

**FOSFITOS NA PROTEÇÃO E NA INDUÇÃO DE
RESISTÊNCIA DO CAFEIRO CONTRA
Hemileia vastatrix E *Cercospora coffeicola***

PEDRO MARTINS RIBEIRO JÚNIOR

2008

PEDRO MARTINS RIBEIRO JÚNIOR

**FOSFITOS NA PROTEÇÃO E NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA DO
CAFEIRO CONTRA *Hemileia vastatrix* E *Cercospora coffeicola***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitopatologia, para a obtenção do título de "Doutor".

Orientador
Prof. Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende

LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL
2008

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Ribeiro Júnior, Pedro Martins.

Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeiro contra
Hemileia vastatrix e *Cercospora coffeicola* / Pedro Martins Ribeiro Júnior.

– Lavras : UFLA, 2008.

105 p. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: Mário Lúcio Vilela de Resende

Bibliografia.

1. *Coffea arabica*. 2. Cercosporiose 3. Ferrugem. 4. Quitinases
Glucanases. 6. Peroxidases. 7. Lignina. I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

CDD – 633.739

PEDRO MARTINS RIBEIRO JÚNIOR

**FOSFITOS NA PROTEÇÃO E NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA DO
CAFEIRO CONTRA *Hemileia vastatrix* E *Cercospora coffeicola***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Fitopatologia, para a obtenção do título de "Doutor".

Aprovada em 18 de julho de 2008

Prof. Dr. Mario Sobral de Abreu	UFLA
Profa. Dra. Janice Guedes de Carvalho	UFLA
Dra. Sara Maria Chalfoun de Souza	Epamig/CTSM
Prof. Dr. Sérgio Florentino Pascholati	ESALQ/USP

**Prof. Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende
(Orientador)**

**LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL**

Aos meus pais, Pedro e Iris, pelo incentivo e apoio,

As minhas irmãs, pelo incentivo,

Aos meus sobrinhos, pelo carinho.

Dedico!

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade de realizar o curso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (Fapemig), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende, pela orientação, amizade e confiança na realização do presente trabalho.

Ao professor Dr. Mário Sobral de Abreu, à professora Dra. Janice Guedes de Carvalho, Dra. Sara Maria Chalfoun de Souza e ao Dr. Sérgio Florentino Pascholati, pela participação na banca e pelas valiosas sugestões.

Aos demais professores do Departamento de Fitopatologia, pelos conhecimentos transmitidos.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia, Ana Maria, Cleber, Edson, Eliane, Heloísa, Luciene, Rute e Tarley, pela agradável convivência e atenção, durante o transcorrer do curso.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia do Parasitismo do DFP, Daniel, Jadir, Vanessa, Fernanda, João de Cássia, Fabrício, Luiz Henrique, Moisés, Ana Cristina, Renato, Bruno, Espeto, Henrique, Rodrigo e João, pela convivência e auxílio nos experimentos.

À equipe deste trabalho: Daniel, Jerônimo, Moisés, Rodrigo e Márcia, pelo importante apoio oferecido.

Aos amigos Josinaldo e Fabrício, pela realização das análises químicas.

Aos amigos (craques) do “Fitopatorracha” pelos momentos de descontração.

Aos colegas do Departamento Flávio, Rodrigo, Alex, Ana Beatriz, Amanda, Ângelo, André, Bernardo, Carla, Érika, Esdras, Fernanda Martins, Flávia, Gilvaine, Janine, João Eduardo, Juliano, Lahyre, Luana, Luciana, Ricardo, Rodrigo, Sarah e Valquíria, pelo companheirismo.

Aos amigos de república, Ricardo e Jerônimo, e aos agregados, Paulo, Fabrício e Igor, pelos momentos de descontração e companheirismo.

Meu agradecimento especial a todas as pessoas cujos nomes foram omitidos, mas que contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
CAPÍTULO 1.....	1
FOSFITOS NA PROTEÇÃO E NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA DO CAFEEIRO CONTRA <i>Hemileia vastatrix</i> E <i>Cercospora coffeicola</i>	1
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	2
2 REFERENCIAL TEÓRICO	4
2.1 Ferrugem do cafeeiro	4
2.2 Cercosporiose do cafeeiro.....	5
2.3 O fenômeno da indução de resistência.....	8
2.4 Fosfitos no controle de doenças de plantas.....	11
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	16
CAPÍTULO 2.....	22
FOSFITOS NO CONTROLE DA FERRUGEM E DA CERCOSPORIOSE DO CAFEEIRO NO CAMPO	22
RESUMO	23
ABSTRACT	24
1 INTRODUÇÃO	25
2 MATERIAL E MÉTODOS	27
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55
CAPÍTULO 3.....	60
FOSFITOS E ACIBENZOLAR-S-METIL NA PROTEÇÃO DE MUDAS DE CAFEEIRO CONTRA <i>Cercospora coffeicola</i>	60
RESUMO.....	61

ABSTRACT	62
1 INTRODUÇÃO	63
2 MATERIAL E MÉTODOS	65
2.1 Obtenção dos produtos.....	65
2.2 Obtenção do fungo <i>C. coffeicola</i> e inoculação	66
2.3 Obtenção de mudas de café	66
2.4 Instalação do experimento	67
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	68
4 CONCLUSÃO	73
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
CAPÍTULO 4.....	76
ATIVAÇÃO DE MECANISMOS BIOQUÍMICOS ENVOLVIDOS NA RESPOSTA DE PROTEÇÃO INDUZIDA EM CAFEEIRO POR FOSFITOS E ACIBENZOLAR-S-METIL CONTRA <i>Cercospora coffeicola</i>	76
RESUMO.....	77
ABSTRACT	78
1 INTRODUÇÃO	79
2 MATERIAL E MÉTODOS	82
2.1 Obtenção dos produtos.....	82
2.2 Caracterização dos mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta de defesa	82
2.2.1 Obtenção das plantas, do inoculo e inoculação	82
2.2.2 Preparo de extratos foliares para a avaliação de proteínas totais e da atividade de peroxidase de guaiacol, quitinase e β -1,3-glucanase.....	83
2.2.2.1 Proteínas totais	84
2.2.2.2 Peroxidase de guaiacol (POX; EC 1.11.1.7).....	84
2.2.2.3 Quitinase (CHI; EC 3.2.1.14)	84
2.2.2.4 β -1,3-glucanase (GLU; EC 3.2.1.6)	85
2.2.3 Preparo de tecidos foliares para a avaliação de lignina solúvel e de fenóis solúveis totais.....	85
2.2.3.1 Determinação de lignina solúvel.....	85
2.2.3.2 Determinação de fenóis solúveis totais.....	86
2.4 Análise dos dados	87

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	88
3.1 Peroxidase.....	88
3.2 Quitinase e β -1,3-glucanase.....	91
3.3 Lignina e fenóis totais.....	95
4 CONCLUSÃO.....	100
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	105

RESUMO

RIBEIRO JÚNIOR, Pedro Martins. **Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola***. 2008. 105p. Tese (Doutor em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras; Lavras.¹

O presente trabalho foi realizado com os objetivos de avaliar o efeito da aplicação de fosfitos de potássio, manganês e zinco no controle da ferrugem e da cercosporiose em cafeeiro, no campo; verificar o efeito protetor desses produtos e do acibenzolar-S-metil (ASM) em mudas contra a cercosporiose e estudar os mecanismos envolvidos na resposta de defesa destes contra a cercosporiose. Para cumprir os objetivos, foram realizados três experimentos. O primeiro experimento foi conduzido em cafezal com cultivar Topázio, com 4 anos de idade, em dois anos de avaliação (2006 e 2007). O segundo e o terceiro experimentos foram realizados em casa de vegetação com a cultivar Mundo Novo. Os fosfitos proporcionam, em média, menores índices de ferrugem e de cercosporiose do cafeeiro em campo, se comparado à testemunha, e superiores àqueles proporcionados pelo fungicida, nos dois anos de avaliação. Em casa de vegetação, fosfitos e ASM proporcionaram proteção das mudas de cafeeiro, pois foram constatadas menor número de lesões por folha e menor incidência média da cercosporiose. Plantas pulverizadas com fosfito de potássio e manganês proporcionaram maior atividade das enzimas peroxidase, quitinase e β 1,3-glucanase e também aumento no teor de fenóis solúveis totais. Não se observou efeito dos tratamentos nos teores de lignina solúvel até os 21 dias após pulverização. As maiores atividades enzimáticas foram observadas principalmente nas últimas avaliações, a partir de 7 até 21 dias, à exceção da enzima β 1,3-glucanase, em que, nas primeiras horas houve aumento na atividade para os tratamentos com ASM e fosfito de manganês. Na avaliação do teor de fenóis solúveis, de forma acumulada, observou-se superioridade dos tratamentos com os fosfitos em relação à ASM e às testemunhas. O efeito dos fosfitos no controle da cercosporiose e da ferrugem do cafeeiro, provavelmente, se deve, de maneira direta devido à toxidez e indireta por meio de indução de resistência.

¹ **Orientador:** Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA.

ABSTRACT

RIBEIRO JÚNIOR, Pedro Martins. **Phosphites for the protection and induction of resistance in coffee plants against *Hemileia vastatrix* and *Cercospora coffeicola***. 2008. 105p. Thesis (Doctorate in Phytopathology) – Federal University of Lavras, Lavras.¹

The present work was aimed at evaluating the effect of the application of potassium, manganese and zinc phosphites on the control of rust and brown eye spot of coffee plants in the field; to verify the protective effect of these products and of acibenzolar-S-methyl (ASM) against brown eye spot on coffee seedlings and to study the mechanisms involved in the defense response of coffee seedlings against brown eye spot. To fulfill these objectives, three experiments were carried out. The first experiment was carried in a coffee plantation with a four year old Topazio cultivar, assessing rust and brown eye spot during two consecutive years (2006 and 2007). The second and third experiments were carried in a greenhouse with 'Mundo Novo' cultivar, inoculating *Cercospora coffeicola*. The phosphites provided, on average, smaller indices of rust and brown eye spot on coffee plants in the field, if compared to the control, and higher indices of these diseases compared to the fungicide, during two years of evaluation. In greenhouse, phosphites and ASM provided protection of coffee seedlings, therefore lower number of lesions per leaf and lower incidence of brown eye spot were evidenced. Plants sprayed with potassium and manganese phosphites had higher activity of peroxidase, chitinase and β 1,3-glucanase. The highest enzymatic activities were observed mainly at the last evaluations, from 7 up to 21 days, except for β 1,3-glucanase, which had its activity increased in the first hours for treatments with ASM and manganese phosphite. No effect of the treatments on the content of soluble lignin was observed until 21 days after spraying. Treatments with phosphites increased soluble phenolic content compared to ASM and to the control. The effect of phosphites on the control of brown eye spot and rust of coffee plants, is probably due to both, their direct toxic effect associated with their effect on the induction of resistance.

¹ **Advisor:** Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA.

CAPÍTULO 1

FOSFITOS NA PROTEÇÃO E NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA DO CAFEEIRO CONTRA *Hemileia vastatrix* E *Cercospora coffeicola*

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café. Estima-se que serão produzidas em 45,5 milhões de sacas de 60 quilos de café beneficiado, para a safra 2007/2008 (Conab, 2008). Assim, esta é uma das principais fontes de divisas para o país.

O estado de Minas Gerais se destaca como o maior produtor nacional, com produção de 22,9 milhões de sacas. As regiões Sul e Oeste Mineiro contribuem com pouco mais de 50% deste total, ou seja, 12,44 milhões de sacas (Conab, 2008).

As doenças foliares do cafeeiro causadas por *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola* estão entre os principais problemas da cafeicultura e são fontes de perdas na produção. A ferrugem alaranjada, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix*, é a principal doença do cafeeiro. Constatada no Brasil em janeiro de 1970, logo se disseminou para todas as regiões produtoras do país, sendo, atualmente, encontrada em todas as regiões produtoras de café do mundo.

Os principais danos causados pela ferrugem são ocasionados pela queda precoce das folhas e seca dos ramos produtivos que, por consequência, não produzem no ano seguinte, com redução da produtividade e da qualidade do café. Esta seca constante dos ramos reduz a longevidade dos cafeeiros e torna a lavoura, gradativamente, antieconômica (Godoy et al., 1997).

Outra doença que desponta como problema na cafeicultura é a cercosporiose, conhecida também por mancha-de-olho-pardo ou olho-de-pomba, causada por *Cercospora coffeicola*. É uma das doenças mais antigas do cafeeiro, tanto na América do Sul como América Central e está disseminada por todas as regiões produtoras. Nas regiões altas do estado do Espírito Santo e em Minas Gerais, a partir de 1971, ocorreram ataques intensos do patógeno no campo, com perdas na produção de, aproximadamente, 30% (Carvalho & Chalfoun, 2001).

Os prejuízos com a cercosporiose ganharam maior importância econômica com a implantação de lavouras nos cerrados ou em áreas de baixa fertilidade natural, pois existe grande relação entre o ataque de *Cercospora* e a nutrição mineral das plantas (Pozza et al., 2000; Talamini, 2001).

Atualmente, em todo o mundo, onde se pratica uma agricultura econômica, utilizam-se pesticidas para o controle de doenças de plantas. O uso racional desses produtos tem efeito benéfico para os produtores em curto prazo, no entanto, em longo prazo, pode ocorrer seleção de novas raças resistentes dos patógenos, além de promover a contaminação do ambiente e prejudicar a saúde humana. Para contornar este problema, vários estudos são realizados no intuito de desenvolver e descobrir métodos alternativos de controle de doenças de plantas.

Como medidas alternativas de controle de doenças, tem-se a indução de resistência em plantas, que envolve a ativação de mecanismos de defesa latentes existentes nas mesmas, representados por barreiras bioquímicas ou estruturais, que aumentam a resistência geral da planta em resposta a tratamentos com agentes bióticos e abióticos (Uknes et al., 1996). A utilização de produtos com nutrientes, como fosfitos, ganhou importância no controle de doenças de plantas nos últimos anos, pois eles podem atuar como indutores de resistência e diretamente sobre o patógeno.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Ferrugem do cafeeiro

O agente etiológico da ferrugem do cafeeiro é o fungo biotrófico *Hemileia vastatrix* Berk. & Br., pertencente à família Pucciniacea, ordem Uredinales, classe Basidiomycetes. Apresenta ciclo de vida incompleto, pois, até o momento, as fases de pínio e écio são desconhecidas (Godoy et al., 1997).

No Brasil, estima-se que as perdas devido ao ataque deste fungo sejam da ordem de 30% da produção, na ausência de medidas de controle, principalmente devido à predominância de plantas de café (*Coffea arabica*) susceptíveis à maioria das raças deste patógeno, incluindo a raça II, predominante no país (Zambolim et al., 1985; Mazzafera et al., 1993; Pereira & Sakiyama, 1999).

Os sintomas da ferrugem são, inicialmente, manchas cloróticas translúcidas, com diâmetro em torno de 5 mm nas folhas, que podem crescer e chegar a 1-2 cm, com o desenvolvimento de massas pulverulentas de cor amarelo-alaranjada na face abaxial do limbo foliar, formadas por urediniósporos. Áreas cloróticas na superfície adaxial da folha correspondem às regiões infectadas na face abaxial. Uma folha pode conter centenas de pústulas que podem coalescer e recobrir completamente a superfície foliar. As lesões, com o progresso da doença, aumentam de tamanho e formam uma área necrótica central, com reduzida produção de urediniósporos (Godoy et al., 1997).

Ocasionalmente, observam-se os sintomas em frutos verdes e extremidades de ramos das brotações novas. Nas plantações, o sintoma mais notável é a desfolha, que prejudica o desenvolvimento de plantas jovens, causando definhamento, o que compromete a produção. A desfolha antes do florescimento interfere no desenvolvimento dos botões florais e na frutificação e, durante o desenvolvimento dos frutos, leva à formação de grãos anormais e

defeituosos, afetando sensivelmente a produção (Godoy et al., 1997). A disseminação da ferrugem ocorre com maior eficiência pela ação do vento, gotas da chuva, escorrimento da água pelas margens do limbo foliar para a superfície inferior e pela ação do homem durante os tratos culturais (Godoy et al., 1997). A fonte de inóculo é constituída de lesões em folhas infectadas, nas quais são produzidos os urediniósporos. Como o período de produção dos urediniósporos numa mesma lesão pode ser superior a 3 meses, uma lesão produzida em uma estação vegetativa pode servir como fonte de inóculo para a estação seguinte (Chalfoun & Zambolim, 1985).

A ferrugem do cafeeiro é de difícil controle, mas resultados satisfatórios são obtidos pelo uso de fungicidas cúpricos, em pulverizações sistemáticas durante a estação chuvosa, com intervalos de duas a três semanas, dependendo da severidade da doença. Fungicidas sistêmicos podem ser usados de forma curativa em alternância com pulverizações cúpricas, porém, seu uso pode selecionar novas raças fisiológicas resistentes do patógeno (Agrios, 2005). Pesquisas são realizadas com o objetivo de obter cultivares portadores de genes de resistência a *H. vastatrix* que possam substituir as cultivares tradicionais de *C. arabica* susceptíveis, as quais requerem um controle sistemático da doença. No entanto, este processo é dificultado pelo aparecimento de novas raças fisiológicas do patógeno, que levam à “quebra” da resistência das cultivares melhoradas.

2.2 Cercosporiose do cafeeiro

A cercosporiose, também conhecida por mancha-de-olho pardo ou olho-de-pomba, é uma das principais doenças do cafeeiro. Seu agente etiológico é o fungo *Cercospora coffeicola* Berk & Cooke, pertencente à família Dematiaceae, ordem Moniliales, classe dos fungos mitospóricos (Godoy et al., 1997).

A doença manifesta-se por manchas circulares, de coloração castanho-claro a escuro, com centro branco-acinzentado, quase sempre envolvidos por halo amarelo, dando à lesão um aspecto de olho. No centro cinza das lesões, notam-se pontuações escuras que constituem as frutificações do fungo (esporodóquios). Podem ocorrer variações nos sintomas descritos, pela ausência do halo amarelado e, assim, a doença é chamada, em algumas regiões, de cercospora-negra. Os frutos também podem ser infectados por *C. coffeicola* e, neles, as lesões são mais frequentes quando estão próximos da maturação. A infecção nos frutos inicia-se quatro meses após a floração, com lesões deprimidas de coloração castanho-claro, disposta no sentido do pedúnculo-coroa do fruto. As manchas mais velhas são escuras e com aspecto ressecado, nas quais a polpa correspondente ao local da lesão fica aderente ao pergaminho. Os frutos, quando atacados no estágio ainda verde e verde-cana, amadurecem precocemente, com avermelhamento a partir da lesão (Chalfoun, 1997; Zambolim et al., 2005).

Nas regiões altas do estado do Espírito Santo e em Minas Gerais, a partir de 1971, ocorreram ataques intensos deste patógeno no campo, com perdas, na produção, de 30% (Carvalho & Chalfoun, 2001). Os prejuízos com a cercosporiose ganharam maior importância econômica com a implantação de lavouras nos cerrados ou em áreas de baixa fertilidade natural, pois existe grande relação entre o ataque de cercospora e a nutrição mineral das plantas (Pozza et al., 2000; Talamini, 2001). Assim, solos de baixa fertilidade ou com desequilíbrio nutricional, principalmente em cálcio, potássio e nitrogênio, predisõem à planta ao ataque mais intenso do patógeno.

O fato de a cercosporiose ser um problema desde as mudas no viveiro até os plantios novos no campo torna esta doença ainda mais importante na cafeicultura (Chalfoun, 1997; Zambolim et al., 2005). Nos viveiros, ela provoca desfolha e afeta o crescimento das mudas, tornando-as raquíticas e inadequadas

para o plantio. Já em plantios novos, é comum ocorrer intensos ataques com desfolha acentuada e redução do crescimento das mudas, principalmente em lavouras implantadas em terrenos de baixa fertilidade e ou com adubações desequilibradas. Além disso, podem ocorrer ataques severos desse patógeno, com queda de folhas e frutos após as primeiras produções. Em lavouras adultas, além da queda de folhas, a doença provoca a queda prematura e o chochamento dos frutos atacados e também pode funcionar como porta de entrada para outros fungos que interferem na qualidade do café. Isso implica na redução da produção e do rendimento e na depreciação do tipo e da bebida do café (Chalfoun, 1997).

Alta umidade relativa e temperaturas amenas são condições ideais para o desenvolvimento do fungo, pois ele se desenvolve a temperaturas entre 10°C e 25°C. Condições de alta luminosidade e alta carga pendente também contribuem para o progresso da doença. Quando a planta tem alta carga pendente, os frutos drenam grande parte dos nutrientes das folhas para completar seu desenvolvimento e, assim, a folha se torna desnutrida, com maior incidência dessa doença (Zambolim & Vale, 2003).

Como medidas de controle da doença, algumas práticas culturais podem ser adotadas, principalmente em condições de viveiro, como controle da irrigação, luminosidade, utilização de substratos equilibrados e com boas propriedades físicas. O controle químico pode ser realizado por meio de aplicações de fungicidas cúpricos, alternados com fungicidas sistêmicos. Os triazóis e as estrobilurinas são bastante utilizados, pois, com as mesmas aplicações, realiza-se também o controle da ferrugem (Zambolim & Vale, 2003).

2.3 O fenômeno da indução de resistência

As plantas têm a capacidade de reconhecer a invasão de agentes patogênicos e de desenvolver diversos mecanismos de defesa elaborados contra a ameaça de ataque desses agentes (Staskawicz, 2001). Alguns desses mecanismos são expressos constitutivamente e constituem-se de barreiras físicas e químicas, enquanto outros são induzidos somente após o ataque do patógeno, desenvolvendo uma rede de transdução de sinal e a rápida ativação da expressão de genes que codificam para proteínas relacionadas à defesa de plantas (Dixon & Lamb, 1990). As defesas constitutivas são representadas por estruturas como ceras, cutícula, parede celular espessa, tricomas, adaptações em estômatos e fibras vasculares, bem como substâncias químicas pré-formadas, como fenóis, alcalóides, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos, glicosídeos cianogênicos, fototoxinas, inibidores protéicos e enzimas hidrolíticas (Pascholati & Leite, 1995). Por outro lado, os mecanismos induzidos são a formação de papila, halos, lignificação, camada de cortiça, formação de tiloses e deposição de goma, além da produção de compostos como fitoalexinas, proteínas relacionadas à patogênese (PR proteínas) e espécies reativas de oxigênio (Pascholati & Leite, 1995).

A indução de resistência consiste no aumento da capacidade de defesa da planta contra amplo espectro de organismos fitopatogênicos, incluindo fungos, bactérias e vírus (Van Loon, 1998). A resistência resultante é proporcionada por um agente indutor, biótico ou abiótico, que aciona mecanismos de defesa na planta, os quais se encontram na forma latente (Hammerschmidt & Kúc, 1982). Essa ativação pode ser obtida pelo tratamento com agentes bióticos, ou seja, formas avirulentas de patógenos, raças incompatíveis e, em determinadas circunstâncias, por formas virulentas de patógenos, extratos vegetais e extratos de fungos (Stangarlin & Pascholati, 1994)

ou por ativadores químicos, como ácido aminobutírico (Cohen, 1996), ácido 2,6-dicloroisonicotínico e acibenzolar-S-metil (Van Loon, 1998).

A resistência induzida (RI) ativa mecanismos de defesa representados por barreiras bioquímicas e ou estruturais, com aumento da resistência geral da planta (Oliveira et al., 1997). A proteção obtida contra determinado patógeno pode ser local ou sistêmica e depende do intervalo de tempo entre o tratamento inicial (indutor) e a inoculação do patógeno (desafiador) (Pascholati & Leite, 1995). A sua duração pode ser de poucos dias a algumas semanas ou pode durar todo o ciclo de vida da planta (Pascholati & Leite, 1995), tornando-se, dessa maneira, um mecanismo de defesa constitutivo da mesma.

