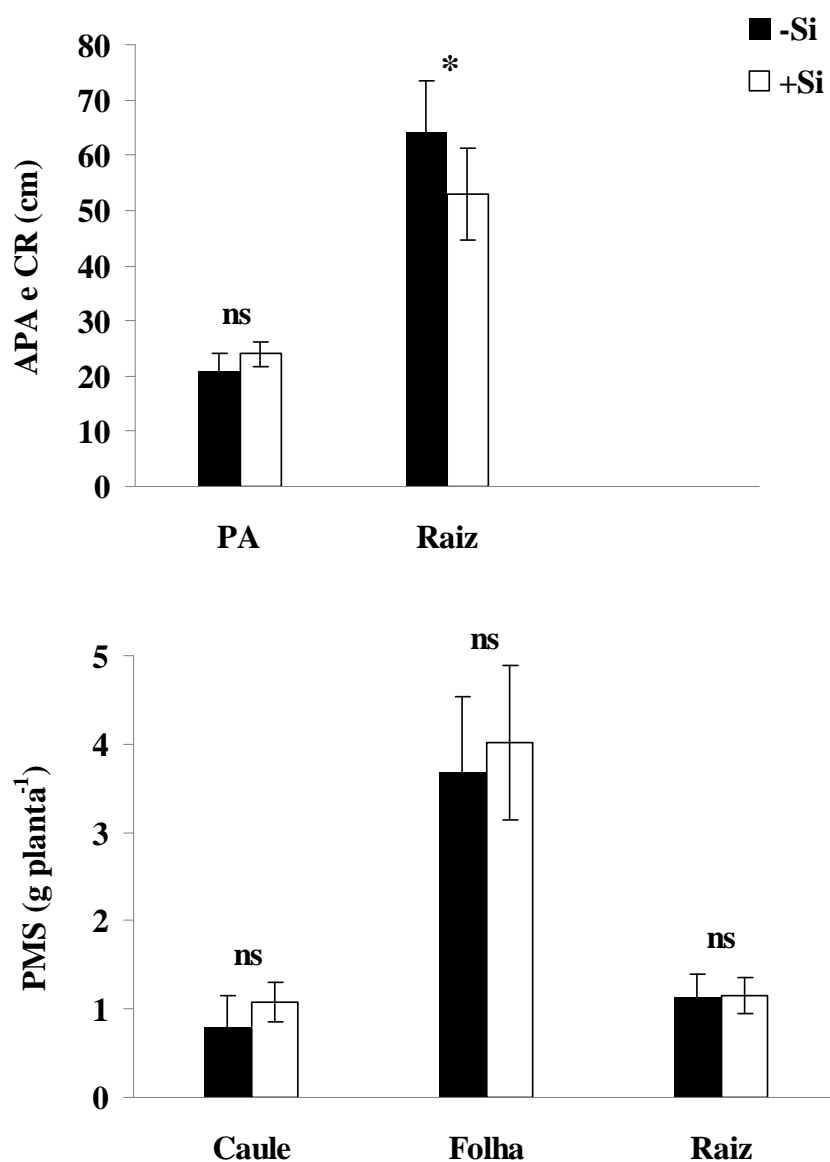


Figura 6. Altura da parte aérea (APA), comprimento da raiz (CR) e peso da matéria seca (PMS) do caule, folha e raiz de mudas de café cultivadas em solução nutritiva com (2 mmol L^{-1}) ou sem (0 mmol L^{-1}) adição de silício (Si). ns, * = não significativo e significativo pelo teste-t de Student ao nível de 5% de probabilidade. O desvio padrão da média está representado em cada barra.