A RI é dividida em duas categorias, a resistência sistêmica adquirida (RSA) (Sticher et al., 1997) e a resistência sistêmica induzida (RSI) (Van Loon et al., 1998). Na primeira, a resistência se desenvolve sistêmica ou localizadamente em resposta a um patógeno que causa uma lesão necrótica (HR) ou por aplicação exógena de ácido salicílico ou compostos sintéticos, como o estér S-metil do ácido benzo [1,2,3] tiadiazol-7-carbotióico (ASM) e o ácido 2,6-dicloroisonicotínico (INA). Nesta, a resistência expressa, geralmente, é efetiva contra amplo espectro de patógenos e está associada com a produção de PR proteínas. Muitas delas possuem atividade antimicrobiana e são excelentes marcadores moleculares para a resposta de resistência (Hammerschmidt & Smith-Becker, 1999). Já na RSI, a molécula sinalizadora é mediada pelo ácido jasmônico e o etileno, sem envolver a expressão de PR proteínas (Van Loon et al., 1998).

Dentre as PR proteínas, as quitinases (CHI; EC 3.2.1.14) são monômeros com massa molecular entre 25 e 35 kDa, com atividade de lisozima e podem hidrolisar ligações β -1,4 entre ácido N-acetilmurâmico e N-acetilglucosamina no peptideoglicano bacteriano. Certas quitinases podem agir como quitosanases, além de existirem também quitosanases específicas

induzidas em plantas, em resposta a fitopatógenos. Embora as quitinases hidrolisem eficientemente a quitina, que é o principal componente da parede celular de muitos fungos, estas enzimas também são encontradas em plantas de fumo, em resposta à inoculação com o *Tobacco mosaic virus* (TMV) (Ponstein et al., 1994). Outras PR proteínas importantes, as β -1,3-glucanases (GLU; EC 3.2.1.6), são enzimas que hidrolisam polímeros de β -1,3-glucana, compostos que, juntamente com a quitina, são os principais componentes que conferem resistência à parede celular dos fungos (Cornelissen & Melchers, 1993).

Na indução de resistência, quitinases e β -1,3-glucanases agem de forma conjunta. Uma pequena quantidade de β -1,3-glucanases é sintetizada e secretada para a lamela média (espaço intercelular) e, com o crescimento fúngico neste espaço, esta enzima começa a degradar a parede celular do fungo e os fragmentos liberados pela ação da enzima funcionam como eliciadores, com indução da síntese de grande quantidade de quitinases e β -1,3-glucanases que são acumuladas nos vacúolos. A partir do momento em que o fungo consegue penetrar na célula, os vacúolos são rompidos e ocorre a liberação de grande quantidade dessas enzimas com repressão da ação do patógeno (Mauch & Staehelin, 1989).

As peroxidases (POX; EC 1.11.1.7) não só oxidam os compostos fenólicos como também aumentam a sua velocidade de polimerização em substâncias similares à lignina, que se depositam na parede celular e interferem no posterior crescimento e desenvolvimento do patógeno (Agris, 2005). Elas representam um conjunto de dezenas de isoenzimas capazes de catalisar a oxidação de vários substratos, como substâncias aromáticas, ácido ascórbico e compostos fenólicos, na presença de peróxido de hidrogênio, com formação de quinonas e água. Os produtos gerados pela ação das peroxidases estão envolvidos na formação da parede celular vegetal, na suberização e na lignificação (Kollatukudy et al., 1992). Em plantas infectadas por patógenos, ou

em plantas induzidas, as respostas de defesa estão também ligadas à oxidação de compostos fenólicos, que são tóxicos a patógenos (Sutic & Sinclair, 1991). Estas enzimas estão também envolvidas na geração de H₂O₂ que, por sua vez, podem gerar outros radicais ativos de oxigênio, além de apresentar atividade antimicrobiana direta (Peng & Kúc, 1992).

Outra importante molécula induzida é a lignina, substância orgânica mais abundante nas plantas, depois da celulose. É um polímero de grupos fenilpropanóides, altamente ramificado, que apresenta função primária e secundária. Além de proporcionar suporte mecânico, a lignina desempenha funções protetoras importantes nos vegetais. A lignificação bloqueia o desenvolvimento de patógenos e representa uma resposta freqüente à infecção ou à lesão (Taiz & Zeiger, 2004). A lignina, juntamente com a celulose e outros polissacarídeos que ocorrem na parede celular das plantas superiores, funciona como barreira física à penetração fúngica (Vance et al., 1980) A lignificação pode impedir o desenvolvimento do fungo nos tecidos vegetais de várias maneiras: estabelecimento de barreira mecânica ao avanço e desenvolvimento do patógeno; modificação da parede celular, tornando-a mais resistente ao ataque de enzimas hidrolíticas; aumento da resistência das paredes à difusão de toxinas produzidas pelos patógenos, que impedem que os nutrientes do hospedeiro sejam utilizados pelo invasor (Cavalcanti et al., 2005).

2.4 Fosfitos no controle de doenças de plantas

O fósforo (P) é um mineral muito importante para os organismos vivos e faz parte de compostos de suma importância para a vida vegetal, como o ácido desoxirribonucléico (DNA), o ácido ribonucléico (RNA), o polímero de nucleotídeos e os ésteres, além do fósforo inorgânico (Taiz & Zeiger, 2004). O P elementar não ocorre na natureza, pois é muito reativo e combina rapidamente

com outros elementos, como o oxigênio (O) e o hidrogênio (H). Quando plenamente oxidado, o P está ligado a quatro átomos de O, molécula conhecida como fosfato. No entanto, quando não é totalmente oxidado e o H ocupa o lugar de um átomo de O, a molécula resultante é chamada de fosfito (Figura 1). Esta mudança aparentemente simples na forma molecular provoca diferença significativa que influencia a sua solubilidade, a absorção e os efeitos no metabolismo e na fisiologia vegetal (Lovatt & Mikkelsen, 2006).

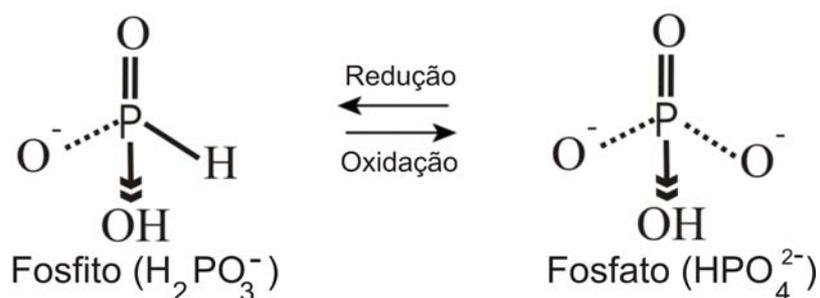


FIGURA 1 Comparação entre a molécula de fosfito (ácido fosforoso) e de fosfato (ácido fosfórico).

Não existem evidências concretas de que as plantas utilizam fosfitos como fonte direta de P. Por isso, os mesmos não são aplicados como fonte de P e sim como um “ativador” de defesas das plantas. Os fosfatos são fontes exclusivas de P na nutrição de plantas (Marschner, 1995). Segundo Carswell et al. (1996), quando os fosfitos são aplicados em plantas que apresentam baixo nível nutricional de P, eles podem influenciar negativamente o desenvolvimento da mesma, pois eles são inibidores competitivos ao fosfato, pelo fato de sua molécula ser mais facilmente absorvida pelas plantas.

Como exemplo benéfico da utilização do fosfito em plantas, em única aplicação foliar, no pré-florescimento, em laranjeiras da cultivar Valência,

Albrigo (1999) observou-se maior número de flores, rendimento de frutos e aumento de sólidos solúveis totais, em comparação com plantas não tratadas. Segundo Lovatt (1999), duas aplicações foliares de fosfito, uma em maio e outra em julho, também em laranjeira, proporcionaram frutos com maior valor comercial, sem reduzir a produção total. As respostas fisiológicas proporcionadas pelo fosfito podem estar relacionadas ao metabolismo do açúcar, à estimulação da rota do ácido shiquímico ou a alterações hormonais e químicas nas plantas (Lovatt & Mikkelsen, 2006).

O fosfito é comercializado, há algum tempo, na forma de etil fosfonato (Fosetyl-Al) e, mais recentemente, como sal de potássio, manganês, cobre, zinco, etc., recomendado no controle dos fungos do gênero *Phytophthora* e dos fungos de podridões do colo, raiz, tronco e frutos. Na forma de sal, como o de potássio (Figura 2), parece ter o mesmo efeito que o Fosetyl-Al, fungicida recomendado para o controle de oomicetos como *Pythium* spp e *Phytophthora* spp.

O Fosetyl-Al é constituído por três moléculas de etil fosfonato ligadas ao alumínio que neutralizam suas cargas negativas. O fosfito é liberado pela hidrólise do etil fosfonato e favorece a proteção à planta contra fungos patogênicos, com translocação de forma descendente na planta, via floema, das folhas para as raízes (McDonald, 2001). Processo análogo parece ocorrer para os fosfitos (Fenn & Coffey, 1989; Niere et al., 1994), que causam acúmulo de P nas formas de polifosfato e pirofosfato em *Phytophthora*, estando a redução da doença em questão relacionada ao metabolismo do pirofosfato, o qual interfere em várias vias metabólicas essenciais ao crescimento fúngico (Niere et al., 1994).

O efeito direto do fosfito no metabolismo de oomicetos é importante, contudo, este não deve ser o único mecanismo de ação do produto no controle de patógenos que, na realidade, resultaria de uma ação mista com envolvimento

também da ativação do sistema de defesa natural da planta (Smillie et al., 1989). Os fosfitos têm a propriedade de estimular a formação de substâncias naturais de autodefesa da planta, como as fitoalexinas, protegendo-a do ataque de fungos, e também apresentam efeito fungicida, atuando diretamente sobre o fungo (Fenn & Coffey, 1984).

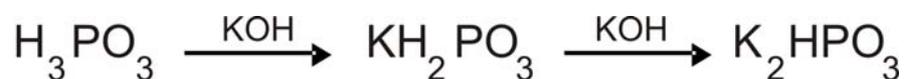


FIGURA 2 Formação do fosfito de potássio pela reação do ácido fosforoso com o hidróxido de potássio.

O uso de produtos à base de fosfito tem proporcionado resultados expressivos no controle de doenças de plantas (Nojosa et al., 2005). A aplicação conferiu alto nível de proteção contra oídio em crucíferas, de maneira dependente da dose utilizada. A proteção restringiu-se apenas aos tecidos tratados, sem resposta sistêmica, embora os autores sugiram a atuação sinérgica dos modos de ação direto sobre o patógeno e indireto, com ativação das defesas dessas hortaliças (Bécot et al., 2000).

Segundo Pajot et al. (2001), fosfito de potássio, na concentração de 40,6 ppm, proporcionou completa proteção ao míldio da alface. Esta mesma concentração inibiu totalmente a germinação dos conídios, com efeito fungitóxico, sem indução do acúmulo de PR proteínas. Em pomar comercial de macieira, Reuveni et al. (2003) demonstraram que três aplicações foliares de fosfito de potássio, a partir do início da floração até as pétalas caírem, reduziram o número de frutos com podridão causada por *Alternaria alternata* em 60%, em relação a plantas não tratadas. A aplicação de fosfito (1,5 mL L⁻¹) nos frutos de maçã em pós-colheita foi eficiente no controle do mofo-azul (*Penicillium*

expansum) (Blum et al., 2007). Também em pós-colheita, frutos de maçã tratados com fosfito de potássio (250 mL L^{-1}) e cloreto de cálcio apresentaram menor incidência de podridões pós-colheita e menores diâmetros de lesões. Esses resultados foram semelhantes aos obtidos com a aplicação do fungicida padrão iprodione (Brackmann et al., 2004).

Em cafeeiro, aplicações do fosetyl-Al controlaram a mancha de Phoma com redução do percentual de folhas e de ramos atacados, diferindo significativamente da testemunha (Mansk & Matiello, 1983). Também em cafeeiro, o fosfito de potássio aplicado em folhas destacadas reduziu a área abaixo da curva de progresso da severidade da mancha de Phoma, sem diferenças em relação ao tebuconazole e fosetyl-Al, e, em mudas, proporcionou diminuição da severidade da ferrugem (Nojosa, 2003). No campo, fosfitos apresentaram efeito protetor em cafeeiro, diminuindo a intensidade da mancha de Phoma (Barguil, 2004). Entretanto, para cafeeiro, poucos trabalhos com fosfitos foram publicados com relatos do seu efeito na ativação de mecanismos de defesa da RSA.

Existem vários relatos da utilização de fosfitos no controle de doenças de plantas, entretanto, esta atuação como indutores de resistência é questionada, não se encontrando em muitos destes trabalhos, evidências concretas de respostas de defesa ativadas pelos sais de fosfito. Assim, são necessários estudos mais detalhados da ação dessa molécula nas plantas.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBRIGO, L.G. Effects of foliar applications of urea or Nutriphite on flowering and yields of Valencia orange trees. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Wronter Haven, v. 112, p.1-4, 1999.

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5th Ed., New York: Academic Press, 922 p. 2005.

BARGUIL, M.B. **Indução de resistência e reação de cultivares de *Coffea arabica* L. a *Phoma costarricensis* ECHANDI**. 2004. 64 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

BÉCOT, S.; PAJOT, E.; LE CORRE, D.; MONOT, C.; SILUÉ, D. Phytogard (K_2HPO_3) induces localized resistance in cauliflower to downy mildew of crucifers. **Crop Protection**, Surrey, v. 19, p. 417-425, 2000.

BLUM, L.E.B., AMARANTE, C.V.T.; DEZANET, A.; LIMA, E.B.; NETO, P.H.; ÁVILA, R.D.; SIEGA, V. Fosfitos aplicados em pós-colheita reduzem o mofo-azul em maçãs 'Fuji' e 'Gala'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 2, p. 265-268, 2007.

BRACKMAN, A.; GIEHL, R. F. H.; SESTARI, I.; STEFFENS, C. A. Fosfitos para o controle de podridões pós-colheita em maçãs 'Fuji' durante o armazenamento refrigerado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1039-1042, 2004.

CARVALHO, V. L.; CHALFOUN, S. M. **Cercospora**: doença do cafeeiro também chamada de "olho pardo" ou "olho de pomba. Belo Horizonte: EPAMIG, 2001. (Informe tecnológico, n. 026).

CARSWELL, C.; GRANT, B.R.; THEODOROU, M.E.; HARRIS, J.; NIERE, J.O.; PLAXTON, W.C. The fungicide phosphonate disrupts the phosphate starvation response in *Brassica nigra* seedlings. **Plant Physiology**, Rockville, v. 110, p. 105-110, 1996.

CAVALCANTI, L. S.; BRUNELLI, K. R.; STANGARLIN, J. R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L. S.; DIPIERO, R.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ. 2005. p. 81-124.

CHALFOUN, S. M. **Doenças do cafeeiro**: importância, identificação e métodos de controle. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 93 p.

CHALFOUN, S. M.; ZAMBOLIM, L. Ferrugem do cafeeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 11, n. 126, p. 42-46, jun. 1985.

COHEN, Y. Induced resistance against fungal diseases by aminobutyric acids. In: LYR, H.; RUSSEL, P. E.; SISLER, H. D. (Ed.). **Modern fungicides and antifungal compounds**. Andover: Intercept, 1996. p. 461-466.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira Café Safra 2008, segunda estimativa, maio/2008**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/2_levantamento_2008.pdf> Acesso em: 18 jun. 2008.

CORNELISSEN, B. J. C.; MELCHERS, L. S. Strategies for control of fungal diseases with transgenic plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 101, n. 3, p. 709-712, Mar. 1993.

DIXON, R. A.; LAMB, C. J. Molecular communication in interactions between plant and microbial pathogens. **Annual Review Plant Physiology Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 41, p. 339-367, 1990.

FENN, M. E.; COFFEY, M. D. Quantification of phosphonate and ethyl phosphate in tobacco and tomato tissues and significance for the mode of action of two phosphonate fungicides. **Phytopathology**, St. Paul, v. 79, n. 1, p. 76-82, Jan. 1989.

GODOY, C. V.; BERGAMIN FILHO, A.; SALGADO, C. L. Doenças do cafeeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v. 2, cap.17, p. 184-200.

HAMMERSCHMIDT, D.; KUC, J. Lignification as a mechanism for induced systemic resistance in cucumber. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 20, n. 1, p. 61-71, 1982.

HAMMERSCHMIDT, R.; SMITH-BECKER, J. A. The role of salicylic acid in disease resistance. In: AGRAWAL, A. A. ; TUZUN, S.; BENT, E. (Ed.). **Induced plant defenses against pathogens and herbivores - biochemistry, ecology and agriculture**. Saint Paul: APS, 1999. p. 37-53.

LOVATT, C. J. Timing citrus and avocado foliar nutrient applications to increase fruit set and size. **Hort Tech**, Alexandria, v. 9, p. 607-612, 1999.

LOVATT, C. J.; MIKKELSEN, R. L. Phosphite fertilizers: What are they? Can you use them? What can they do? **Better Crops**, New York, v. 90, n. 4, p. 11-13, Apr. 2006.

MANSK, Z.; MATIELLO, J. B. Estudo de doses de fungicidas sistêmicos e orgânicos no controle à *Phoma* spp. em cafeeiros (*Coffea arabica* L.). CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 10., 1983, Poços de Caldas. **Anais...** Rio de Janeiro: IBC/GERBA, 1983. p. 392-393.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. London: Academic, 1995. 889 p.

MAUCH, F; STAEHELIN, L.A. Functional implications of the subcelular localization of ethylene-induced chitinase and β -1,3-glucanase in bean leaves. **Plant Cell**, Baltimore, v.1, n. 4, p. 447-457, Apr. 1989.

MAZZAFERA, P.; FAZUOLI, L.C.; CARVALHO, A. Ploidy and resistance of *Coffea arabica* and related species to coffee rust. **Journal of Genetics and Breeding**, Rome, v. 47, n. 3, p. 267-270, Sept. 1993.

MCDONALD, A. E.; GRANT, B. R.; PLAXTON, W. C. Phosphite (phosphorous acid): its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. **Journal of Plant Nutrition**, New York, v. 24, 10, p. 1505-1519, 2001.

NOJOSA, G. B. A. **Efeito de indutores na resistência de *Coffea arabica* L. à *Hemileia vastatrix* BERK & BR. e *Phoma costarricensis* ECHANDI**. 2003. 102 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

NOJOSA, G. B. A.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, A. V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S.(Ed.).

Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 139-153.

NIERE, J. O.; DEANGELIS, G.; GRANT, B. R. The effect of phosphonate on acid-soluble phosphorus components in the genus *Phytophthora*. **Microbiology**, New York, v. 140, n. 7, p. 1661-1670, July 1994.

OLIVEIRA, R. F.; PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Papilla formation and peroxidase activity in *Mimosa scabrella* hypocotyls inoculated with the non-pathogen *Colletotrichum graminicola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 195-197, jun. 1997.

PAJOT, E.; CORRE, D. L.; SILUÉ, D. Phytogard[®] and DL- β -amino butyric (BABA) induce resistance to downy mildew (*Bremia lactucae*) in lettuce (*Lactuca sativa* L.) **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, n. 9, p. 861-869, 2001.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: Mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de Fitopatologia: princípios e Conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, cap. 22, p. 417-454.

PENG, M.; KUC, J. Peroxidase-generated hydrogen peroxide as a source of antifungal activity *in vitro* and on tobacco leaf disks. **Phytopathology**, St. Paul, v. 82, n. 6, p. 696-698, June 1992.

PEREIRA, A. A.; SAKIYAMA, N. S. Melhoramento genético do cafeeiro visando resistência às doenças. In: SIMPÓSIO DE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, GENÉTICA E MELHORAMENTO DO CAFEEIRO, 3., **Anais...** Lavras: UFLA, 1999. p. 117-140.

PONSTEIN, A. S.; BRES VLOEMANS, S. A.; SELA BUURLAGE, M. B.; ELZEN, P. J. M. V. D.; MELCHERS, L. S.; CORNELISSEN, B. J. C.; VAN DEN ELZEN, P. J. M. A novel pathogen- and woundinducible tobacco (*Nicotiana tabacum*) protein with antifungal activity. **Plant Physiology**, Rockville, v. 104, n. 1, p. 109-118, Jan. 1994

POZZA, A. A. A.; MARTINEZ, H. E. P.; POZZA, E. A.; CAIXETA, S. L.; ZAMBOLIM, L. Intensidade da mancha de olho pardo em mudas de cafeeiro em função de doses de N e K em solução nutritiva. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 29-33, jan./mar, 2000.

REUVENI, M.; SHEGLOV, D. & COHEN, Y. Control of moldy-core decay in apple fruits by β -aminobutyric acids and potassium phosphites. **Plant Disease**, St. Paul, v. 87, n. 8, p. 933-936, Aug. 2003.

SMILLIE, R.; GRANT, B. R.; GUEST, D. The mode of action of phosphite: evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp in plants. **Phytopathology**, St. Paul, v. 79, n. 9, p. 921-926, Sept. 1989.

STASKAWICZ, B. Genetics of plant-pathogen interactions specifying plant disease resistance. **Plant Physiology**, Rockville, v. 125, n. 1, p. 73-76, Jan. 2001.

STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F. Proteção de plântulas de milho pipoca contra *Exserohilum turcicum* pelo uso de *Saccharomyces cerevisiae*. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 20, n. 1, p. 16-21, jan./mar. 1994.

STICHER, L.; MAUCH MANI, B.; METRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 35, p. 235-270, 1997.

SUTIC, D. D.; SINCLAIR, J. B. **Anatomy and physiology of diseased plants**. Boston: CRC, 1991. 232 p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TALAMINI, V.; SOUZA, P.E.; POZZA, E.A.; SILVA, A.M.; BUENO FILHO, J.S.S. Progresso da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) em diferentes lâminas de irrigação e diferentes parcelamentos de adubação. **Ciência & Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 1, p. 55-62, jan./mar. 2001.

UKNES, S.; VERNOOIJ, B.; MORRIS, S.; CHANDLER, D.; HENRY-YORK, S.; SPECKER, N.; HUNT, M.; NEUENSCHWANDER, U.; LAWTON, K.; STARRETT, M.; FRIEDRICH, L.; WEYMANN, K.; NEGROTTO, D.; GÖRLACH, J.; LANAHAN, M.; SALMERON, J.; WARD, E.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Reduction of risk for growers: methods for the development of disease-resistant crops. **New Phytologist**, Cambridge, v. 133, n. 1, p.3-10, May 1996.

VANCE, C. P.; KIRK, T. K.; SHERWOOD, R. T. Lignification as a mechanism of disease resistance. **Annual Review of Plant Pathology**, Palo Alto, v. 18, p. 259-288, 1980.

VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE, C. M. J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 36, p. 453-483, 1998.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R. Estratégias múltiplas no manejo integrado de doenças do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, 137-153, ago. 2003. (Suplemento).

ZAMBOLIM, L., MARTINS, M.C.Del P.; CHAVES, G.M. Café. **Informe Agropecuário**, v.131, p.64-75, 1985.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, E. M. Doenças do cafeeiro (*C. arabica* e *C. canephora*), In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p.165-180.

CAPÍTULO 2

FOSFITOS NO CONTROLE DA FERRUGEM E DA CERCOSPORIOSE DO CAFEIRO NO CAMPO

RESUMO

RIBEIRO JÚNIOR, Pedro Martins. Fosfitos no controle da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro no campo. In: _____. **Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola***. 2008. Cap. 2, p. 22-59. Tese (Doutor em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras¹.

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da aplicação de fosfitos de potássio, zinco e manganês no controle da ferrugem e cercosporiose do cafeeiro em campo de produção convencional. Os experimentos foram conduzidos no campus da Universidade Federal de Lavras, em área com cultivar Topázio, com 4 anos de idade, em delineamento em blocos casualizados com 4 repetições. Testaram-se dois fosfitos de potássio (500mL/100L), fosfito de manganês (333mL/100L), fosfito de zinco (200mL/100L) e o fungicida (epoxiconazol + piraclostrobina). Os fosfitos foram pulverizados em dezembro de 2005; fevereiro, abril, julho e dezembro de 2006 e fevereiro, abril e julho de 2007. O fungicida foi pulverizado em dezembro de 2005 e de 2006 (1,5L/ha) e em fevereiro de 2006 e 2007 (1,0L/ha). Os fosfitos proporcionam, em média, menores índices da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro, se comparado à testemunha e superiores àqueles proporcionados pelo fungicida, nos dois anos de avaliação (2006 e 2007). No ano de alta produtividade (2006) aplicações com fosfitos proporcionaram redução média na severidade da ferrugem de 30% e da cercosporiose de 25% e no ano de baixa produtividade (2007) observou-se redução na severidade da ferrugem em 53% e da cercosporiose de 32%. Fosfitos aumentaram, em média, 44% no enfolhamento em relação à testemunha, no ano de alta produtividade e de maior intensidade da ferrugem e cercosporiose do cafeeiro, proporcionando também aumento médio na produtividade de 26%, no segundo ano de produção, em relação à testemunha.

¹ **Orientador:** Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA

ABSTRACT

RIBEIRO JÚNIOR, Pedro Martins. Phosphites for the control of coffee leaf rust and brown eye spot at field conditions. In: _____. **Phosphites for the protection and induction of resistance in coffee plants against *Hemileia vastatrix* and *Cercospora coffeicola***. 2008. Chap. 2, p. 22-59. Thesis (Doctorate in Phytopathology) – Federal University of Lavras, Lavras.¹

The study was aimed at evaluating the effect of the application of phosphites for the control of leaf coffee rust and brown eye spot at field conditions. The experiments were conducted on the campus of the Universidade Federal de Lavras, in field with Topazio cultivar, with 4 years of age, randomized block design with 4 repetitions. Two potassium phosphites (500mL/100L), manganese phosphite (333mL/100L), zinc phosphite (200mL/100L) and fungicide (epoxiconazol + pyraclostrobin) were tested. The phosphites were sprayed in December 2005, February, April, July and December of 2006 and February, April and July of 2007. The fungicide was sprayed in December 2005 and 2006 (1.5 L / ha) and in February 2006 and 2007 (1.0 L / ha). The phosphites provide, on average, lower rates of rust and brown eye spot of coffee plants, as compared to the control and above those provided by the fungicide, in two years of evaluation (2006 and 2007). In the year of high productivity (2006) applications provided with phosphites average reduction of 30% in the severity of rust and 25% of brown eye spot. In the year of low productivity (2007) there was reduction in the severity of rust in 53% and brown eye spot of 32%. Phosphites provided on average, 44% increase in leaf numbers, in relation to the control, in the year of high productivity and greater intensity of coffee rust and brown eye spot. They also provided average increase in productivity of 26% in the second year of production, in relation to control.

¹ **Advisor:** Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA.

1 INTRODUÇÃO

As doenças foliares do cafeeiro, causadas por *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola*, são alguns dos principais problemas e fonte de perdas na produção. A resistência genética a essas doenças seria uma das alternativas mais viáveis para diminuir os prejuízos. Um grande número de programas objetivando o melhoramento do cafeeiro para resistência a doenças é direcionado ao controle de *H. vastatrix*, porém, fontes de resistência para controlar doenças causadas por alguns patógenos como *Cercospora* e *Phoma*, ainda não foram muito estudadas.

O controle químico, embora eficiente, acrescenta custos à produção e, adicionalmente, o seu uso indiscriminado pode trazer sérias conseqüências ao aplicador, ao ecossistema, bem como seleção de raças resistentes aos fungicidas aplicados.

Além da resistência genética e do uso de fungicidas, outras formas de controle dessas doenças também precisam ser estudadas e utilizadas no manejo integrado de doenças para o cafeeiro. Uma forma de manejo promissora que pode ser utilizada é a resistência induzida, pois ela aumenta a capacidade de defesa da planta contra fungos, bactérias e vírus, e pode ser acionada por um agente indutor, biótico ou abiótico. Entre esses mecanismos de defesa podem ser citados a ativação de genes de proteínas relacionadas à patogênese (PR proteínas), os genes de enzimas que regulam rotas do metabolismo secundário de substâncias do tipo fitoalexinas ou outros compostos de defesa estruturais como lignina (Pascholati & Leite, 1995). Essa ferramenta representa uma alternativa para a utilização de genótipos de plantas suscetíveis, mas com características agronômicas desejáveis (Kúc, 2001).

Os fosfitos são fertilizantes foliares que têm efeito direto sobre patógenos e também atuam na ativação do sistema de defesa natural das plantas (Smillie et al., 1989), podendo estimular a formação de substâncias de autodefesa, protegendo-a do ataque de patógenos (Fenn & Coffey, 1989). Fosfitos são mais estudados no controle de oomicetos, entretanto, estudos recentes demonstram a sua eficácia contra outros patógenos. Eles foram eficientes no controle da mancha-foliar-da-gala (*Colletotrichum gloeosporioides*) (Araújo et al., 2008) e da sarna-da-macieira (*Venturia inaequalis*) (Boneti & Katsurayama, 2005), além de podridões pós-colheita causadas por *Alternaria alternata* (Reuveni et al., 2003) e *Penicillium digitatum* (Blum et al., 2007). Fosetyl-Al, fungicida análogo ao fosfito, foi eficiente no controle da necrose apical da mangueira causada por *Pseudomonas syringae* pv *syringae* (Cazorla et al., 2006) e no controle da sarna (*Elsinoe fawcettii*), melanose (*Diaporthe citri*) e mancha-de-alternária (*Alternaria alternata*), em mudas de citros (Agostini et al., 2006). Em cafeeiro, aplicações de fosfitos controlaram a mancha de Phoma (Mansk & Matiello, 1983; Nojosa, 2003; Barguil, 2004) e diminuíram a severidade da ferrugem de mudas de cafeeiro (Nojosa, 2003).

Com a realização do presente trabalho, objetivou-se avaliar o efeito dos fosfitos de potássio, manganês e zinco no controle da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro cv. Topázio, em condição de campo, em dois anos de cultivo, 2006 e 2007.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área experimental

O estudo foi conduzido em lavoura de café em produção da cultivar Topázio, com 4 anos de idade, de cultivo convencional, sem irrigação, plantada em espaçamento de 2,0 x 0,8m, localizada em campo experimental da Universidade Federal de Lavras, em Lavras, MG. O período de experimento compreendeu os anos de 2006 e de 2007

2.2 Produtos utilizados e delineamento experimental

Foram utilizados produtos comerciais à base de fosfitos e um fungicida padrão, descritos na Tabela 1, e pulverizados conforme Tabela 2.

TABELA 1. Tratamentos à base de fosfitos avaliados no experimento em campo experimental, durante dois anos (2006 e 2007), em cafeeiro cultivar Topázio.

Tratamentos ¹	Nome comercial	Composição ²	Empresa
Fosf. Zn	Phytogard Zn	40% de P ₂ O ₅ e 10% de Zn	Stoller do Brasil Ltda.
Fosf. Mn	Phytogard Mn	40% de P ₂ O ₅ e 10% de Mn	Stoller do Brasil Ltda.
Fosf.K1	Hortifos PK	20% de P ₂ O ₅ e 20% de K ₂ O	Agrichem do Brasil Ltda.
Fosf.K2	Reforce	25,6% de P ₂ O ₅ e 17,8% de K ₂ O	Agrichem do Brasil Ltda.
Fung. Test	Opera -----	epoxiconazol + piraclostrobina -----	BASF S/A -----

¹Fosf. Zn: fosfito de zinco; Fosf. Mn: fosfito de manganês; Fosf. K1: fosfito de potássio 1; Fosf. K2: fosfito de potássio 2; Fung.: fungicida; Test.: testemunha.

²A composição dos fosfitos está expressa em porcentagem peso/peso.

TABELA 2. Épocas de pulverização dos tratamentos no experimento em cafeeiro cultivar Topázio, em condição de campo.

Tratamentos*	Pulverizações**	
	Épocas	Dose
Fosf. Zn	Dez. 2005; Fev. 2006; Abr. 2006; Jul.2006 Dez. 2006; Fev. 2007; Abr. 2007; Jul.2007	200mL/100L
Fosf. Mn	Dez. 2005; Fev. 2006; Abr. 2006; Jul.2006 Dez. 2006; Fev. 2007; Abr. 2007; Jul.2007	333mL/100L
Fosf.K1	Dez. 2005; Fev. 2006; Abr. 2006; Jul.2006 Dez. 2006; Fev. 2007; Abr. 2007; Jul.2007	500mL/100L
Fosf.K2	Dez. 2005; Fev. 2006; Abr. 2006; Jul.2006 Dez. 2006; Fev. 2007; Abr. 2007; Jul.2007	500mL/100L
Fung.	Dez. 2005; Fev. 2006 Dez. 2006; Fev. 2007	1,5 e 1,0 L/ha***
Test	-----	-----

*Fosf. Zn: fosfito de zinco; Fosf. Mn: fosfito de manganês; Fosf. K1: fosfito de potássio 1; Fosf. K2: fosfito de potássio 2; Fung.: fungicida; Test.: testemunha.

**Todos os tratamentos foram aplicados em mistura com óleo vegetal a 0,5%.

*** Em dezembro foi utilizado 1,5 e fevereiro 1,0 L/ha.

As pulverizações foram realizadas com a utilização de pulverizador costal manual, com volume de calda de 500 L/ha.

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados, com quatro repetições. A parcela experimental foi constituída de 6 plantas, com parcela experimental útil de 4 plantas centrais.

Durante o período de condução do experimento, a lavoura recebeu tratamentos culturais e adubação, pertinentes ao sistema de manejo convencional, com poucas variações. A quantidade de adubo aplicada foi recomendada com base na análise do solo após a colheita e em critérios de interpretação dos níveis de fertilidade propostos por Guimarães et al. (1999).

2.3 Avaliação da intensidade da ferrugem e cercosporiose

As doenças, ferrugem e cercosporiose, foram avaliadas, a cada 30 dias, em 16 folhas por planta, ao acaso, do 3º ao 4º pares, em 8 ramos plagiotrópicos por planta, sendo 4 de cada lado da linha de cultivo, escolhidos aleatoriamente, em amostragem não destrutiva, no terço médio.

A incidência foi determinada pela porcentagem do número de folhas com lesão na unidade experimental. Para a avaliação da severidade da ferrugem e da cercosporiose, foram utilizadas escalas diagramáticas propostas por Cunha et al. (2001) e Oliveira et al. (2001), respectivamente.

Os índices médios de incidência e severidade observados foram transformados em área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), determinada pela equação proposta por Shaner & Finney (1977).

2.4 Nutrição do cafeeiro

Avaliaram-se os teores nutricionais dos cafeeiros próximo a época de colheita, em julho do ano de 2007, de maior intensidade da ferrugem e de cercosporiose neste ano. A amostragem foi realizada no 3º par de folhas sem sintomas das doenças na altura média da copa, nos dois lados das plantas, constituindo uma amostra de 100 folhas por unidade experimental.

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Análise foliar do Departamento de Química da UFLA, para análises dos teores dos nutrientes (Malavolta et al., 1997).

2.5 Avaliação do enfolhamento e da produção do cafeeiro

O acompanhamento de enfolhamento dos cafeeiros ocorreu pouco antes da colheita e 90 dias depois, nos dois anos de avaliação (2006 e 2007), por meio de uma escala de notas de 1 a 5, representando 0% a 20%, 21% a 40%, 41% a

60%, 61% a 80% e 81% a 100% de enfolhamento, respectivamente (Boldini, 2001).

A produção do cafeeiro correspondente às safras 2006 e 2007 também foi determinada a partir do peso dos frutos colhidos na planta. Os dados de produção foram usados para estimar a produtividade em sacas por hectare (sacas/ha), considerando rendimento médio de 20% em peso para todo o experimento (Santos et al., 2008). A produtividade foi comparada entre os tratamentos e relacionada com o progresso das doenças.

2.6 Análise dos dados

Para a análise de variância, os percentuais foram transformados em áreas abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) e da severidade (AACPS). Os efeitos dos tratamentos foram comparados, ainda, por meio das curvas de progresso e das intensidades das doenças.

Os dados foram analisados pelo programa estatístico Sisvar e Statistical Analysis System (SAS) ver. 8.0 (SAS Institute Inc. Cary, NC).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Intensidade da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro

Para a ferrugem do cafeeiro, no primeiro ano de avaliação (2006), foi observado efeito significativo dos tratamentos na área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPSF). O fungicida (epoxiconazol + piraclostrobina) proporcionou maior redução da AACPSF, com 86%, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, seguido por fosfito de zinco, com 46%; fosfito de manganês, com 26% de redução; fosfito de potássio, com menor teor de fósforo na forma de ácido fosforoso (Fosf.K1), com redução de 25% e fosfito de potássio, com maior teor de fósforo na forma de ácido fosforoso (Fosf.K2), com 22% de redução (Figura 1).

Para a incidência da ferrugem foi observado, no ano de 2006, comportamento semelhante ao observado para a severidade. O fungicida proporcionou maior redução na área abaixo da curva do progresso da incidência da ferrugem do cafeeiro (AACPIF), com 80%, diferindo dos demais tratamentos, seguido pelos fosfitos de zinco, com 38%; fosfito de potássio (Fosf.K1), com 22%; fosfito de manganês, com 21% e fosfito de potássio (Fosf.K2), com 16% na redução da AACPIF (Figura 1).

Observa-se, na curva de progresso da severidade e da incidência da ferrugem, no ano de 2006, para todos os tratamentos, maior intensidade entre os meses de maio e agosto. O fungicida proporcionou menor severidade e incidência, principalmente nos meses de abril a agosto, seguido pelos fosfitos (Figura 2).

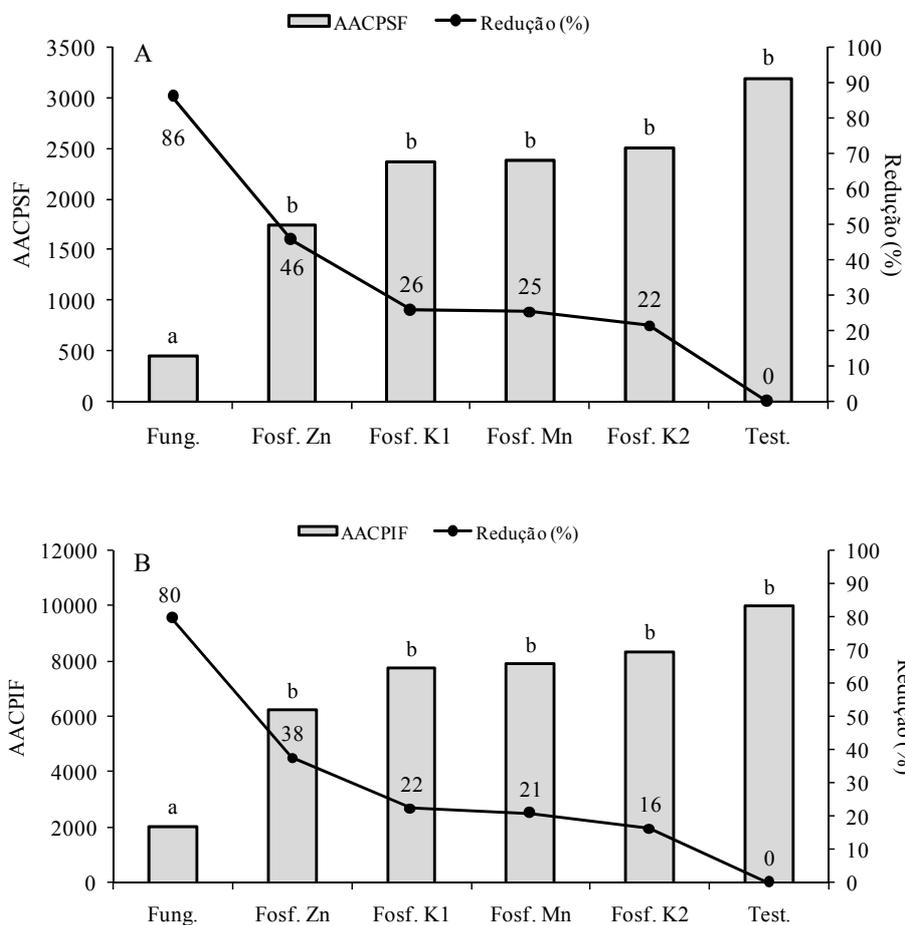


FIGURA 1 Efeito de fosfitos na redução e na área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPSF), em “A” e da incidência (AACPIF), em “B”, da ferrugem em cafeeiro cultivar Topázio, no ano de 2006. Tratamentos: Fung.-fungicida epoxiconazol + piraclostrobina; Fosf. Zn – fosfito de zinco; Fosf. Mn – fosfito de manganês; Fosf K1 – fosfito de potássio com 20% de P e Fosf. K2 – fosfito de potássio com 25,6% de P. Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Scott Knott ($P \leq 0,05$).

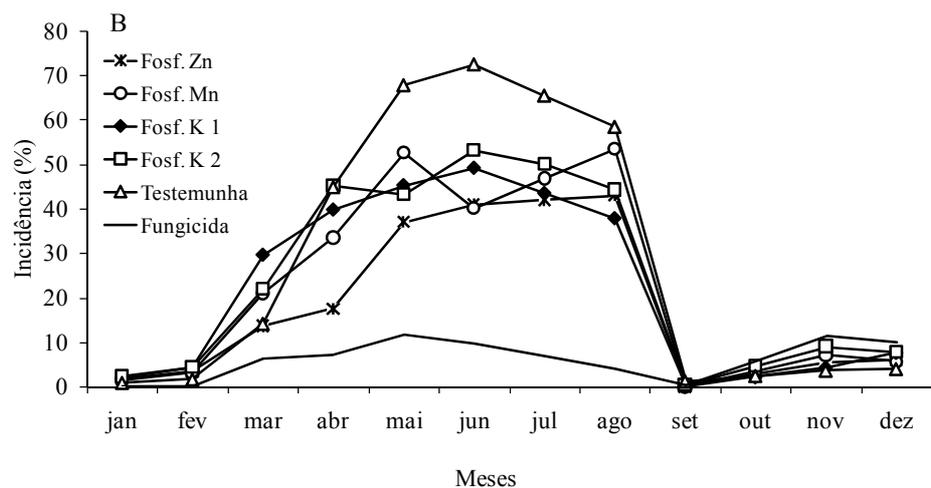
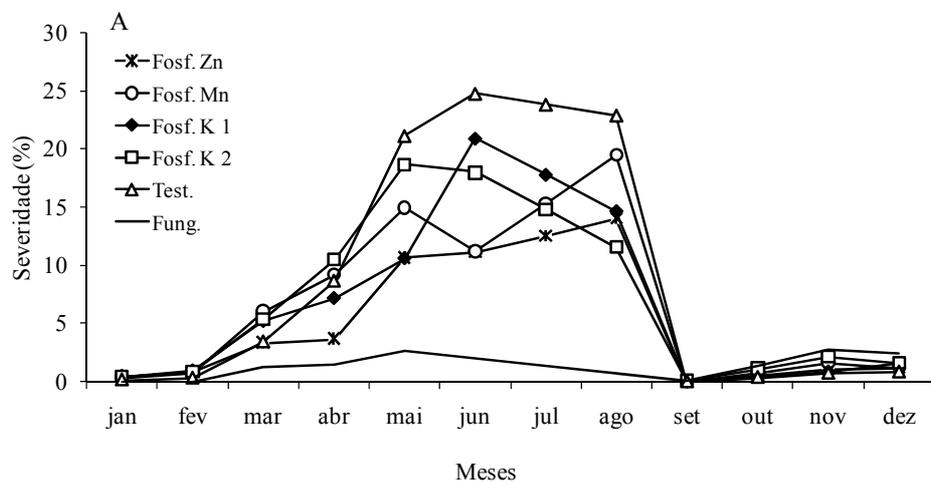


FIGURA 2 Efeito de fosfitos na curva de progresso da severidade (A) e da incidência (B) da ferrugem do cafeeiro cultivar Topázio, no ano de 2006. Tratamentos: Fung.- fungicida epoxiconazol + piraclostrobina; Fosf. Zn – fosfito de zinco; Fosf. Mn – fosfito de manganês; Fosf K1 – fosfito de potássio com 20% de P e Fosf. K2 - fosfito de potássio com 25,6% de P.

No segundo ano de avaliação (2007), para a severidade da ferrugem do cafeeiro, foi observado efeito significativo das fontes de fosfito na área abaixo da curva do progresso da severidade desta doença (AACPSF). O fungicida utilizado proporcionou maior redução na AACPSF, com 91%, diferindo dos demais tratamentos, seguido pelo fosfito de potássio (Fosf.K2), com 67% de controle, fosfito de manganês com 54%, fosfito de potássio (Fosf.K1) com 52%, e fosfito de zinco com 38%, que não diferiram entre si e foram superiores à testemunha (Figura 3).

Neste mesmo ano, para a incidência da ferrugem, foi observado que os tratamentos que proporcionaram maior redução na AACPIF foi o fungicida com 83%, pois apresentou menor área, seguido pelo fosfito de potássio (Fosf.K2), com 54% e fosfito de manganês, com 44%, não diferiram estatisticamente entre si e foram superiores ao fosfito de potássio (Fosf.K1), com redução de 29% e fosfito de zinco, com 19% de redução na AACPIF (Figura 3).

Observa-se, na curva de progresso da severidade e da incidência da ferrugem, no ano de 2007, para todos os tratamentos, maior intensidade da ferrugem entre os meses de maio e julho, com queda em julho e agosto (Figura 4).