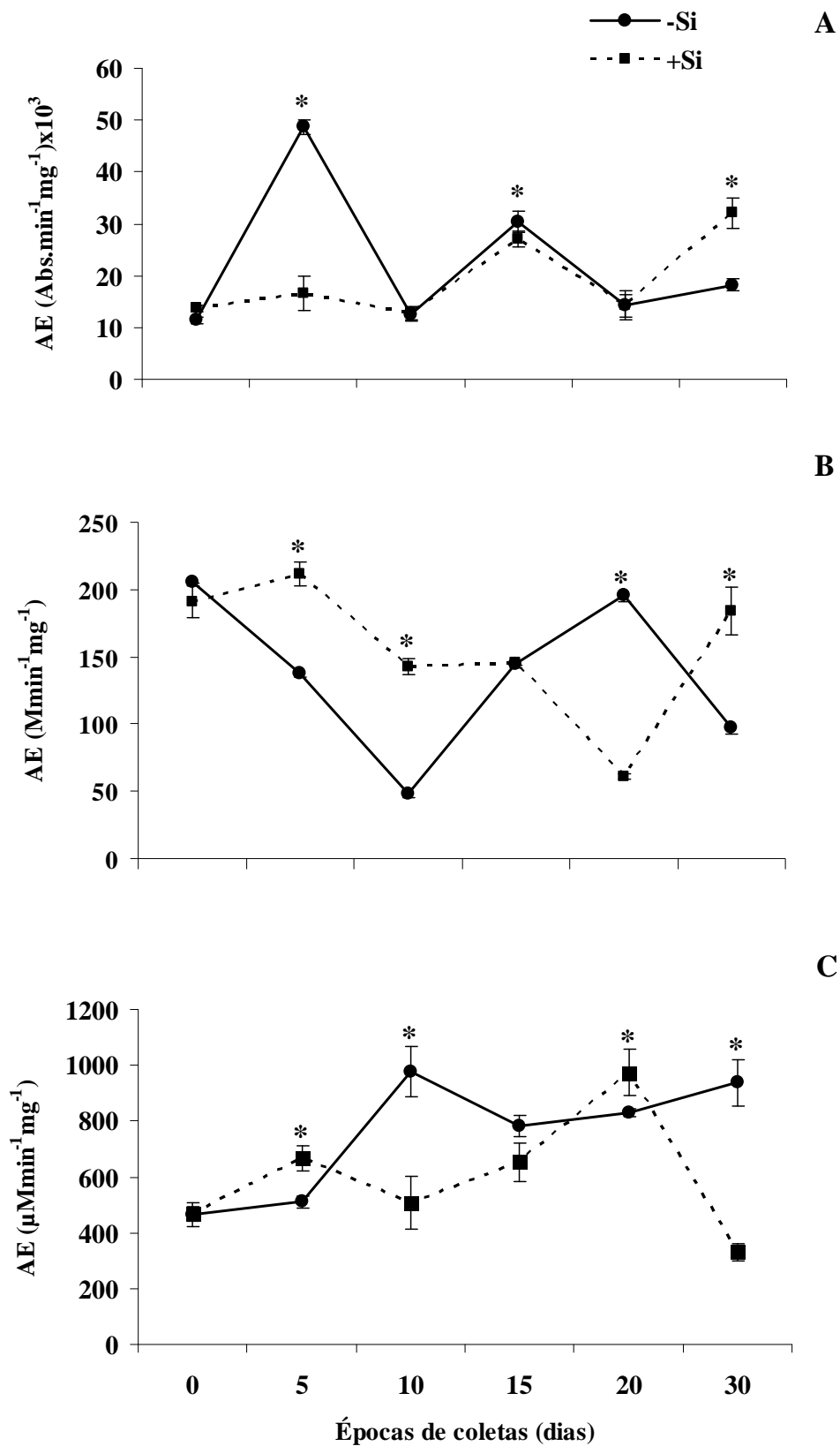


Figura 7. Atividade específica (AE) das enzimas glicanases (A), peroxidases (B) e quitinases (C) em folhas de mudas de cafeeiro inoculadas com *Hemileia vastatrix* e cultivadas em solução nutritiva com (2 mmol L⁻¹) ou sem (0 mmol L⁻¹) adição de silício (Si). * = significativo pelo teste-t de Student ao nível de 5% de probabilidade. O desvio padrão da média está representado em cada ponto.