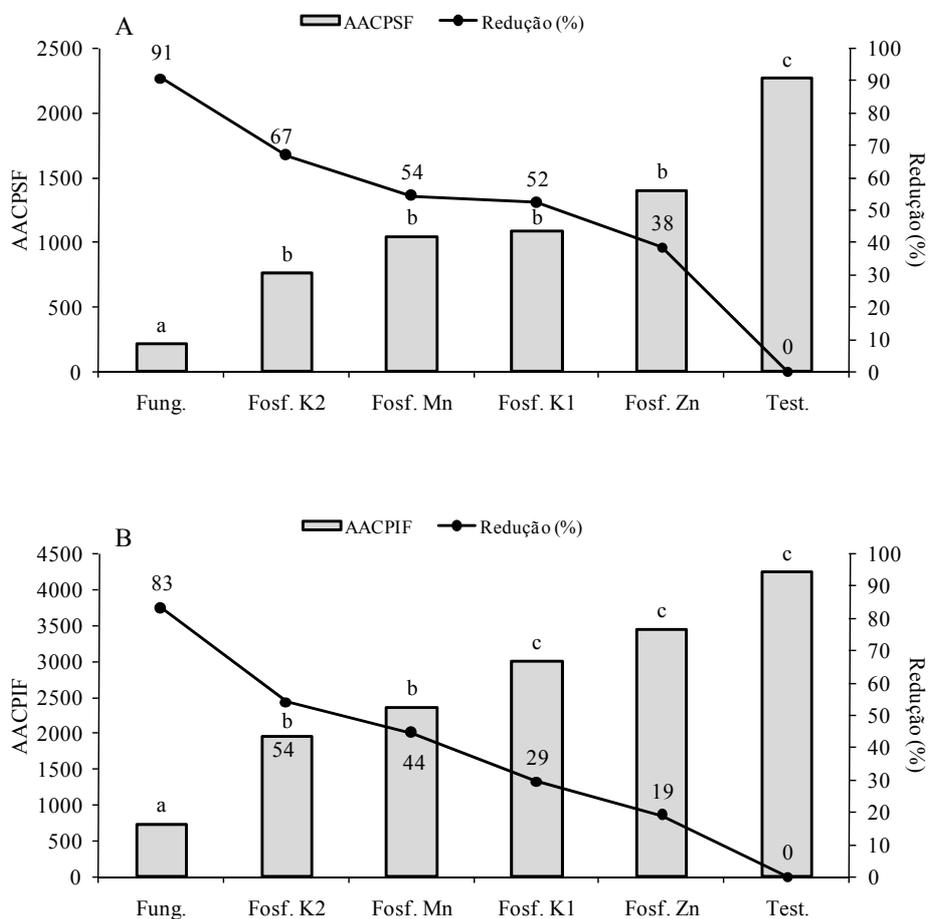


FIGURA 3 Efeito de fosfitos na redução e na área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPSF), em “A” e da incidência (AACPIF), em “B”, da ferrugem em cafeeiro cultivar Topázio, no ano de 2007. Tratamentos: Fung.-fungicida Epoxiconazol + Piraclostrobina; Fosf. Zn – fosfito de zinco; Fosf. Mn – fosfito de manganês; Fosf. K1 – fosfito de potássio com 20% de P e Fosf. K2 – fosfito de potássio com 25,6% de P. Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Scott Knott ($P \leq 0,05$).

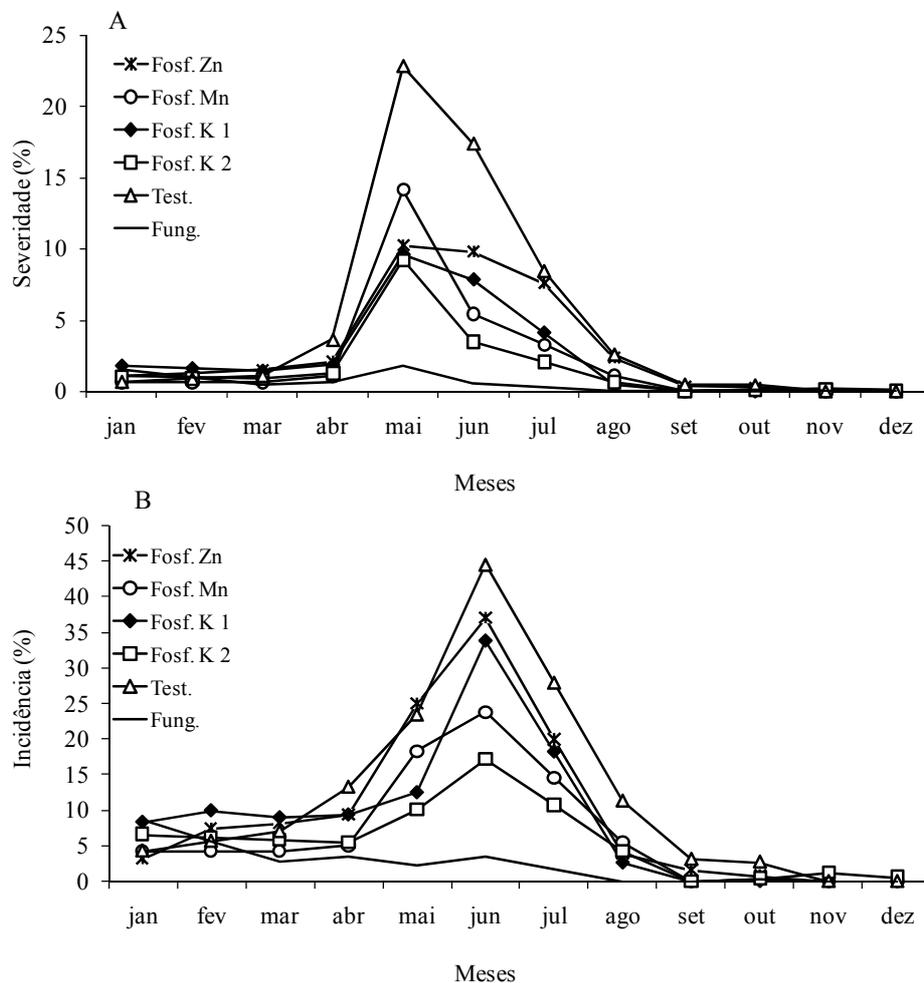


FIGURA 4 Efeito de fosfitos na curva de progresso da severidade (A) e da incidência (B) da ferrugem do cafeeiro cultivar Topázio, no ano de 2007. Tratamentos: Fung.- fungicida epoxiconazol + piraclostrobina; Fosf. Zn – fosfito de zinco; Fosf. Mn – fosfito de manganês; Fosf K1 – fosfito de potássio com 20% de P e Fosf. K2 - fosfito de potássio com 25,6% de P.

Com relação à severidade da cercosporiose, no ano de 2006, o tratamento que proporcionou menor área abaixo da curva do progresso da severidade da cercosporiose (AACPSC) foi o fungicida (Epoconazol + Piraclostrobina), com 56% da redução da AACPSC, seguido pelo fosfito de manganês com 31% de redução, pelo fosfito de zinco com 29%, pelos fosfitos de potássio, Fosf. K2 com 26% e Fosf. K1 com 16%, não diferindo entre si nem da testemunha (Figura 5).

O tratamento que proporcionou maior redução na área abaixo da curva do progresso da incidência da cercosporiose (AACPIC), neste mesmo ano, foi o fungicida, não diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, com 44% de redução da área. O tratamento com fosfito de manganês reduziu 19% na AACPIC; o fosfito de zinco reduziu 17%, o fosfito de potássio (Fosf.K2), 16% de redução e o fosfito de potássio (Fosf.K1), com 8% de redução (Figura 5).

Observa-se, na curva de progresso da severidade e da incidência da ferrugem, no ano de 2006, para todos os tratamentos, maior intensidade da cercosporiose a partir do mês de março, com pico entre junho e julho e com queda em setembro (Figura 6).

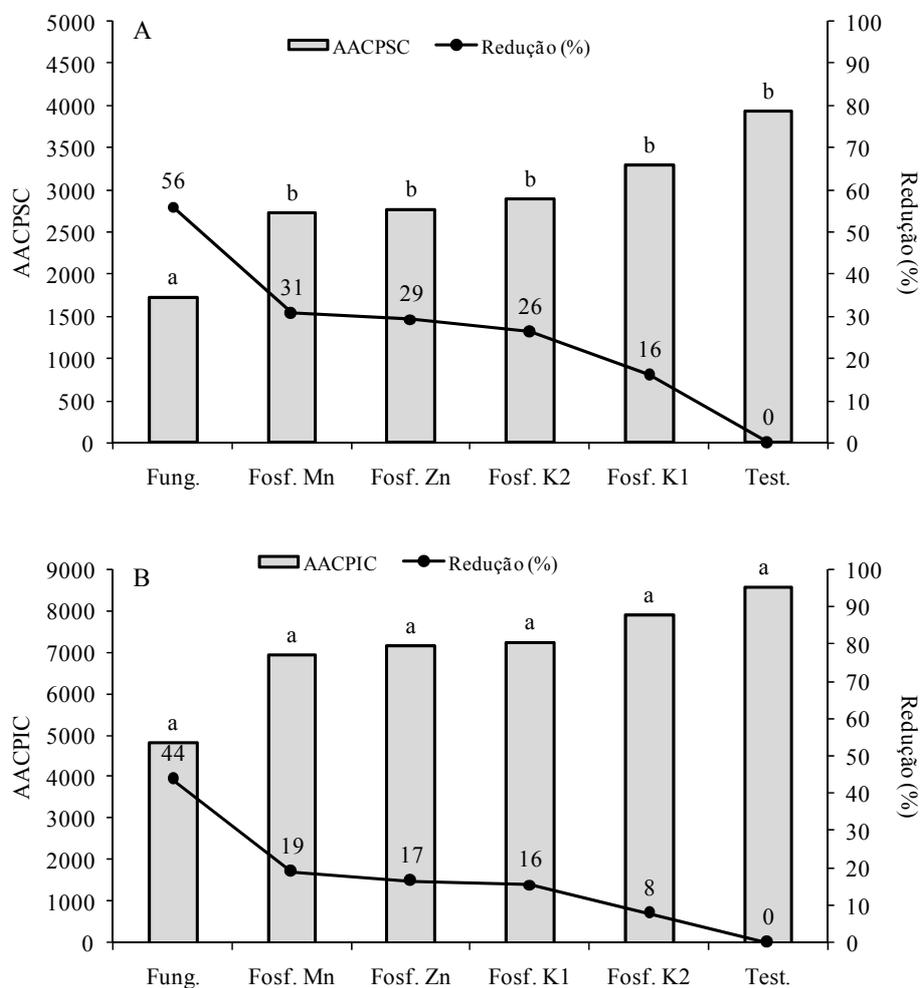


FIGURA 5 Efeito de fosfitos na redução e na área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPSC), em “A”, e da incidência (AACPIC), em “B”, da cercosporiose em cafeeiro cultivar Topázio, no ano de 2006. Tratamentos: Fung.- fungicida epoxiconazol + piraclostrobina; Fosf. Zn – fosfito de zinco; Fosf. Mn – fosfito de manganês; Fosf K1 – fosfito de potássio com 20% de P e Fosf. K2 - fosfito de potássio com 25,6% de P. Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Scott Knott ($P \leq 0,05$).

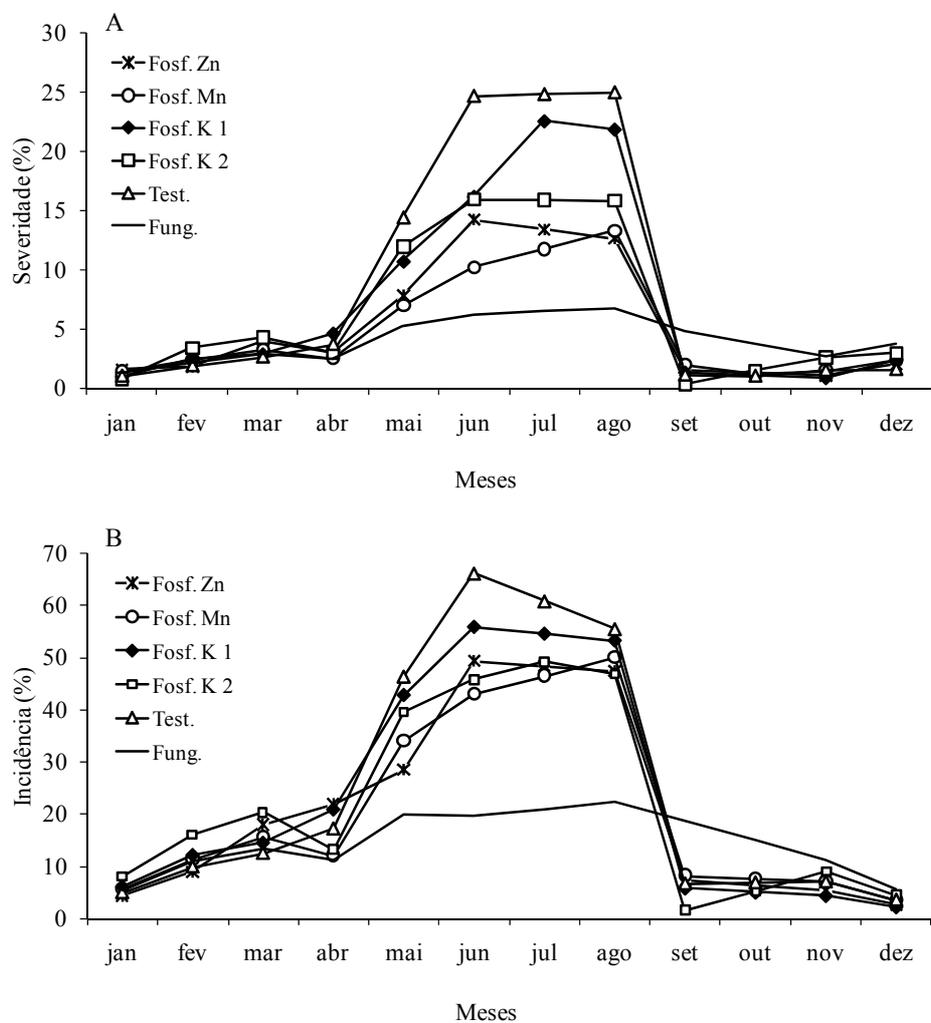


FIGURA 6 Efeito de fosfitos na curva de progresso da severidade (A) e da incidência (B) da cercosporiose do cafeeiro cultivar Topázio, no ano de 2006. Tratamentos: Fung.- fungicida epoxiconazol + piraclostrobina; Fosf. Zn – fosfito de zinco; Fosf. Mn – fosfito de manganês; Fosf K1 – fosfito de potássio com 20% de P e Fosf. K2 - fosfito de potássio com 25,6% de P.

No ano de 2007, todos os tratamentos, fungicida e fosfitos, apresentaram áreas abaixo da curva do progresso da severidade da cercosporiose (AACPSC) estatisticamente semelhantes e inferiores às da testemunha. Entretanto, o fungicida apresentou efeito maior na redução AACPSC, com 56%; seguido pelo tratamento com fosfito de manganês, com 35%, fosfito de potássio (Fosf. K2) e fosfito de zinco, com 32%, e fosfito de potássio (Fosf. K1), com 31% de redução (Figura 7).

Para a área abaixo da curva do progresso da incidência da cercosporiose (AACPIC) não houve diferença estatística do efeito dos tratamentos. O tratamento que proporcionou maior redução na AACPIC, neste mesmo ano, foi o fungicida, com 60%. O tratamento com fosfito de zinco promoveu redução de 35%, o fosfito de manganês reduziu 33%, o fosfito de potássio (Fosf.K2), com 31% de redução e fosfito de potássio (Fosf.K1), com 27% de redução (Figura 7).

Observa-se, na curva de progresso da severidade e da incidência da cercosporiose, no ano de 2007, para todos os tratamentos, maior intensidade da cercosporiose a partir do mês de maio a outubro (Figura 8), inferior ao ano de 2006.

No ano de alta carga pendente, os fosfitos tiveram menor desempenho no controle da ferrugem e cercosporiose em comparação ao seu desempenho em ano de baixa carga pendente. Isto ocorre, pois, em ano de alta carga pendente, os cafeeiros ficam mais suscetíveis às doenças, como a ferrugem e a cercosporiose (Zambolim et al., 1985; Silva-Acuña et al., 1999; Carvalho et al., 2001), devido ao maior dreno de carboidratos e de fotoassimilados para a formação dos frutos (Chaves & Sarruge, 1984), aumentando a pressão de inóculo desses patógenos. Assim, em ano de biennialidade positiva, de alta carga pendente (2006), ocorre maior intensidade das doenças (severidade e incidência) quando comparado com um ano de biennialidade negativa, baixa carga pendente (2007), como o que ocorreu neste trabalho (Figura 9).

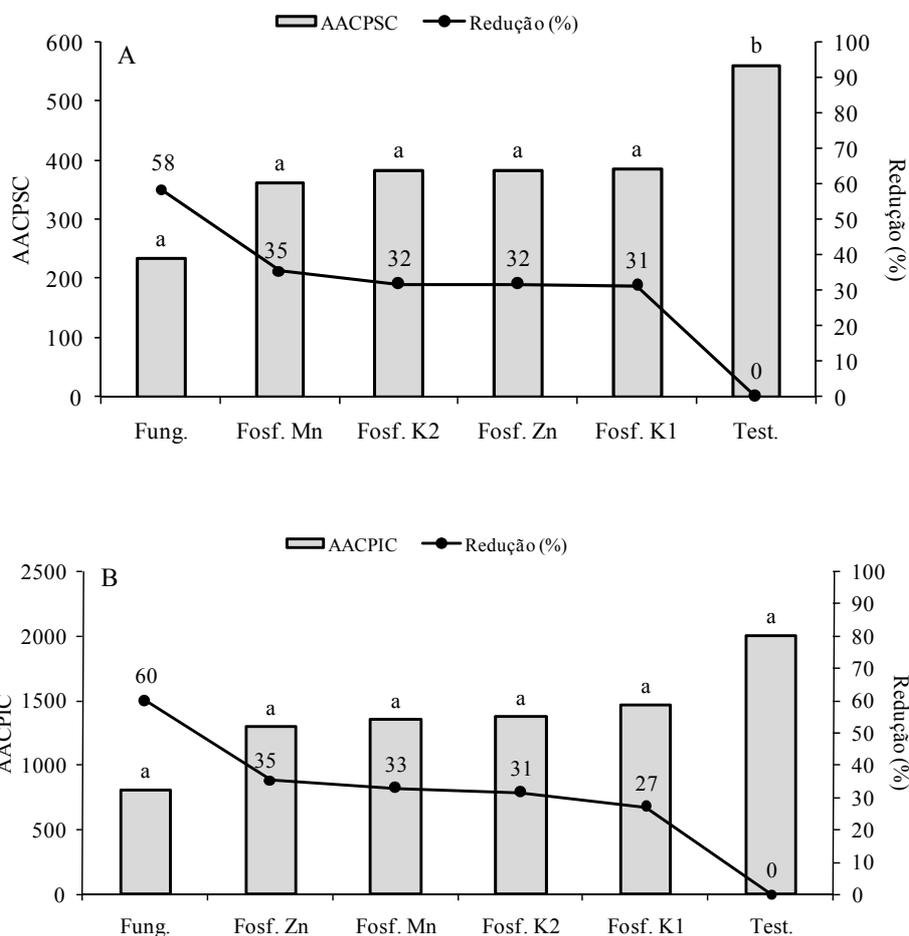


FIGURA 7 Efeito de fosfitos na redução e na área abaixo da curva do progresso da severidade (AACPSC), em “A” e da incidência (AACPIC), em “B”, da cercosporiose em cafeeiro cultivar Topázio, no ano de 2007. Tratamentos: Fung.- fungicida epoxiconazol + piraclostrobina; Fosf. Zn – fosfito de zinco; Fosf. Mn – fosfito de manganês; Fosf K1 – fosfito de potássio com 20% de P e Fosf. K2 - fosfito de potássio com 25,6% de P. Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Scott Knott ($P \leq 0,05$).

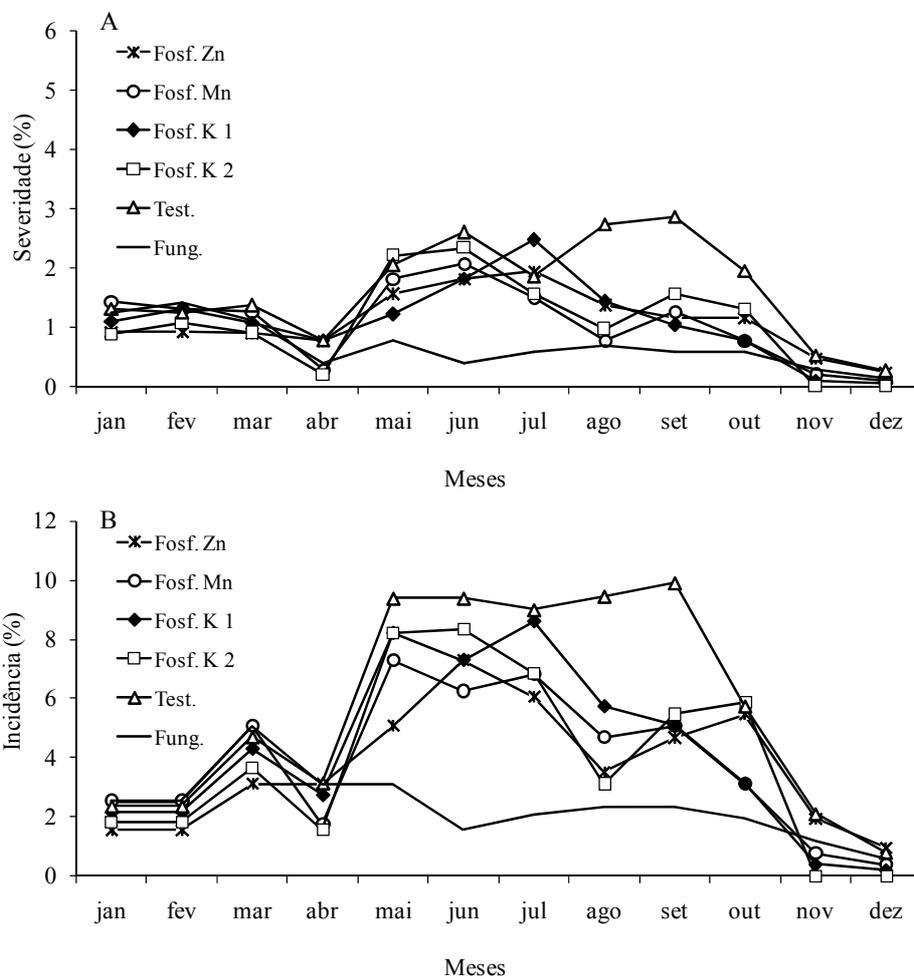


FIGURA 8 Efeito de fosfitos na curva de progresso da severidade (A) e da incidência (B) da cercosporiose do cafeeiro cultivar Topázio, no ano de 2007. Tratamentos: Fung.- fungicida epoxiconazol + piraclostrobina; Fosf. Zn – fosfito de zinco; Fosf. Mn – fosfito de manganês; Fosf K1 – fosfito de potássio com 20% de P e Fosf. K2 - fosfito de potássio com 25,6% de P.

Existem muitos estudos com fosfitos, relacionados ao controle de doenças de plantas causadas por oomicetos em diversas culturas. Aplicação de fosfito foi utilizada na proteção de plantas de abacate (El-Hamalawi et al., 1995), cacau (Guest et al., 1994), citros (Schutte et al., 1991), castanha (Lim, 1993) e eucalipto (Shearer et al., 2006), contra doenças causadas por espécies do gênero *Phytophthora*.

Em cafeeiro, em condição de campo, a pulverização com fosfito de cobre, 1000mL/100L, reduziu a AACPSF em 81%, quando comparado à testemunha e apresentou controle semelhante ao do fungicida epoxiconazol + piraclostrobina; na dose de 500mL/100L, obteve controle inferior ao fungicida mas superior à testemunha (Toyota, 2008). Em casa de vegetação, este mesmo autor observou que o fosfito de cobre proporcionou aumento na atividade de peroxidases, quitinases e β -1,3-glucanases, além de aumento no teor de fenóis solúveis totais. Em outro trabalho, Nojosa (2003) observou que a aplicação de fosfito de potássio (500 mL/100L) proporcionou redução de 39% na área foliar doente de mudas de cafeeiro inoculadas com *H. vastatrix*.

Trabalhos envolvendo o uso de fosfitos no patossistema cafeeiro-cercosporiose em condição de campo, até o momento, não haviam sido realizados. Entretanto, com a mancha de Phoma, outra importante doença do cafeeiro, o fosetyl al, produto análogo ao fosfito, diminuiu o percentual de folhas e de ramos atacados, diferindo significativamente da testemunha (Mansk & Matiello, 1983). Barguil (2004) observou diminuição da área abaixo da curva de progresso da mancha de Phoma, utilizando doses de fosfito de potássio (12,5 a 100 mL/100L), não diferindo do fungicida tebuconazole, mas diferindo da testemunha.

Provavelmente, no presente estudo, o modo de ação dos fosfitos utilizados foi direto e indireto. De forma direta por toxidez, pois os produtos fosfito de zinco, fosfito de manganês, fosfitos de potássio (Fosf.K1 e Fosf.K2)

apresentaram toxidez direta nas doses utilizadas no presente experimento, inibindo a germinação de urediniósporos de *H. vastatrix* em 90,2%, 86,3%, 89,9% e 86,1%, respectivamente (dados não mostrados). Toxidez também foi observada por Nojosa (2003), pois o fosfito de potássio e o fosetyl al inibiram a germinação, a formação do tubo germinativo e o crescimento micelial de *Phoma* sp.

O mesmo comportamento de toxidez parece ocorrer também com a *C. coffeicola*. Além disso, o modo de ação indireta proporcionada pelos fosfitos ocorre por meio da indução de resistência, pela ativação de proteínas relacionadas à patogênese e pelo aumento nos teores de compostos fenólicos, abordados no Capítulo 4 deste trabalho e observados também por Toyota (2008) em cafeeiro pulverizado com o fosfito de cobre.

No ano de alta produtividade (2006), os fosfitos proporcionaram redução média de 30% na severidade e de 24% na incidência da ferrugem, e de 26% na severidade e de 15% na incidência da cercosporiose. O fungicida proporcionou redução média de 86% na severidade e de 80% na incidência da ferrugem, de 56% na severidade e de 44% na incidência da cercosporiose. No ano de baixa produtividade (2007), os fosfitos proporcionaram redução de 53% na severidade e de 37% na incidência da ferrugem, de 33% na severidade e de 31% na incidência da cercosporiose. O fungicida reduziu 91% da severidade e 83% da incidência da ferrugem, 58% da severidade e 60% da incidência da cercosporiose.

3.2 Enfolhamento do cafeeiro

Não houve efeito significativo dos tratamentos no enfolhamento do cafeeiro, próximo a época de colheita no ano de 2006, todavia, o tratamento com o fungicida promoveu maior porcentagem de enfolhamento, seguido pelos fosfitos de manganês, zinco e potássio. Também em 2006, 90 dias após a

colheita, o fungicida proporcionou maior enfolhamento, de forma significativa. Os fosfitos apresentavam maior enfolhamento que a testemunha, entretanto, de forma não significativa estatisticamente (Tabela 3). Em 2007, ano de baixa produtividade devido à biennialidade negativa, não houve efeito dos tratamentos no enfolhamento do cafeeiro. Em média, no ano de alta carga pendente, pouco antes da colheita, os fosfitos proporcionaram aumento no enfolhamento de 12% comparado com a testemunha, enquanto que o fungicida proporcionou aumento de 33%. Em avaliação aos 90 dias após a colheita, o aumento no enfolhamento proporcionado pelos fosfitos foi em média de 44% e o fungicida proporcionou aumento no enfolhamento de 144% em relação à testemunha.

O efeito da intensidade da ferrugem e da cercosporiose sobre a desfolha é evidenciado na produção do ciclo seguinte, e foi o que ocorreu no presente trabalho. Houve correlação negativa entre a produção do ano 2007 e a área abaixo da curva do progresso da severidade e incidência da ferrugem e cercosporiose (AACPSF, AACPIF, AACPSC e AACPIC) do cafeeiro do ano anterior (2006) (Tabela 4). Também se observou interação negativa entre a intensidade da ferrugem e da cercosporiose (AACPSF, AACPIF, AACPSC e AACPIC) no ano de 2006 e o enfolhamento neste mesmo ano (Tabela 4). A produção é reduzida sob alta intensidade das doenças, a exemplo da ferrugem do cafeeiro (Kushalappa & Eskes, 1989), afetando desde a formação dos botões florais, consequência da intensa queda de folhas do ciclo anterior da doença. A cercosporiose, além de promover a desfolha, leva à queda prematura de frutos e à perda no rendimento, prejudicando a safra (Echandi, 1959).

TABELA 3 Efeito dos tratamentos no enfolhamento do cafeeiro cultivar Topázio, em duas épocas (pouco antes da colheita e 90 dias após a colheita), para cada ano (2006 e 2007). Tratamentos: Fung.- fungicida epoxiconazol + piraclostrobina; Fosf. Zn – fosfito de zinco; Fosf. Mn – fosfito de manganês; Fosf K1 – fosfito de potássio com 20% de P e Fosf. K2 - fosfito de potássio com 25,6% de P.

Tratamentos*	Enfolhamento (%)			
	2006		2007	
	Colheita	Após colheita	Colheita	Após colheita
Fosf. K1	75,0 a	48,1 b	90,0 a	65,0 a
Fosf. K2	75,0 a	31,3 b	92,0 a	61,3 a
Fosf. Mn	86,3 a	46,9 b	96,0 a	60,0 a
Fosf. Zn	81,9 a	50,0 b	86,3 a	60,0 a
Fung.	94,4 a	75,6 a	93,0 a	70,0 a
Test.	70,8 a	31,0 b	93,0 a	52,5 a

*Fosf. Zn: fosfito de zinco; Fosf. Mn: fosfito de manganês; Fosf. K1: fosfito de potássio 1; Fosf. K2: fosfito de potássio 2; Fung.: fungicida; Test.: testemunha.

TABELA 4 Correlação de Pearson entre a intensidade da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro, em função da aplicação de fosfitos e de fungicida com a produção e o enfolhamento.

Variável ²	Produção (2007)	Enfolhamento 2006 ¹	
		Colheita	Após colheita
AACPSF 2006	-0,67**	-0,69**	-0,78**
AACPIF 2006	-0,66**	-0,66**	-0,74**
AACPSC 2006	-0,62**	-0,58**	-0,59**
AACPIC 2006	-0,71**	-0,71**	-0,66**

** Significativo, a 1% de probabilidade

¹ O enfolhamento foi avaliado próximo à época de colheita e 90 dias após a colheita.

² AACPSF: área abaixo da curva do progresso da severidade da ferrugem; AACPIF: área abaixo da curva do progresso da incidência da ferrugem; AACPSC: área abaixo da curva do progresso da severidade da cercosporiose; AACPIC: área abaixo da curva do progresso da incidência da cercosporiose.

3.3 Produção do cafeeiro

No primeiro ano de avaliação (2006), época de biennialidade positiva ou de alta carga pendente, não foi observado efeito significativo dos tratamentos na produção do cafeeiro. No entanto, o tratamento com o fungicida proporcionou aumento de 12% da produção e com o fosfito de potássio, aumento de 2%, enquanto os demais tratamentos foram iguais à testemunha. No segundo ano (2007), época de safra baixa, o tratamento com o fungicida proporcionou produtividade de 24,6 sacas/ha, 105% maior que a testemunha, superior à média regional para o ano de 2007, de 23,7 sacas/ha (Conab, 2008). O tratamento com o fosfito de zinco proporcionou produção de 17,9 sacas/ha (49% superior à da testemunha); com o fosfito de potássio (Fosf.K1), 17,3 sacas/ha (44% superior à da testemunha) e com o fosfito de potássio (Fosf.K2), 12 sacas/ha (produção igual à da testemunha) (Figura 9). Os fosfitos proporcionaram produção média de 15,1 sacas/ha.

Do primeiro para o segundo ano de avaliação, a produção para todos os tratamentos caiu, em média, 80% de um ano para o outro. A produtividade média foi em torno de 80 sacas de 60kg/ha, em 2006, enquanto no ano de 2007 foi de 16 sacas/ha. Os fatores que contribuíram para essa redução da produção do ano de 2006 para o ano de 2007 foram, além da intensidade das doenças, a biennialidade negativa no ciclo da cultura, a estiagem ocorrida entre março e setembro de 2007, afetando a floração das lavouras e o excesso de chuvas nos meses de dezembro 2006 e de janeiro de 2007 (Figura 10). Segundo Conab (2007), foram observadas floradas extemporâneas a partir de janeiro e fevereiro do ano de 2007, mas de ocorrência pouco significativa. Embora o assunto envolva controvérsias, alguns técnicos atribuem o fenômeno a distúrbios fisiológicos das plantas, decorrentes das alterações climáticas ocorridas, principalmente com relação às altas temperaturas observadas (Conab, 2008).

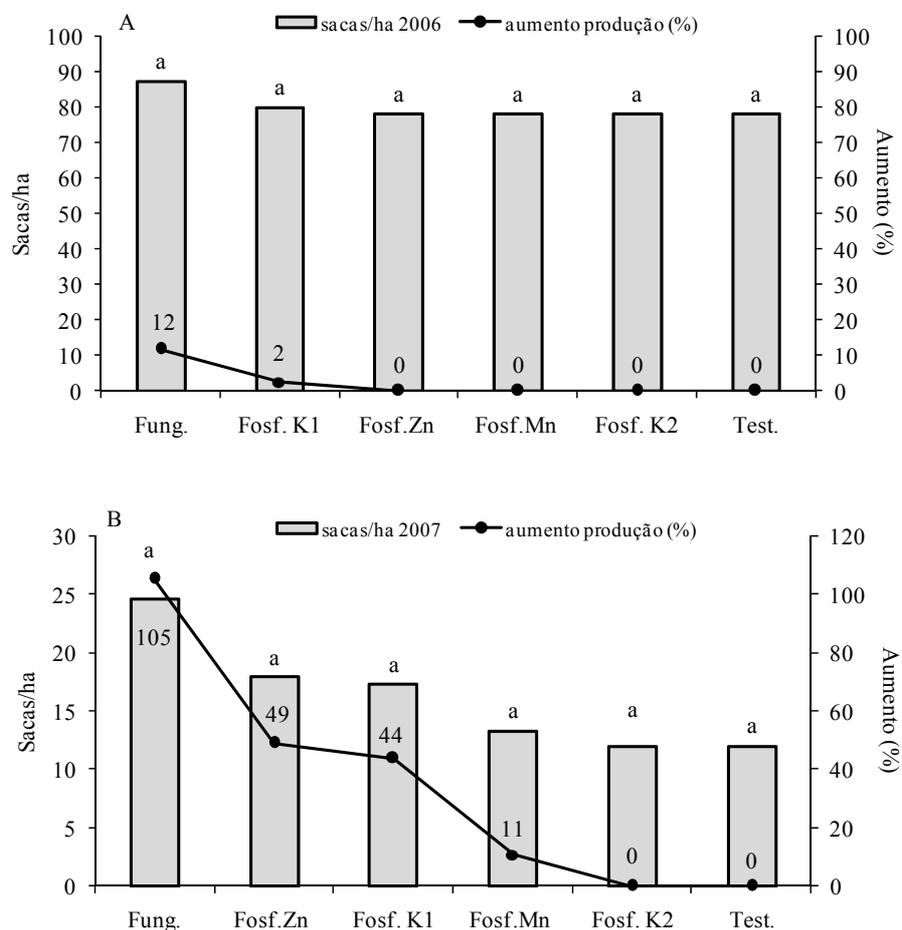


FIGURA 9 Efeito dos tratamentos no aumento (%) e na produção (sacas de 60kg/ha) nos anos de 2006, em “A” e de 2007, em “B”, da cercosporiose em cafeeiro cultivar Topázio. Tratamentos: Fung.- fungicida epoxiconazol + piraclostrobina; Fosf. Zn – fosfito de zinco; Fosf. Mn – fosfito de manganês; Fosf K1 – fosfito de potássio com 20% de P e Fosf. K2 - fosfito de potássio com 25,6% de P. Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Scott Knott ($P \leq 0,05$).

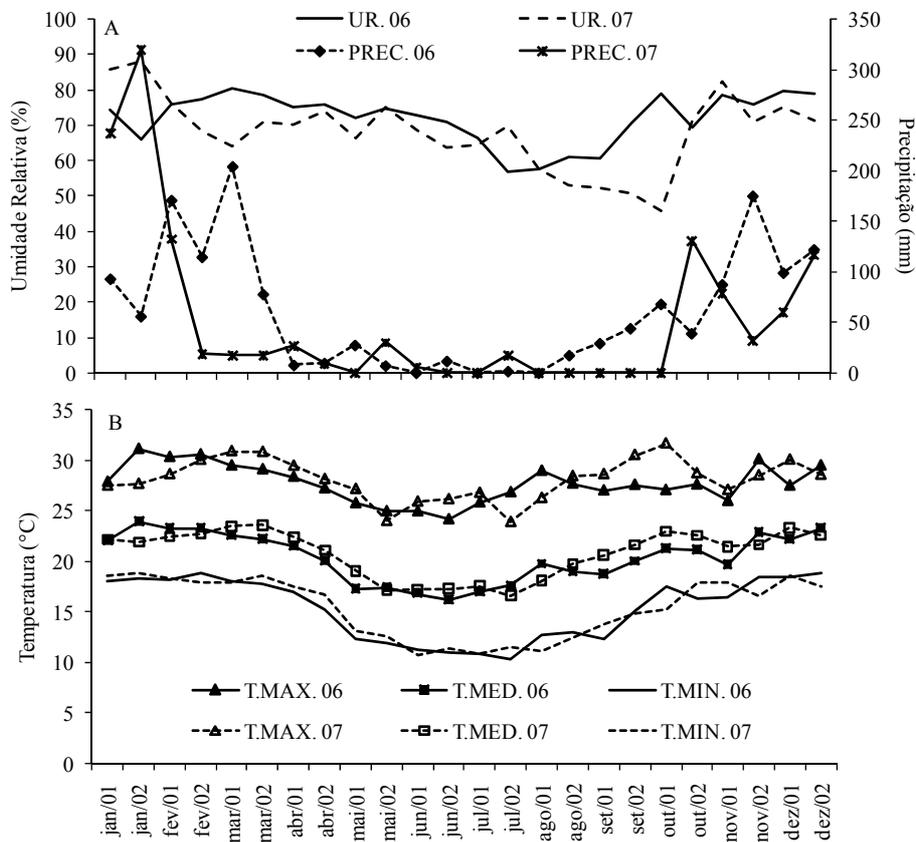


FIGURA 10. Temperaturas máxima (T MAX.), média (T MED.) e mínima (T MIN.), precipitação pluviométrica (PREC.) e umidade relativa do ar (UR) no período de janeiro a dezembro dos anos de 2006 e 2007, da primeira e da segunda quinzena de cada mês (01 e 02). Fonte: Estação climatológica da UFLA.

3.2 Estado nutricional dos cafeeiros na época de maior intensidade das doenças em 2007

Os teores foliares de macro e micronutrientes não apresentaram diferenças significativas em função dos tratamentos. Entretanto, os teores de nitrogênio foliar de todos os tratamentos estavam pouco acima do intervalo (26-29g/kg) para o mês de julho (Malavolta et al., 1993), com exceção do fosfito de zinco (28g/kg), que estava dentro do intervalo. Apesar de os fosfitos apresentarem fósforo em sua composição e de serem facilmente absorvidos, eles não são utilizados pelas plantas como fonte de fósforo (Foster et al., 1998). As plantas utilizam os fosfatos como fontes de exclusivas de fósforo (Marschner, 1995). Os teores de fósforo também estavam dentro do intervalo proposto por Malavolta et al. (1993). Em todos os tratamentos, os teores de enxofre estavam acima do intervalo (Tabela 5).

Com relação ao potássio, os teores se mantiveram dentro dos níveis ideais apenas para os tratamentos com fosfito de zinco e de manganês; os demais estavam abaixo desses níveis (Tabela 5). O potássio é altamente importante na produção de frutos de café (Malavolta et al., 1997). De acordo com Taiz & Zeiger (2004), o potássio interage com quase todos os outros nutrientes essenciais à planta. É importante na ativação enzimática, no uso eficiente da água, na fotossíntese, no transporte de açúcares, no movimento de nutrientes, na síntese de proteínas, na formação de amido e na qualidade dos frutos.

Maior intensidade da cercosporiose e ferrugem coincidiu com o período de frutificação do cafeeiro, propenso ao desequilíbrio nutricional, tornando as plantas mais suscetíveis às doenças (Fernández-Borrero et al., 1966). Neste trabalho, os teores de cálcio, em todos os tratamentos, estavam abaixo do intervalo ideal de 11-16 g/kg (Tabela 5).

Santos (2006) observou, na fase de maturação, que cafeeiros em sistema convencional tinham menores teores de cálcio, culminando em elevada

incidência de doenças em julho. Teores foliares de cálcio do cafeeiro sofrem reduções ao final da granação (Chaves & Sarruge, 1984). Baixo suprimento de cálcio tende a aumentar a suscetibilidade dos tecidos foliares às doenças, como demonstrado para a cercosporiose do cafeeiro (Garcia Júnior et al., 2003; Pozza et al., 2001). Em menor concentração nas células, o cálcio não cumpre seu papel na resistência das plantas às doenças, sendo essencial na lamela média na forma de pectato de cálcio, fortalecendo a parede celular, na qual funciona como barreira física à penetração do patógeno (Marschner, 1995).

Os teores foliares de magnésio estavam dentro dos níveis ideais, exceto pelos tratamentos com fosfito de potássio (Fosf.K1) e o fungicida, cujos teores foram pouco superiores aos níveis adequados (Tabela 5).

Com relação ao boro, seus teores estavam abaixo dos níveis ideais propostos por Malavolta et al. (1993), exceto pelos tratamentos com fosfito de potássio (Fosf.K1) e com o fungicida. O boro tem papel na manutenção da integridade da parede celular pela ligação das frações pécticas; seu papel na manutenção do cálcio dentro da parede é igualmente importante para a integridade da parede celular e, portanto, na redução da colonização de patógenos. Pectatos de cálcio não são formados na ausência de boro e os materiais pécticos que formam parte da parede celular e da lamela média ficam susceptíveis à hidrólise por enzimas pécticas de fungos. Se estes compostos pécticos estão ligados aos íons de cálcio, componentes da parede celular ficam mais resistentes à maceração por enzimas fúngicas (Stangoulis & Graham, 2007).

Na maioria dos tratamentos, os teores de cobre estavam acima dos níveis ideais, exceto pelo fosfito de potássio (Fosf.K2), que estava nos níveis e a testemunha, que estava com o teor abaixo do nível ideal. Esse excesso de cobre se deu, pois, em novembro de 2006, como em novembro de 2005, foi realizada aplicação da calda Viçosa, que tem, em sua formulação, 0,5 kg/ha de sulfato de

cobre. Todos os tratamentos estavam com seus níveis de ferro abaixo dos ideais e os níveis de manganês e de zinco estavam dentro dos níveis ideais propostos por Malavolta et al. (1993). Os tratamentos com fosfito de manganês e de zinco não proporcionaram aumentos significativos nos teores desses nutrientes.

Em resumo, os nutrientes têm importante papel na defesa das plantas. Graham (1983) menciona que cobre, boro e manganês influenciam na síntese de lignina e fenóis simples; cita também que zinco, ferro e níquel têm efeitos possivelmente relacionados à síntese de fitoalexinas. Baixos níveis de alguns nutrientes, como cálcio, boro, potássio e ferro, no presente trabalho, na fase de maturação, coincidiram com a época de maior intensidade das doenças. Esse fato ocorre devido à exportação dos mesmos pelos frutos. A maior intensidade da ferrugem e da cercosporiose na fase de granação e de maturação dos frutos pode estar relacionada às deficiências nutricionais proporcionadas por esse dreno de nutrientes, tornando a planta mais propensa ao ataque de organismos patogênicos pela redução de suas defesas naturais (Marschner, 1995).

TABELA 5 Efeito de tratamentos nos teores médios de macro e micronutrientes e nas relações entre eles, de folhas de cafeeiro cultivar Topázio, em julho de 2007 (fase de maturação). Tratamentos: Fung.- fungicida Epoxiconazol + Piraclostrobina; Fosf. Zn – fosfito de zinco; Fosf. Mn – fosfito de manganês; Fosf K1 – fosfito de potássio com 20% de P e Fosf. K2 - fosfito de potássio com 25,6% de P. Médias seguidas de mesma letra não diferem ente si, na coluna, pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

Tratamentos	Macronutrientes						Micronutrientes				
	g/kg						mg/kg				
	N	P	K	S	Ca	Mg	B	Cu	Fe	Mn	Zn
Fosf. Zn	28,00a	1,42a	15,31a	3,20a	6,40a	3,16a	35,28a	18,26a	128,66a	110,06a	9,85a
Fosf. Mn	33,00a	1,53a	17,17a	3,42a	6,79a	3,25a	35,54a	22,62a	121,11a	123,56a	8,77a
Fosf. K2	37,25a	1,45a	13,28a	3,30a	8,31a	2,48a	35,32a	13,59a	121,22a	111,01a	8,52a
Fosf. K1	36,50a	1,60a	14,27a	3,24a	8,60a	2,61a	40,53a	20,01a	116,37a	130,70a	8,93a
Fung.	32,00a	1,38a	13,97a	3,51a	8,65a	3,47a	42,95a	23,37a	113,70a	117,90a	8,11a
Test.	33,50a	1,44a	12,67a	3,66a	7,92a	3,48a	30,78a	11,03a	95,30a	110,40a	9,50a
Níveis ideais*	26-29	1,2-1,6	15-19	1,5-1,8	11-16	2,8-3,3	40-70	10-15	250-300	110-250	8-12

* Níveis ideais de nutrientes para o mês de julho (Malavolta et al., 1993).

4 CONCLUSÃO

Os fosfitos proporcionaram controle intermediário da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro em condição de campo.

Fosfitos proporcionaram, no ano de alta produtividade, menor eficiência no controle da ferrugem e da cercosporiose do que no ano de menor produtividade.

Fosfitos aumentaram, em média, 44% de enfolhamento em relação à testemunha, no ano de alta produtividade.

Fosfitos aumentaram a produtividade média em 26%, no segundo ano de produção, em relação à testemunha.

A alta intensidade das doenças, na fase de granação e de maturação dos frutos, pode estar relacionada aos baixos teores foliares de cálcio e de boro existentes nesta época.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINI, J. P.; BUSHONG, P. M.; TIMMER, L. W. Greenhouse evaluation of products that induce host resistance for control of scab, melanose, and alternaria brown spot of citrus. **Plant disease**, St. Paul, v. 87, n. 1, p. 69-74, Jan. 2003.

ARAUJO, L.; STADINICK, M. J.; BORSATO, L. C.; VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Fosfitos de potássio e ulvana no controle da mancha foliar da gala em macieira. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 2, p. 148-152, 2008.

BARGUIL, M. B. **Indução de resistência e reação de cultivares de *Coffea arabica* L. a *Phoma costarricensis* ECHANDI**. 2004. 64 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

BLUM, L. E. B., AMARANTE, C. V. T.; DEZANET, A.; LIMA, E. B.; NETO, P. H.; ÁVILA, R. D.; SIEGA, V. Fosfitos aplicados em pós-colheita reduzem o mofo-azul em maçãs 'Fuji' e 'Gala'. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 29, n. 2, p. 265-268, ago. 2007.

BOLDINI, J. M. **Epidemiologia da ferrugem e da cercosporiose em cafeeiro irrigado e fertirrigado**. 2001. 67p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

BONETI, J. I. S.; KATSURAYAMA, Y. Viabilidade do uso de fosfitos no controle da sarna da macieira. **Agropecuária catarinense**, Florianópolis, v. 18, n. 1, p. 51-54, jan./abr. 2005.

CARVALHO, V. L.; CHALFOUN S. M.; CASTRO, H. A. de; CARVALHO, V. D. de. Influência de diferentes níveis de produção sobre a evolução da ferrugem do cafeeiro e sobre teores foliares de compostos fenólicos. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 25, n. 1, p. 49-54, jan./mar. 2001.

CAZORLA, F. M.; ARREBOLA, E.; OLEA, F.; VELASCO, L.; HERMOSO, J. M.; PEREZ-GARCIA, A.; TORÉS, J. A.; FARRÉ, J. M.; VICENTE, A. Field evaluation of treatments for the control of the bacterial apical necrosis of mango (*Mangifera indica*) caused by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 116, n. 4, p. 279-288, Dec. 2006.

CHAVES, J. C. D.; SARRUGE, J. R. Alterações nas concentrações de macronutrientes nos frutos e folhas do cafeeiro durante um ciclo produtivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 4, p. 427-432, abr. 1984.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira Café Safra 2008, segunda estimativa, maio/2008**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/2-levantamento_2008.pdf> Acesso em: 18 jun. 2008.

CUNHA, R. L.; POZZA, E. A.; DIAS, W. P.; BARRETTI, P. B. Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para avaliar a severidade da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do cafeeiro. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Vitória. **Resumos...** Vitória: Embrapa Café, 2001. p. 77-78.

ECHANDI, E. La chasparria de los cafetos causada por el hongo *Cercospora coffeicola*, Berk & Cooke. **Turrialba**, San José, v. 9, n. 2, p. 54-67, apr./jun. 1959.

EL-HAMALAWI, Z. A.; MENGE, J. A.; ADAMS, C. J. Methods of fosetyl-Al application and phosphonate levels in avocado tissue needed to control stem canker caused by *Phytophthora citricola*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 79, n. 8, p. 770-778, Aug. 1995.

FENN, M. E.; COFFEY, M. D. Quantification of phosphonate and ethyl phosphate in tobacco and tomato tissues and significance for the mode of action of two phosphonate fungicides. **Phytopathology**, St. Paul, v. 79, n. 1, p. 76-82, Jan. 1989.

FERNÁNDEZ-BORRERO, O.; DUQUE, S. L. Fertilización de plantulas de café e su relacion con la incidencia de la mancha de hierro (*Cercospora coffeicola* Berk & Cooke). **Cenicafe**, Chinchiná, v. 22, n. 4, p. 95-108, oct./dic. 1971.

FÖRSTER, H.; ADASKAVEG, J. E.; KIM D. H.; STANGHELLINI, M. E. Effect of phosphite on tomato and pepper plants and on susceptibility of pepper to phytophthora root and crown rot in hydroponic culture. **Plant Disease**, St. Paul, v. 82, n. 10, p.1165-1170, Oct. 1998.

GARCIA JÚNIOR, D.; POZZA, E. A.; POZZA, A. A. A.; SOUZA, P. E.; CAARVALHO, 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**, Brasília, v. 28, n. 3, p. 286-291, set. 2003.

GRAHAM, R.D. Effects of nutrient stress on susceptibility of plants to disease with particular reference to the trace elements. **Advances in Botanical Research**, San Diego, v. 10, p. 221-276, 1983.

GUEST, D.; ANDERSON, R. D.; FOARD, H. J.; PHILLIPS, D.; WORBOYS, S.; MIDDLETON, R. M. Long-term control of *Phytophthora* disease of cocoa using trunk- injected phosphonate. **Plant Pathology**, Oxford, v. 43, n. 3, p. 479–492, June 1994.

GUIMARÃES, P. T. G.; GARCIA, A. W. R.; VENEGAS, V. H. A.; PREZOTTI, L. C.; VIANA, A. S.; MIGUEL, A. S.; MALAVOLTA, E.; CORRÊA, J. B.; LOPES, A. S.; NOGUEIRA, F. D.; MONTEIRO, A. V. C.; OLIVEIRA, J. A. Cafeeiro. In: RIBEIRO, A. C. GUIMARÃES, P. T. G.; VENEGA, V. H. A. (Ed.). **Recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa, MG: CFSEMG, 1999. p. 289-302.

KUC, J. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. **European Journal of Plant Pathology**, Dodrecht, v. 107, n. 1, p. 7-12, Jan. 2001.

KUSHALAPPA, A. C.; ESKES, A. B. Advances in coffee rust research. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 27, p. 503-531, 1989.

LIM, T. M. Trunk injection with phosphorous acid for controlling *Phytophthora* on chestnuts: early promising results. In: BIENNIAL CONFERENCE. AUSTRALASIAN PLANT PATHOLOGY SOCIETY, 9., 1993, Hobart. **Abstract...** Hohart: CSIRO, 1993. p. 25.

MALAVOLTA, E.; FERNANDES, D. R.; CASALE, H.; HOMERO, J. P. Seja doutor do seu cafezal. **Informações agronômicas**, Piracicaba, n. 64, p. 1-12, dez. 1993. 36 p.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. ed. Piracicaba: ABPF, 1997. 238 p.

MANSK, Z.; MATIELLO, J. B. Estudo de doses de fungicidas sistêmicos e orgânicos no controle à *Phoma* spp. em cafeeiros (*Coffea arabica* L.). CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 10., 1983, Poços de Caldas. **Anais...** Rio de Janeiro: IBC/GERBA, 1983. p. 392-393.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2. ed. London: Academic, 1995. 889 p.

NOJOSA, G. B. A. **Efeito de indutores na resistência de *Coffea arabica* L. à *Hemileia vastatrix* BERK & BR. e *Phoma costaricensis* ECHANDI**. 2003. 102 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

OLIVEIRA, C. A.; POZZA, E.A.; OLIVEIRA, V. B.; SANTOS, E. C.; CHAVES, Z. M. Escala diagramática para avaliação da severidade de cercosporiose em folhas de cafeeiro. In: SIMPÓSIO DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2001, Vitória. **Resumos...** Vitória: Embrapa Café, 2001. p. 80.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: Mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A. ; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1. cap. 22, p. 417-454.

POZZA, A. A. A.; GUIMARÃES, P. T. G.; POZZA, E. A.; ROMANIELLO, M. M.; CARVALHO, J. G. Efeito do substrato e adubações de mudas de cafeeiro em tubetes na produção e na intensidade de cercosporiose. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 27, n. 3, p. 370-374, jul./set. 2001.

REUVENI, M.; SHEGLOV, D.; COHEN, Y. Control of moldy-core decay in apple fruits by β -aminobutyric acids and potassium phosphites. **Plant Disease**, St. Paul, v. 87, n. 8, p. 933-936, Aug. 2003.

SANTOS, F. S. **Epidemiologia e manejo de doenças do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) sob cultivo orgânico**. 2006. 146 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SANTOS, F. S.; SOUZA, P. E.; POZZA, E. A.; MIRANDA, C. J.; BARRETO, S. S.; THEODORO, V. C. Progresso da cercosporiose (*Cercospora coffeicola* Berkeley & Cooke) em cafeeiros sob cultivos orgânico e convencional **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 34, n. 1, p. 48-54, jan./mar. 2008.

SCHUTTE, G. C.; BEZUIDENHOUT, J. J.; KOTZE, J. M. Timing of application of phosphonate fungicides using different application methods as determined by means of gas-liquid-chromatography for *Phytophthora* root rot control of citrus. **Phytophylactica**, Pretoria, v. 23, n. 1, p. 69–71, 1991.

SHEARER, B. L.; FAIRMAN, R. G.; GRANT, M. J. Effective concentration of phosphite in controlling *Phytophthora cinnamomi* following stem injection of *Banksia* species and *Eucalyptus marginata*, **Forest Pathology**, Aberdeen, v. 36, n. 2, p. 119–135, Apr. 2006.

SILVA-ACUÑA, R.; MAFFIA, L. A.; ZAMBOLIM, L.; BERGER, R. D. Incidence-severity relationships in the pathosystem *Coffea arabica*- *Hemileia vastatrix*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 83, n. 2, p. 186-188, Feb. 1999.

SHANER, G.; FINNEY, R.F. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v.67, n. 8, p.1051-1056, Aug. 1977.

SMILLIE, R.; GRANT, B. R.; GUEST, D. The mode of action of phosphite: evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp in plants. **Phytopathology**, St. Paul, v. 79, n. 9, p. 921-926, Sept. 1989.

STANGOULIS, J. C. R.; GRAHAM, R. D. Boron and Plant Disease. In: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. (Ed.). **Mineral Nutrition and Plant Disease**. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 2007. Cap. 15, p.156-179.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3.e d. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TOYOTA. M. **Extratos vegetais e produtos comerciais no manejo da ferrugem e nos mecanismos de defesa do cafeeiro à cercosporiose**. 2008. 66 p. Dissertação (Mestre em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ZAMBOLIM, L.; SILVA-ACUÑA, R.; VALE, F. X. R. do; MACABEU, A. J.; CHAVES, G. M. Influência da carga pendente sobre o desenvolvimento da ferrugem do cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 12., 1985, Caxambu. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1985. p. 123-125.

CAPÍTULO 3

FOSFITOS E ACIBENZOLAR-S-METIL NA PROTEÇÃO DE MUDAS DE CAFEEIRO CONTRA *Cercospora coffeicola*

RESUMO

RIBEIRO JÚNIOR, Pedro Martins. Fosfitos e acibenzolar-S-metil na proteção de mudas de cafeeiro contra *Cercospora coffeicola*. In: _____. **Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola***. 2008. Cap. 3, p. 60-75. Tese (Doutor em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras; Lavras¹.

O trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da aplicação de fosfitos e de acibenzolar-S-metil (ASM) na proteção de mudas de cafeeiro contra *C. coffeicola*. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação com a cultivar Mundo Novo. Foram utilizados fosfitos de potássio em duas formulações (5mL/L), fosfito de manganês (3,33mL/L), fosfito de zinco (2mL/L) e ASM (0,2g/L). Os tratamentos foram aplicados 7 dias antes da inoculação com *Cercospora coffeicola*. Pulverização com fosfitos e ASM proporcionaram menor número de lesões da cercosporiose por folha, não diferindo entre si, mas diferindo da testemunha. Entretanto, para a incidência da doença nas folhas, o tratamento com o ASM não diferiu da testemunha e foi superior aos fosfitos. Observou-se também que os tratamentos com os fosfitos e o ASM proporcionaram maior enfolhamento das mudas de cafeeiro quando comparados à testemunha. Não foi observado diferença entre ganho médio no crescimento das mudas proporcionado pelos tratamentos. Não houve efeito negativo no crescimento e desenvolvimento das mudas proporcionado pelos fosfitos e ASM.

¹ **Orientador:** Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA.

ABSTRACT

RIBEIRO JÚNIOR, Pedro Martins. Phosphites and acibenzolar-S-methyl for the protection of coffee seedlings against *Cercospora coffeicola*. In: _____. **Phosphites for the protection and induction of resistance in coffee plants against *Hemileia vastatrix* and *Cercospora coffeicola*** 2008. Chap. 3, p. 60-75 Thesis (Doctorate in phytopathology) - Federal University of Lavras, Lavras¹.

The objective of this study was to evaluate the effect of the application of phosphites and acibenzolar-S-methyl (ASM) in the protection of coffee seedlings against *C. coffeicola*. The experiments were conducted in a greenhouse with Novo Mundo cultivar. Potassium phosphites in two formulations (5mL / L), manganese phosphite (3,33 mL / L), zinc phosphite (2mL / L) and ASM (0.2 g / L) were tested. The treatments were applied 7 days before the inoculation with *Cercospora coffeicola*. Spraying with phosphites and ASM provided the lowest number of injuries by brown eye spot, not differing from each other, but differed from the control. Meanwhile, the incidence of the disease on the leaves treated with the ASM did not differ from the control and was higher than the phosphites. It was also observed that the treatments with phosphites and ASM provided an increase in the number of leaves of coffee seedlings, when compared to the control. There was no difference between average increase in the growth of seedlings provided by the treatments. There was no negative effect on growth and development of coffee seedlings provided by phosphites and ASM.

¹ **Advisor:** Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA

1 INTRODUÇÃO

A cercosporiose, causada por *Cercospora coffeicola* Berk. & Cooke, é uma das principais doenças da fase de viveiro da cultura do café (*Coffea arabica* L.). Nos viveiros, a incidência do fungo é favorecida por excesso de irrigação ou por deficiência hídrica, desequilíbrio nutricional e insolação. Assim, as plantas apresentam desfolha intensa, tornam-se raquíticas e impróprias ao plantio (Fernandez-Borrero et al., 1966).

Com a expansão da cafeicultura e o aumento do uso de fungicidas sistêmicos para o controle da ferrugem do cafeeiro, ocorreu conseqüente diminuição do uso dos fungicidas protetores. Como os fungicidas protetores eram os principais meios de controle da cercosporiose, esta se tornou um sério problema fitossanitário para a cafeicultura, podendo reduzir em 30% a produtividade no campo (Chalfoun & Carvalho, 1999).

Atualmente, na agricultura econômica, utilizam-se pesticidas para o controle de doenças de plantas (Kimati et al., 1997). O uso racional desses produtos tem efeito benéfico para os produtores em curto prazo, no entanto, em longo prazo pode ocorrer seleção de novas raças resistentes de patógenos, promovendo a contaminação do ambiente e danos à saúde humana. Para contornar este problema, vários estudos estão sendo realizados visando desenvolver métodos alternativos de controle de doenças de plantas (Resende et al., 2002).

Dentre estes métodos destaca-se a indução de resistência (IR) em plantas, a qual pode ser ativada por compostos como ácido salicílico, acibenzolar-S-metil (ASM), fragmentos e peptídios da parede celular de patógenos, dentre outros (Perez et al, 1995). Jackson et al. (2000) relatam que os fosfitos (fosfonato ou ácido fosforoso), além de atuar diretamente sobre os

patógenos (ação tóxica direta), também atuam, indiretamente, induzindo respostas de defesa na planta.

Portanto, neste trabalho, avaliaram-se os efeitos da aplicação de fosfitos de potássio, de zinco e de manganês e do acibenzolar-S-metil na proteção de mudas de cafeeiro contra *Cercospora coffeicola*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção dos produtos

Foram utilizados produtos comerciais à base de fosfito e um produto padrão de indução de resistência (acibenzolar-S-metil), descritos na Tabela 1 e pulverizados conforme Tabela 2.

TABELA 1. Tratamentos à base de fosfito avaliados no experimento em casa de vegetação com mudas de cafeeiro cultivar Mundo Novo.

Tratamentos*.	Nome comercial	Composição**	Empresa
Fosf. Zn	Phytogard Zn	40% de P ₂ O ₅ e 10% de Zn	Stoller do Brasil Ltda.
Fosf. Mn	Phytogard Mn	40% de P ₂ O ₅ e 10% de Mn	Stoller do Brasil Ltda.
Fosf.K1	Hortifos PK	20% de P ₂ O ₅ e 20% de K ₂ O	Agrichem do Brasil Ltda.
Fosf.K2	Reforce	25,6% de P ₂ O ₅ e 17,8% de K ₂ O	Agrichem do Brasil Ltda.
ASM	Bion	50% de acibenzolar S-metil	Syngenta Proteção de Cultivos
Test	-----	-----	-----

* Fosf. Zn: fosfito de zinco; Fosf. Mn: fosfito de manganês; Fosf. K1: fosfito de potássio 1; Fosf. K2: fosfito de potássio 2; ASM.: acibenzolar-S-metil; Test.: testemunha.

**A composição dos fosfitos está em porcentagem peso/peso.

TABELA 2. Épocas de pulverização dos tratamentos no experimento em casa de vegetação com mudas de cafeeiro cultivar Mundo Novo.

Tratamentos*	Pulverizações**	
	Épocas	Dose
Fosf. Zn	7 dias antes da inoculação	2mL/L
Fosf. Mn	7 dias antes da inoculação	3,33mL/L
Fosf.K1	7 dias antes da inoculação	5mL/L
Fosf.K2	7 dias antes da inoculação	5mL/L
ASM	7 dias antes da inoculação	0,2g/L
Test	-----	-----

* Fosf. Zn: fosfito de zinco; Fosf. Mn: fosfito de manganês; Fosf. K1: fosfito de potássio 1; Fosf. K2: fosfito de potássio 2; ASM.: acibenzolar-S-metil; Test.: testemunha.

**Todos os tratamentos foram aplicados em mistura com óleo vegetal a 0,5%.

2.2 Obtenção do fungo *C. coffeicola* e inoculação

O patógeno foi obtido de folhas naturalmente infectadas, coletadas em lavoura de café localizadas no campus da UFLA. As folhas foram lavadas superficialmente em água corrente e, em seguida, transferidas para uma bandeja plástica forrada internamente com papel umedecido com água destilada. Posteriormente, a bandeja foi inserida em um saco plástico transparente, para a formação de uma câmara úmida, incubada, sob temperatura ambiente, por três dias. Após esse período, os conídios produzidos foram retirados da superfície foliar com pincel de ponta macia. A concentração da suspensão de conídios para as inoculações foi ajustada, em hemocitômetro, para 15.000 conídios mL⁻¹. A suspensão de conídios foi pulverizada, até o ponto de escorrimento, em mudas de cafeeiro nos diferentes tratamentos. Logo após a pulverização, as plantas inoculadas foram mantidas em câmara úmida, proporcionada por um saco plástico transparente, por 24 horas.

2.3 Obtenção de mudas de cafeeiro

As mudas de cafeeiro, cultivar Mundo Novo, foram produzidas em substrato comercial Plantmax-café, suplementadas com aplicações de Iogen[®]

(Fertilizantes Mitsui S.A., Poços de Caldas, MG) e adubadas com 0,5 g de fertilizante de liberação lenta por muda (formulação 4-14-8 de NPK). As mudas foram mantidas em casa de vegetação, à temperatura de $26\pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade em torno de 60% para a realização do experimento.

2.4 Instalação do experimento

O experimento foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia, UFLA, em delineamento de blocos casualizados (DBC), com 6 tratamentos (Tabela 1) e quatro repetições, sendo a parcela experimental constituída por 6 mudas, com seis meses de idade.

Os produtos foram pulverizados, sete dias antes da inoculação, com pulverizador manual, até o ponto de escorrimento e as mudas foram mantidas em casa de vegetação até o final do experimento. As avaliações do número de lesões da cercosporiose por folha, número de folhas com lesão (incidência), enfolhamento e crescimento foram realizadas quinzenalmente, totalizando seis avaliações, em aproximadamente 90 dias. O crescimento foi determinado pela diferença entre a última medida (cm) de altura das plantas e a primeira, no início do experimento.

A partir das avaliações, foi calculada a área abaixo da curva de progresso das lesões por folha (AACPLF), das folhas com lesão (AACPFL) e do enfolhamento (AACPE) para cada tratamento, de acordo com Shaner & Finney (1977). Os dados foram analisados pelo programa estatístico Sisvar e Statistical Analysis System (SAS) ver. 8.0 (SAS Institute Inc. Cary, NC).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos com os fosfitos proporcionaram menor área abaixo da curva do progresso da incidência da cercosporiose (AACPI), inferiores aos tratamentos com ASM e testemunha, os quais não diferiram estatisticamente entre si. Os tratamentos com os fosfitos proporcionaram redução média na incidência da cercosporiose nas folhas em torno de 31%, em relação à testemunha inoculada (Figura 1A).

Todos os produtos utilizados, fosfitos e ASM em aplicação 7 dias antes da inoculação, apresentaram áreas abaixo da curva de progresso do número de lesões por folha (AACPLF) estatisticamente inferiores à da testemunha inoculada, e iguais entre si (Figura 1B).

Como se observou no experimento de campo do presente trabalho (capítulo 2) no ano de 2007, os fosfitos proporcionaram controle da cercosporiose do cafeeiro, quando comparadas à testemunha. Toyota (2008) verificou que fosfito de cobre, em condição de campo, reduziu a severidade da ferrugem em cafeeiro da cultivar Rubi, com controle semelhante ao do fungicida epoxiconazol + piraclostrobina.

Guzzo et al. (2001) observaram que plantas de café da cultivar Mundo Novo, suscetíveis à ferrugem, mostraram-se protegidas contra a doença quando tratadas com diferentes concentrações do ASM, 72 horas antes da inoculação com o patógeno, induzindo proteção local (66% a 97 %) e sistêmica (83% a 94%) e esse efeito protetor persistiu até 10 semanas. Estudos, por meio de microscopia de fluorescência, sobre o desenvolvimento do patógeno em folhas tratadas e testemunhas, indicaram que a germinação e a formação de apressórios de *H. vastatrix* não foram afetadas pelo tratamento com o ASM.

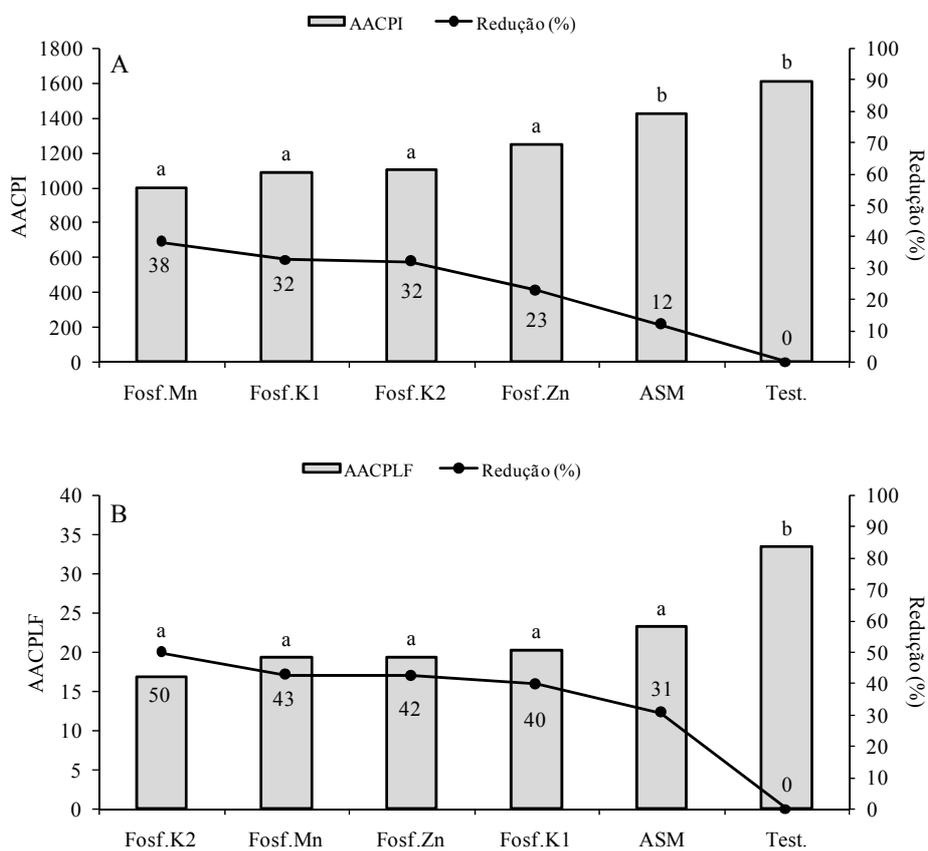


FIGURA 1 Efeito de fosfitos na redução e na área abaixo da curva do progresso da incidência (AACPI) (A) e da lesão por folha (AACPLF) (B), da cercosporiose em mudas de cafeeiro cultivar Mundo Novo. Tratamentos: ASM.- acibenzolar-S-metil; Fosf. Zn – fosfito de zinco; Fosf. Mn – fosfito de manganês; Fosf K1 – fosfito de potássio com 20% de P e Fosf. K2 - fosfito de potássio com 25,6% de P. Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Scott Knott ($P \leq 0,05$).

De Nardi et al. (2006) observaram que plantas tratadas com ASM apresentaram, nas folhas, a superexpressão de 55 e a subexpressão de 16 genes. Dentre os genes superexpressos, encontraram-se os relacionados à explosão oxidativa e ao aumento de barreiras físicas e químicas, como peroxidase, quitinase, lipoxigenase, glutational-S-transferase e superóxido dismutase.

Observou-se que todos os tratamentos apresentaram enfolhamento superior ao da testemunha inoculada de forma significativa (Figura 2A). Na avaliação de crescimento, diferença entre a última medida de comprimento e a primeira, observou-se que não houve efeito significativo dos tratamentos nas mudas (Figura 2B).

Observou-se também correlação negativa entre os índices de doença, AACPLF e AACPI, enfolhamento e crescimento das plantas (Tabela 3). Este fato ocorreu, provavelmente, pelo fato de a característica do patógeno de causar desequilíbrio no hormônio etileno, um dos responsáveis pela senescência e abscisão foliar, ocasionando grande desfolha, sintoma típico da doença (Carvalho & Chalfoun, 1995). Houve também correlação positiva entre o enfolhamento (AACPE) e o crescimento das plantas devido, provavelmente, à maior área fotossintética proporcionada pelo maior número de folhas das mudas tratadas com os fosfitos e ASM (Taiz & Zeiger, 2004).

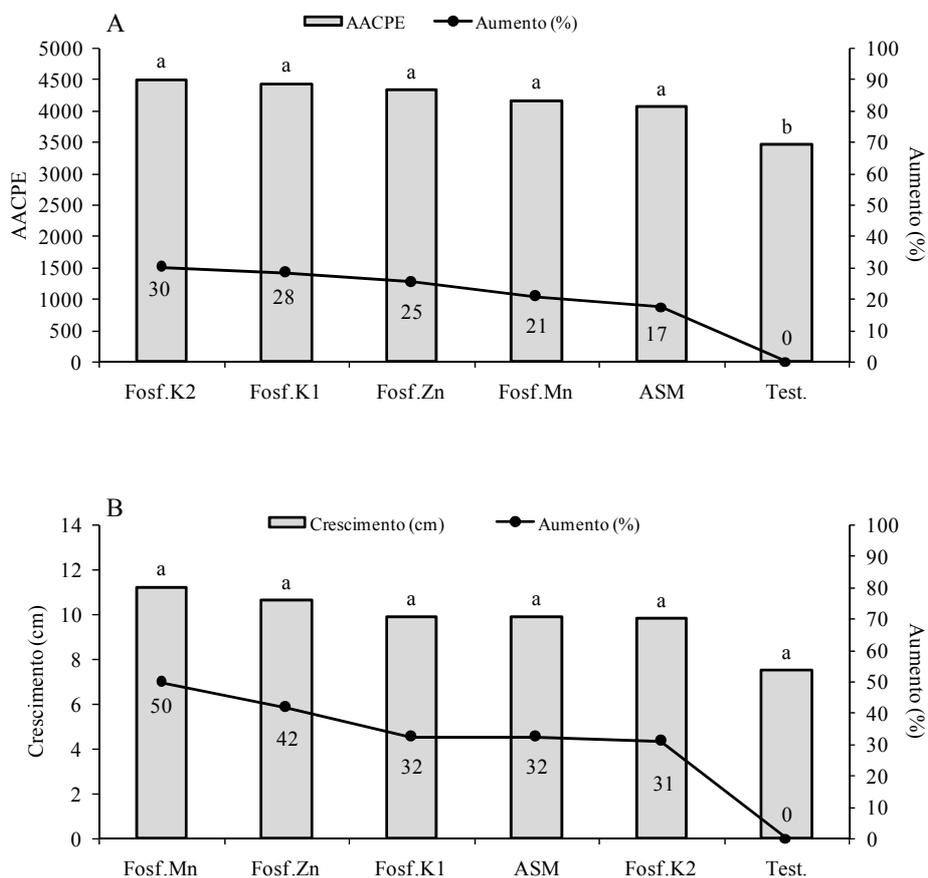


FIGURA 2 Efeito de fosfitos no aumento e na área abaixo da curva do progresso do enfolhamento (AACPE) (A) e do ganho em crescimento (Crescimento) (B), de mudas de cafeeiro cultivar Mundo Novo. Tratamentos: ASM.- acibenzolar-S-metil; Fosf. Zn – fosfito de zinco; Fosf. Mn – fosfito de manganês; Fosf K1 – fosfito de potássio com 20% de P e Fosf. K2 - fosfito de potássio com 25,6% de P. Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Scott Knott ($P \leq 0,05$).

TABELA 3 Correlação de Pearson entre a área abaixo da curva do progresso das lesões de cercosporiose por folha (AACPLF) e da incidência da cercosporiose nas folhas (AACPI), a área abaixo da curva do progresso do enfolhamento (AACPE) e crescimento de mudas de cafeeiro em função da aplicação de fosfíto e acibenzolar-S-metil.

Variáveis ¹	AACPLF	AACPI	AACPE	Crescimento
AACPLF	1	0,75**	-0,72**	-0,61**
AACPI		1	-0,71**	-0,54**
AACPE			1	0,57**
Crescimento				1

** Significativo, a 1% de probabilidade

¹ AACPLF: área abaixo da curva do progresso das lesões da cercosporiose por folha; AACPI: área abaixo da curva do progresso da incidência de lesões nas folhas; AACPE: área abaixo da curva do progresso do enfolhamento; Crescimento.

Vários autores relatam um custo metabólico da indução de resistência na ausência do patógeno, com base na hipótese da alocação de recursos. Ou seja, quando os patógenos estão presentes, o investimento em defesa deve valer a pena e as plantas induzidas são beneficiadas (Coley et al., 1985). Dessa maneira, a resistência induzida em condições naturais representará custo apenas na presença do patógeno (Heil, 2002) e, mesmo com a chegada deste, há uma compensação pelo atraso na expressão da defesa, alocando recursos para este propósito somente quando necessários (Bostock, 2005). Entretanto, plantas que investem seus recursos para se defenderem na ausência de patógenos arcarão com custos que refletirão no desenvolvimento e na produtividade da planta, uma vez que as alterações metabólicas que levam a resistência têm um custo adaptativo associado, o qual pode pesar mais do que o benefício (Iriti & Faoro, 2003; Kuhn, 2007). No presente trabalho, não foi observado custo metabólico devido aos tratamentos com os indutores, de acordo com o parâmetro de enfolhamento das mudas, que foi superior e o de crescimento, que não diferiu da testemunha (Figuras 2A e B).

4 CONCLUSÃO

Os fosfitos e acibenzolar-S-metil, pulverizados 7 dias antes da inoculação, conferiram proteção parcial às mudas de cafeeiro cultivar Mundo Novo contra *Cercospora coffeicola*, além de proporcionarem maior enfolhamento das mesmas.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOSTOCK, R.M. Signal crosstalk and induced resistance: straddling the line between cost and benefit. **Annual Review of phytopathology**, Palo Alto, v. 42, p. 545-580, 2005.

CARVALHO, V. L.; CHALFOUN, S. M. **Cercospora**: doença do cafeeiro também chamada de “olho pardo” ou “olho de pomba”. Belo Horizonte: EPAMIG, 1995. (Circular técnica, 47).

CHALFOUN, S. M.; CARVALHO, V. L. Controle químico da ferrugem (*Hemileia Vastatrix* Berk & Br.) do cafeeiro através de diferentes esquemas de aplicação. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 363-367, mar. 1999.

COLEY, P. D.; BRYANT, J. P.; CHAPIN, F. S. Resource availability and plant antiherbivore defense. **Science**, Washington, v. 230, n. 4728, p. 895-899, Nov. 1985.

DE NARDI, B.; DREOS, R.; TERRA, L. D.; MARTELLOSI, C.; ASQUINI, E.; TORNINCASA, P.; GASPERINI, D.; PACCHIONI, B.; RATHINAVELU, R.; PALLAVICINI, A.; GRAZIOSI, G. Differential responses of *Coffea arabica* L. leaves and roots to chemically induced systemic acquired resistance. **Genome**, Toronto, v. 49, n. 12, p. 1594–1605, Dec. 2006.

FERNANDEZ-BORRERO, O., MESTRE, A. M.; DUQUE, S. I. L. Efecto de la fertilizacion en la incidencia de la mancha de hierro (*Cercospora coffeicola*) en frutos de café. **CENICAFE**, Chinchiná, v. 17, N. 1, p.5-17, ene./mar. 1966.

GUZZO, S. D.; CASTRO, R. M. de; KYDA, K.; MARTINS, E. M. F. Ação protetora do acibenzolar-S - methyl em plantas de cafeeiro contra ferrugem. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, n. 1, p. 89-94, jan./jun. 2001.

HEIL, M. Systemic acquired resistance: available information and open ecological questions. **Journal of Ecology**, Oxford, v. 87, n. 2, p. 341-346, Apr. 1999.

IRITI, M.; FAORO, F. Benzothiadiazole (BTH) induces cell-death independent resistance in *Phaseolus vulgaris* against *Uromyces appendiculatus*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 151, n. 3, p. 171-180, Mar. 2003.

JACKSON, T. J.; BURGESS, T.; COLQUHOUN, I.; HARDY, G. E. S. T. J. Action of the fungicide phosphonate on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 49, p. 147–54, 2000.

KIMATI, H.; GIMENEZ-FERNANDES, N.; SOAVE, J.; KUROZAWA, C.; BRIGNANI NETO, F.; BETTIOL, W. **Guia de Fungicidas Agrícolas: recomendações por cultura**. 2. ed. Jaboticabal: Grupo Paulista de Fitopatologia, 1997. v. 1, 225 p.

KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. Piracicaba, 2007. 140 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura. “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

PEREZ, V.; MAMDOUH, A. M.; HUET, J. C.; PERNOLLET, J. C.; BOMPEIX, G. Enhanced secretion of elicitors by *Phytophthora* fungi exposed to phosphonate. **Cryptogamie Mycologie**; Paris, v. 16, n. 3, p. 191–194, Sept. 1995.

RESENDE, M. L. V.; NOJOSA, G. B. A.; CAVALCANTI, L. S.; AGUILAR, M. A. G.; SILVA, L. H. C. P.; PEREZ, J. O.; ANDRADE, G. C. G.; CARVALHO, G. A.; CASTRO, R. M. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis pernicioso* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar-S-methyl (ASM). **Plant Pathology**, Oxford, v. 51, n. 5, p. 621-628, Oct. 2002.

SHANER, G.; FINNEY, R. F. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v. 67, n. 8, p. 1051-1056, Aug. 1977.

SHEARER, B. L.; FAIRMAN, R. G.; GRANT, M. J. Effective concentration of phosphite in controlling *Phytophthora cinnamomi* following stem injection of *Banksia* species and *Eucalyptus marginata*. **Forest Pathology**, Aberdeen, v. 36, n. 2, p. 119–135, Apr. 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TOYOTA, M. **Extratos vegetais e produtos comerciais no manejo da ferrugem e nos mecanismos de defesa do cafeeiro à cercosporiose**. 2008. 66 p. Dissertação (Mestre em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CAPÍTULO 4

**ATIVAÇÃO DE MECANISMOS BIOQUÍMICOS ENVOLVIDOS NA
RESPOSTA DE PROTEÇÃO INDUZIDA EM CAFEIEIRO POR
FOSFITOS E ACIBENZOLAR-S-METIL CONTRA *Cercospora coffeicola***

RESUMO

RIBEIRO JÚNIOR, Pedro Martins. Ativação de mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta de proteção induzida em cafeeiro por fosfitos e acibenzolar-S-metil contra *cercospora coffeicola*. In: _____. **Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola***. 2008. Cap. 4, p. 76-104. Tese (Doutor em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras¹.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da aplicação de fosfitos e do acibenzolar-S-metil (ASM) sobre as atividades de proteínas relacionadas à patogênese, peroxidases, quitinase e β 1,3-glucanase e nos teores de fenóis solúveis totais e de lignina solúvel, em folhas de cafeeiro. Mudanças de cafeeiro da cultivar Mundo Novo foram pulverizadas com ASM ($0,2 \text{ g L}^{-1}$); fosfito de potássio (5 mL L^{-1}) e fosfito de manganês ($3,33 \text{ mL L}^{-1}$), com e sem inoculação com *Cercospora coffeicola*, além de testemunha inoculada e testemunha pulverizada com água. A inoculação foi realizada 7 dias após a pulverização com os tratamentos. Plantas pulverizadas com os fosfitos e ASM apresentaram maior atividade das enzimas peroxidases, quitinase e β 1,3-glucanase e também aumento no teor de fenóis solúveis totais. Para o teor de lignina solúvel, observou-se que não houve diferença estatística entre os tratamentos até os 21 dias de avaliação. As maiores atividades enzimáticas foram observadas principalmente nas últimas coletas, a partir de 7 até 21 dias, à exceção da enzima β 1,3-glucanase, nas quais, nas primeiras horas, observou-se aumento na atividade para os tratamentos com ASM e fosfito de manganês. Para fenóis totais, observou-se maiores teores aos 11 dias após pulverização. Na avaliação do teor de fenóis solúveis, de forma acumulada, observou-se superioridade dos tratamentos com os fosfitos em relação à ASM e às testemunhas.

¹ Comitê de Orientação: Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA (Orientador).

ABSTRACT

RIBEIRO JÚNIOR, Pedro Martins. Activation of biochemical mechanisms involved in the defense response of coffee seedlings by phosphites and acibenzolar-S-methyl against *Cercospora coffeicola*. In: _____. **Phosphites for the protection and induction of resistance in coffee plants against *Hemileia vastatrix* and *Cercospora coffeicola***. 2008. Chap. 4, p. 76-104. Thesis (Doctorate in Phytopathology) - Federal University of Lavras, Lavras¹.

This study was aimed at evaluating the effect of the application of phosphites and acibenzolar-S-methyl (ASM) on the activities of peroxidases, quitinases and β 1,3-glucanases and in the levels of total soluble phenolics and soluble lignin in coffee leaves. Coffee seedlings of Mundo Novo cultivar were sprayed with ASM (0.2 g L⁻¹); potassium phosphite (5 mL L⁻¹) and manganese phosphite (3.33 mL L⁻¹), with or without inoculation with *Cercospora coffeicola*, as well as inoculated and uninoculated controls. The inoculation was performed 7 days after spraying. Plants sprayed with phosphites and ASM had higher activity of peroxidases, quitinases and β 1,3-glucanases and also increased the level of total soluble phenolics. For the lignin soluble content, it was observed that there was no statistical difference between the treatments until the 21 days of evaluation. The highest enzyme activities were observed mainly in the latest evaluations, from 7 to 21 days, with the exception of the enzyme β 1,3-glucanase, in which, in the early hours, there was an increase in activity for the treatments with ASM and manganese phosphite. For the total soluble phenolics, there was higher content up to 11 days after spraying. In assessing the level of total soluble phenolics, it was observed superiority of treatment with phosphites regarding ASM and the control.

¹ **Advisor:** Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA

1 INTRODUÇÃO

A cercosporiose, também conhecida por mancha-de-olho-pardo ou olho-de-pomba, é uma das principais doenças do cafeeiro. Ela pode ocorrer em mudas no viveiro, causando severa desfolha e, em condição de campo, causa manchas foliares e nos frutos, afetando a qualidade da bebida (Chalfoun, 1997). Como medidas de controle dessa doença, algumas práticas culturais podem ser adotadas em condições de viveiro, como o controle da irrigação e da luminosidade e a utilização de substratos com adubação equilibrada e com boas propriedades físicas. Em campo, o controle químico pode ser realizado por meio de aplicações de fungicidas cúpricos, alternados com fungicidas sistêmicos. Os triazóis e as estrobilurinas são bastante utilizados, pois com as mesmas aplicações já se realiza também o controle da ferrugem (Zambolim, 2003).

A resistência sistêmica adquirida (RSA) pode ser usada como uma ferramenta no manejo de doenças de plantas, pois consiste na ativação de mecanismos de defesa natural das plantas contra um amplo espectro de patógenos. Alguns compostos naturais e sintéticos estimulam respostas de defesa semelhantes àquelas observadas nas interações plantas resistentes-agentes patogênicos, como a explosão oxidativa, caracterizada pela rápida geração de espécies ativas de oxigênio, reação de hipersensibilidade (HR), acúmulo de fitoalexinas, acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese e de compostos fenólicos em células adjacentes ao sítio de infecção, além da indução de barreiras estruturais (Van Loon, 1997; Cavalcanti et al., 2005).

Produtos análogos ao ácido salicílico, sinalizador da RSA, como o acibenzolar-S-metil, estão entre os indutores de resistência mais estudados no controle de doenças de plantas (Kessman et al., 1994; Cavalcanti et al., 2005). Elicidores diretos, como fragmentos e peptídios da parede celular de patógenos, também são conhecidos por ativar uma gama de rotas de reconhecimento e de

resposta de defesa de plantas (Perez et al., 1995). Outros ativadores da resistência de plantas muito utilizados, como fosfitos (fosfonato ou ácido fosforoso), agem diretamente sobre o patógeno e indiretamente, induzindo respostas de defesa na planta (Jackson et al., 2000; Nojosa et al., 2005).

Após tratamento com fosfito, as células infectadas, normalmente em espécies de plantas suscetíveis, são submetidas a mudanças rápidas, que incluem morte celular por HR, ativação de rotas biosintéticas relacionadas à defesa, que podem acumular níveis elevados de fitoalexinas e depósito de barreiras físicas ao redor das células infectadas (Nemestothy & Guest, 1990).

Em plantas de fumo tratadas com o fosetyl alumínio, produto composto por três moléculas de fosfito ligadas covalentemente ao alumínio, foi verificado o aumento na atividade da fenilalanina amônia liase (FAL), acúmulo de fitoalexinas e deposição de lignina após inoculação com *Phytophthora Nicotianae*, em comparação com os níveis das plântulas de fumo não tratadas e inoculadas (Nemestothy & Guest, 1990). Em cafeeiro, o fungicida fosetyl alumínio controlou a mancha de Phoma, diminuindo o percentual de folhas e de ramos atacados, diferindo significativamente da testemunha (Mansk & Matiello, 1983). Também em cafeeiro, o fosfito de potássio aplicado em folhas destacadas reduziu a severidade da mancha de Phoma, não diferindo do tebuconazole e do fosetyl alumínio e, em mudas, proporcionou diminuição da severidade da ferrugem (Nojosa, 2003). No campo, fosfitos apresentaram efeito protetor em cafeeiro para a mancha de Phoma (Barguil, 2004). Entretanto, para cafeeiro, poucos trabalhos com fosfitos foram publicados, abordando a ativação de mecanismos de defesa via RSA.

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito da aplicação de fosfitos de potássio e de manganês e do acibenzolar-S-metil na atividade das proteínas PR, peroxidase, quitinase e β -1,3-glucanase, e nos teores

de fenóis solúveis totais e de lignina em mudas de cafeeiro inoculadas e não inoculadas com *C. coffeicola*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção dos produtos

No ensaio foram utilizados os produtos comerciais à base de fosfito de potássio, Reforce[®] (25,6% de P₂O₅ e 17,8% de K₂O), adquirido da Agrichem do Brasil Ltda.; Phytogard Mn[®] (40% de P₂O₅ e 10% de Mn), adquirido da Stoller do Brasil Ltda. e o acibenzolar-S-metil (ASM) (Bion[®] 50% de ASM), da Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.

2.2 Caracterização dos mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta de defesa

2.2.1 Obtenção das plantas, do inoculo e inoculação

Para a determinação dos mecanismos envolvidos na resposta de defesa foi realizado experimento em casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia, visando fornecer material foliar para as análises bioquímicas.

Foram utilizadas mudas de cafeeiro com 90 dias de idade, cultivadas em bandejas de isopor, de 72 células, com o substrato Plantmax[®]. Os tempos de coleta das amostras foliares foram: 0, 6 horas (0,25 dia), 12 horas (0,5 dia), 24 horas (1 dia), 72 horas (3 dias), 168 horas (7 dias), 264 horas (11 dias), 336 horas (14 dias) e 504 horas (21 dias) após a aplicação dos produtos. Foram utilizadas 4 repetições de 3 plantas cada, por tempo de coleta por tratamento.

A inoculação do patógeno foi realizada com 144 horas (6 dias) após a pulverização com os tratamentos. Foram avaliados os tratamentos fosfito de potássio (5,0 mL L⁻¹), fosfito de manganês (3,33 mL L⁻¹) e ASM (0,2 g L⁻¹), em plantas inoculadas e não inoculadas com *C. coffeicola*, além de duas testemunhas, plantas pulverizadas apenas com água destilada inoculadas e não inoculadas com *C. coffeicola*, em que foram analisadas as atividades das

enzimas peroxidase de guaiacol, quitinase, β -1,3-glucanase, além dos teores de lignina solúvel e de fenóis solúveis totais.

Para a obtenção do inóculo, conídios de *C. coffeicola* foram coletados de folhas de cafeeiro naturalmente infectado. Para tanto, as folhas foram lavadas superficialmente em água corrente e, em seguida, mantidas em câmara úmida por três dias, à temperatura ambiente. Os conídios formados foram retirados da superfície foliar com pincel de cerdas macias; posteriormente, a suspensão foi filtrada em camada dupla de gaze e a concentração foi ajustada para $1,5 \times 10^3$ conídios.mL⁻¹ em hemocitômetro. No momento da inoculação, três alíquotas de 200 μ L da suspensão de esporos foram retiradas e, 12 horas após, quantificada a percentagem média de germinação em lâminas escavadas.

Após a coleta, as amostras foram envolvidas em papel alumínio, identificadas, mergulhadas em nitrogênio líquido e, após o congelamento, acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em freezer, a -80°C, até o preparo do material para as análises bioquímicas.

2.2.2 Preparo de extratos foliares para a avaliação de proteínas totais e da atividade de peroxidase de guaiacol, quitinase e β -1,3-glucanase

Os tecidos vegetais foliares foram triturados em nitrogênio líquido, com almofariz e pistilo, até a obtenção de um pó fino. Posteriormente, aproximadamente 1g desse pó foi depositado em um tubo, ao qual se adicionou o tampão acetato de sódio 50mM pH 5,2 (10mL de tampão para cada grama de amostra) e homogeneizou-se por 10 segundos, em agitação. Após esse processo, a suspensão foi centrifugada a 12.000 g. por 15 minutos (0-4°C) e o sobrenadante foi usado como fonte enzimática.

2.2.2.1 Proteínas totais

A concentração de proteína total solúvel foi aferida com a utilização de uma curva padrão de albumina sérica bovina (BSA) ajustada para 100 μ L do extrato enzimático, conforme ensaio de Bradford (1976).

2.2.2.2 Peroxidase de guaiacol (POX; EC 1.11.1.7)

A atividade de peroxidases de guaiacol foi determinada pela adição de 100 μ L do extrato enzimático, ajustado para 2mL de solução contendo 900 μ L de acetato de sódio 50 mM pH 5,2, 500 μ L de guaiacol 20mM e 500 μ L peróxido de hidrogênio 60mM. Após incubação a 30°C, por 10 minutos, a absorbância foi medida em espectrofotômetro, a 480nm (Urbanek et al.,1991). Uma unidade POX foi expressa como variação de 1 OD₄₈₀ por miligrama de proteína solúvel por minuto ($\Delta_{480nm} \text{ mgP}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$).

2.2.2.3 Quitinase (CHI; EC 3.2.1.14)

A atividade de quitinase foi determinada pela adição de 100 μ L do extrato enzimático ajustado para 320 μ L de uma solução com acetato de sódio 50mM pH 5,2 e 70 μ L de CM-Chitin-RBV (2mg mL⁻¹; um substrato específico para quitinase fornecido por LOEWE Biochemica GmbH), em microplacas de 96 cavidades, com volume de 350 μ L por cavidade. Após incubação a 35°C, por 80 minutos, as amostras foram acidificadas com 50 μ L de HCl 0,5N, resfriadas em banho de gelo por 10 minutos e centrifugadas (1.450g por 10 minutos), a 4°C. Uma alíquota de 200 μ L do sobrenadante de cada amostra foi transferida para nova microplaca, para leitura em 492nm, em um leitor EIA-compatível (Wirth & Wolf, 1990). A atividade CHI foi expressa pela variação de 1 OD₄₉₂ por miligrama de proteína solúvel por minuto ($\Delta_{492nm} \text{ mgP}^{-1} \text{ min}^{-1}$).

2.2.2.4 β -1,3-glucanase (GLU; EC 3.2.1.6)

A atividade da β -1,3-glucanase foi determinada de modo análogo ao da quitinase, apenas com substituição do substrato para CM-Curdlan-RBB (4 mg mL⁻¹; Loewe Biochemica GmbH). Para promover ação hidrolítica de β -1,3-glucanase, foi adotado tempo de incubação, a 35°C, de 80 minutos. As amostras foram submetidas à leitura fotométrica em filtro de 620 nm de um leitor EIA (Wirth & Wolf, 1990). A atividade GLU foi expressa pela variação de 1 OD₆₂₀ por miligrama de proteína solúvel por minuto ($\Delta_{620nm} \text{ mgP}^{-1} \text{ min}^{-1}$). Todos os ensaios enzimáticos foram conduzidos em triplicatas.

2.2.3 Preparo de tecidos foliares para a avaliação de lignina solúvel e de fenóis solúveis totais

Os tecidos vegetais foliares foram triturados em nitrogênio líquido, com almofariz e pistilo até a obtenção de um pó fino. Posteriormente, as amostras foram liofilizadas por 12 horas. Uma alíquota de 30mg do material liofilizado foi transferida para micro tubo de 2mL, homogeneizada com 1,5mL de metanol a 80% e mantida sob agitação, por 15 horas, em agitador rotativo, protegido da luz à temperatura ambiente. A suspensão foi centrifugada, a 12.000g, por 5 minutos. O sobrenadante (extrato metanólico) foi transferido para novo microtubo, com o qual se realizou a determinação de fenóis solúveis totais, enquanto o resíduo sólido foi utilizado para determinação de lignina solúvel como descrito a seguir.

2.2.3.1 Determinação de lignina solúvel

Foi adicionado ao resíduo sólido 1,5mL de água, homogeneizado e centrifugado, a 12.000rpm, por 5 minutos, a 4°C. O sobrenadante foi descartado e o resíduo foi seco, a 65°C, por 15 horas. Posteriormente, acrescentou-se 1,5mL de solução de ácido tioglicólico:HCl 2M (1:10). Em seguida, agitaram-se

suavemente os microtubos, para hidratar o resíduo e estes foram colocados em banho-maria em fervura por 4 horas.

Posteriormente, os microtubos foram centrifugados, a 12.000rpm, por 10 minutos, a 4°C, o sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado com 1,5mL de água ultrapura e novamente centrifugado, a 12.000rpm, por 10 minutos, a 4°C.

A seguir, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi ressuspensão em 1,5 mL de NaOH 0,5M e mantido em agitador rotativo, por 15 horas, à temperatura ambiente. A mistura foi centrifugada a 12.000rpm, por 10 minutos, a 4°C e o sobrenadante transferido para novo microtubo, ao qual foram adicionados 200 µL de HCl concentrado. A suspensão obtida foi mantida em câmara fria (4°C), por 4 horas, para permitir a precipitação da lignina ligada ao ácido tioglicólico.

A seguir, a mistura foi centrifugada a 12.000rpm, por 10 minutos, a 4°C, o sobrenadante descartado e o precipitado ressuspensão em 2mL de NaOH 0,5M.

A absorvância desta solução foi determinada em espectrofotômetro, a 280nm e os valores calculados com base na curva de lignina e expressos em µg de lignina solúvel por miligrama de massa seca (adaptado de Doster & Bostock, 1988).

2.2.3.2 Determinação de fenóis solúveis totais

Alíquotas de 150µL do extrato metanólico foram misturadas a 150µL do reagente de Folin-Ciocalteu 0,25N, por 5 minutos, homogeneizadas com 150µL de Na₂CO₃ 1M, por 10 minutos e diluídas com 1 mL de água ultrapura, à temperatura ambiente, por uma hora.

Os valores de absorvância desta reação foram determinados, a 725nm, em espectrofotômetro e calculados com base em curva de catecol. Os compostos

fenólicos totais foram expressos em equivalente μg de catecol por miligrama de massa seca (Spanos & Wrolstad, 1990).

2.4 Análise dos dados

Para melhor visualização dos resultados das análises ao longo do tempo, plotou-se a curva de progresso da atividade das enzimas, dos teores de lignina e de fenóis solúveis totais, para cada tratamento. Os tratamentos foram comparados pelo teste Scott Knott ($P \leq 0,05$), utilizando-se a área abaixo da curva de progresso da atividade das enzimas: peroxidase - AACPAPOX, quitinase - AACPACHI e β -1,3-glucanase - AACPAGLU, antes e após a inoculação e a área abaixo da curva de progresso dos teores de lignina - AACPTL e de fenóis solúveis totais - AACPTF (Shaner & Finney, 1977).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Peroxidase

Até os 7 dias após a pulverização (DAP), de acordo com o progresso da atividade de peroxidase (POX), não foi observada maior atividade desta enzima em plantas tratadas com os fosfitos ou ASM em relação à testemunha (Figura 1 A-C). O mesmo comportamento foi observado na análise da área abaixo da curva do progresso da atividade de peroxidase (AACPAPOX), pois não se observou diferença significativa entre os tratamentos com os fosfitos, ASM e a testemunha no intervalo entre a pulverização dos tratamentos e a inoculação com *C. coffeicola*, 6 dias após a pulverização (Figura 3A).

Após o período de 7 DAP, em plantas tratadas com os fosfitos e ASM, observou-se aumento na atividade da POX em relação à testemunha. O ASM proporcionou aumento na atividade de POX aos 11 DAP, enquanto que, para esse tratamento, em plantas inoculadas, maior atividade também foi observada aos 11 DAP, mantendo-se alta até os 14 DAP (Figura 1A). Em plantas de tomate tratadas com ASM, o pico de produção dessa enzima ocorreu aos nove dias após a pulverização (Cavalcanti et al., 2007). No patossistema tomate X *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*, o pico de produção de peroxidases foi observado aos 14 dias (Soylu et al., 2003).

Plantas tratadas com os fosfitos revelaram comportamento semelhante àquelas tratadas com ASM, apresentado um aumento na atividade de POX aos 7 DAP. Plantas tratadas com os fosfitos, sem inoculação com *C. coffeicola*, aos 21 DAP, apresentaram atividade de POX semelhante à da testemunha sem inoculação (Figura 1B e C). Entretanto, em plantas tratadas com os fosfitos e inoculadas com *C. coffeicola*, há uma tendência de aumento da POX, quase que linear, a partir de 7 DAP (Figura 1B e C). De acordo com a AACPAPOX, no intervalo entre a inoculação e a última avaliação (21 DAP), o tratamento com o

ASM inoculado apresentou maior atividade desta enzima, superior à dos demais tratamentos, enquanto os tratamentos com ASM sem inoculação, fosfitos sem e com inoculação, apresentaram AACPAPOX superiores à da testemunha inoculada e não inoculada (Figura 3A). Em cacaueteiro, Ribeiro Júnior et al. (2006) observaram, em mudas tratadas com ASM, tanto inoculadas como não inoculadas com *Verticillium dahliae*, maior atividade de POX aos 18 DAP, enquanto mudas tratadas com fosfito de potássio inoculadas apresentaram atividade de POX, pouco superior à da testemunha inoculada, aos 13 DAP. Em mudas de cafeeiro pulverizadas com ASM e fosfito de potássio, inoculadas com *H. vastatrix*, a atividade de peroxidases foi maior que em mudas não tratadas e não inoculadas (Nojosa, 2003).

As peroxidases de plantas participam de diversos processos fisiológicos, dentre eles a formação de lignina e são freqüentemente utilizadas como marcadores enzimáticos para os estudos da RSA (Rasmussen et al., 1995). A atividade desta enzima é freqüentemente aumentada em resposta aos estresses, ao ataque de patógenos e aos tratamentos com indutores, sendo a proteção celular contra reações oxidativas também uma das suas principais funções (Anterola & Lewis, 2002).

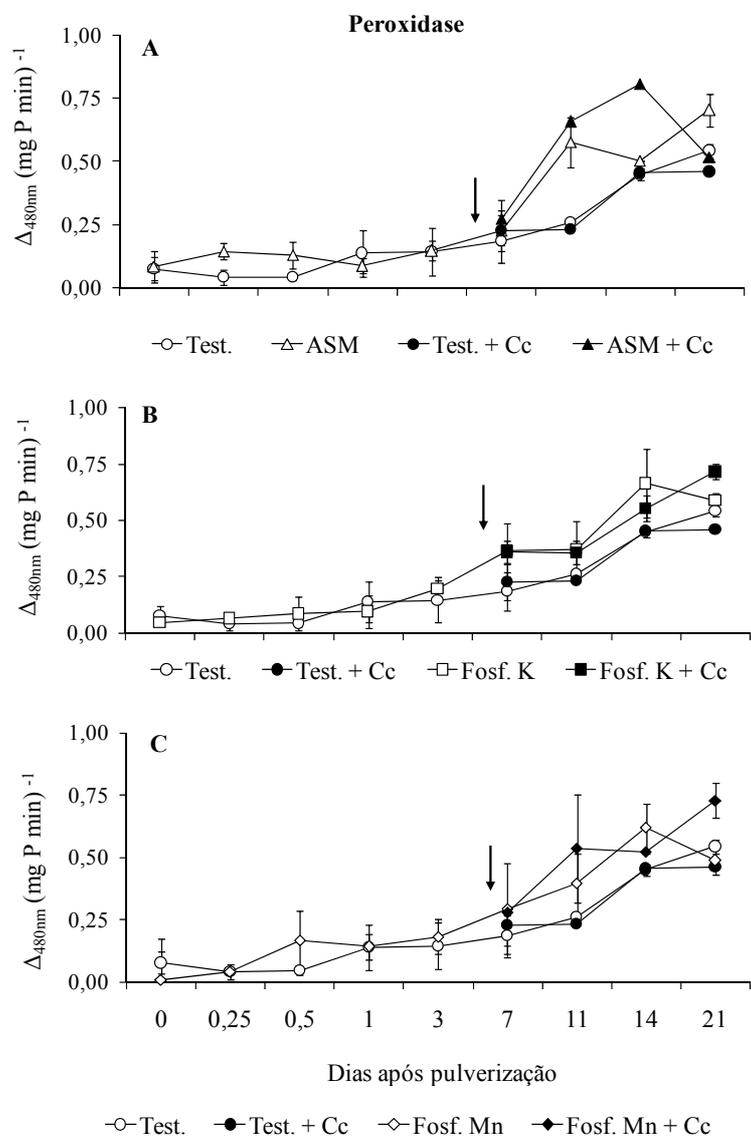


FIGURA 1 Atividade de peroxidase de guaiacol em folhas de mudas de cafeeiro, após tratamentos com: ASM – acibenzolar-S-metil (A), fosfito de potássio (Fosf. K) (B) e fosfito de manganês (Fosf. Mn) (C), comparados com a testemunha. Setas indicam inoculação com *C. coffeicola* (Cc), 6 dias após pulverização. Barras indicam desvio padrão da média.

3.2 Quitinase e β -1,3-glucanase

De maneira geral, para a atividade de quitinase, todos os tratamentos com o fosfito de potássio, de manganês e ASM apresentaram aumento na atividade de forma semelhante, pois estes tratamentos, tanto em plantas inoculadas como não inoculadas, aumentaram de forma quase que linear nas épocas avaliadas, em relação às plantas testemunha (Figura 2A-C).

Em mudas de cafeeiro tratadas com ASM, com e sem inoculação, a atividade dessa enzima aumentou consideravelmente entre 1 e 3 DAP, em relação às plantas pulverizadas apenas com água, apresentando maior pico dessa enzima aos 21 DAP (Figura 2A). Em plantas tratadas com os fosfitos de potássio e de manganês, a partir de 0,5 DAP (12 horas após pulverização), a atividade dessa enzima aumentou em relação à testemunha, apresentando sua maior atividade aos 21 DAP, época da última avaliação.

Para os tratamentos com os fosfitos em mudas inoculadas, observou-se o mesmo comportamento, pois apresentou, desde a inoculação, atividade semelhante aos tratamentos com os fosfitos não inoculados, apresentando maiores atividades aos 21 DAP, comportamento também observado para a testemunha inoculada com *C. coffeicola* (Figura 2B). Avaliando-se a atividade de quitinase de forma acumulada, utilizando-se a área abaixo da curva do progresso da atividade de quitinase (AAPACHI), não foi verificado efeito significativo dos tratamentos antes da inoculação. Após a época de inoculação (7 DAP), o tratamento com o ASM com e sem inoculação proporcionou maior AAPACHI, seguido pelos tratamentos com os fosfitos e pela testemunha inoculada, não diferindo entre si, mas superior à da testemunha sem inoculação (Figura 3B).

A atividade de β -1,3-glucanase em plantas tratadas com ASM apresentou pico aos 0,5 DAP (12 horas após a pulverização) e outro aumento aos 3 DAP, com pico aos 11 DAP, para este tratamento não inoculado. Em mudas

tratadas com ASM com inoculação, a atividade de β -1,3-glucanase apresentou-se crescente até os 21 DAP, época da última avaliação e de maior atividade para esse tratamento em relação às testemunhas com e sem inoculação (Figura 2D). Mudanças de café tratado com fosfito de potássio apresentaram pico de atividade de β -1,3-glucanase, aos 7 DAP, em plantas não inoculadas, enquanto em plantas tratadas e inoculadas, a atividade desta enzima foi semelhante à das testemunhas (Figura 2E). Plantas pulverizadas com fosfito de manganês e não inoculadas apresentaram pico de atividade aos 0,5 (12 horas), 1 e 7 DAP. Plantas tratadas e inoculadas apresentaram atividade semelhante à da testemunha inoculada (Figura 2F). Analisando-se a atividade de β -1,3-glucanase de forma acumulada, utilizando-se a área abaixo da curva do progresso da atividade de β -1,3-glucanase (AACPAGLU), não se observou efeito significativo dos tratamentos, antes ou após a inoculação (Figura 3C).

Em café, Patricio et al. (2008) relataram controle de até 55% da cercosporiose do café em campo, utilizando-se o ASM. Também trabalhando com café, Guzzo et al. (2004) observaram incremento nas atividades de quitinase e β -1,3-glucanase, 1 dia após a aplicação foliar com ASM, as quais mantiveram-se altas até 35 dias após a aplicação, proporcionando redução na severidade da ferrugem em 60%-80%. Essas enzimas estão relacionadas à proteção de plantas a patógenos em vários patossistemas (Pieterse, 2001). A quitinase e a β -1,3-glucanase apresentam ação direta contra patógenos, degradando a parede celular, com o objetivo de impedir o estabelecimento do patógeno na planta. Neste processo, polímeros de N-acetilglucosamina e β -1,3-glucana, provenientes da parede celular de fungos ou bactérias degradadas por estas enzimas, podem funcionar como eliciadores e ativar outros mecanismos de defesa (Okinaka et al., 1995).

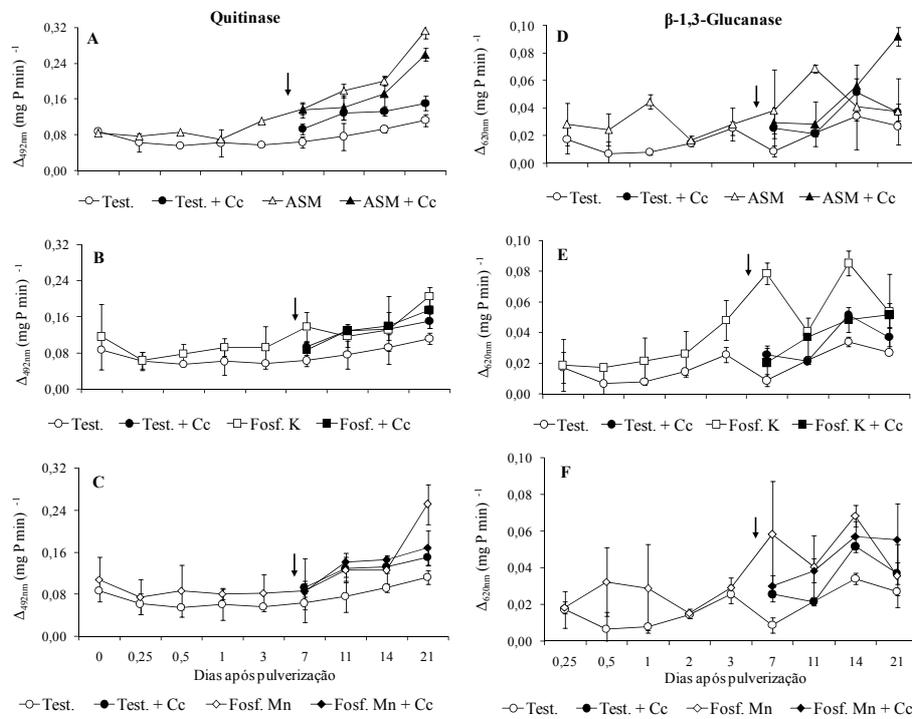


FIGURA 2 Atividade de quitinase (A, B e C) e de β -1,3-glucanase (D, E e F) em folhas de mudas de cafeeiro, após tratamentos com: ASM – acibenzolar-S-metil (A e D), fosfito de potássio (Fosf. K) (B e E) e fosfito de manganês (Fosf. Mn) (C e F), comparada com a da testemunha. Setas indicam inoculação com *C. coffeicola* (Cc), 6 dias após pulverização. Barras indicam desvio padrão da média.

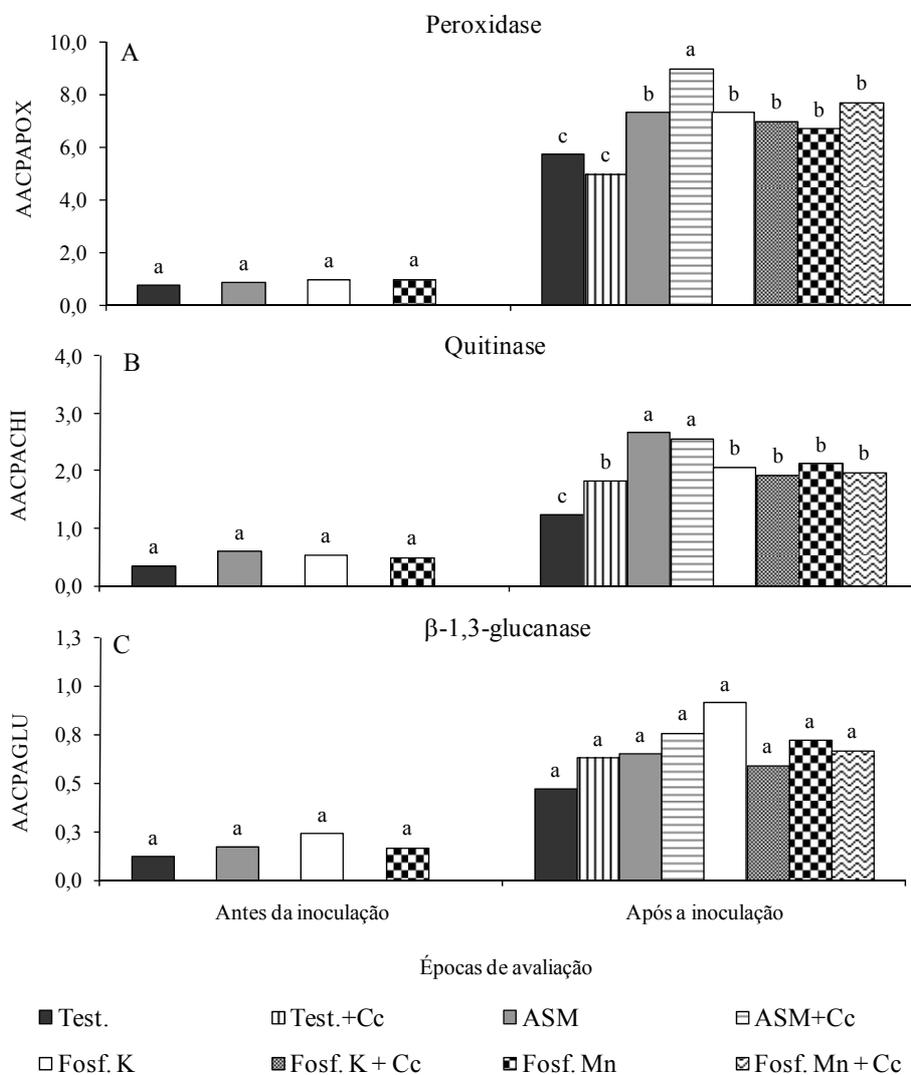


FIGURA 3 Área abaixo da curva do progresso da atividade de: peroxidase de guaiacol (AACPAPOX) (A), quitinase (AACPACHI) (B) e de β -1,3-glucanase (AACPAGLU) (C), após tratamentos com: ASM – acibenzolar-S-metil, fosfito de potássio (Fosf. K) e fosfito de manganês (Fosf. Mn), comparada com a da testemunha. “Cc” indica inoculação com *Cercospora coffeicola* 6 dias após pulverização. Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

3.3 Lignina e fenóis totais

Os produtos testados, ASM, fosfito de potássio e de manganês, não proporcionaram aumento significativo para o teor de lignina solúvel em ácido no período de avaliação (Figura 3). Comportamento também observado para a área abaixo da curva do progresso do teor de lignina (AACPTL), pois nenhum tratamento apresentou diferença significativa da testemunha (Figura 5A).

Deposição de compostos fenólicos, lignina e calose está relacionada com componentes estruturais das reações de defesa de plantas a patógenos (Moerschbacher et al. 1988). Mudanças suscetíveis de *Eucalyptus marginata* tratadas com fosfito e inoculadas com *P. cinnamomi* apresentaram elevada atividade das enzimas envolvidas na resposta de defesa, incluindo fenilalanina amônia liase (FAL), coumarato coenzima A ligase (4-CL), cinamil álcool desidrogenase (CAD) e, conseqüentemente, a elevada síntese de compostos fenólicos (Jackson et al., 2000). Daniel & Guest (2006) observaram, em arábdopsis cultivadas em meio contendo fosfito de potássio, 6 horas após inoculação com *P. palmivora*, acúmulo de compostos fenólicos no local de infecção e, 48 horas após a inoculação, esses compostos estavam concentrados ao redor das células infectadas. Nojosa (2003), trabalhando com fosfito de potássio, observou maior lignificação em folhas de mudas de café tratado com esse produto, sem inoculação e inoculadas com *Hemileia vastatrix*.

Para os fenóis solúveis totais observou-se, para os tratamentos com os fosfitos, maior atividade aos 11 DAP, voltando ao nível das testemunhas, tanto inoculada como não inoculada aos 14 DAP, exceto para o tratamento com o fosfito de manganês com inoculação, que continuou superior, voltando ao nível das testemunhas aos 21 DAP (Figura 4D-F). Para o tratamento com ASM, foi observado aumento no teor de fenóis também aos 11 DAP, inferior aos tratamentos com os fosfitos. O ASM seguido de inoculação apresentou teor de fenóis igual à testemunha com inoculação, enquanto o ASM sem inoculação foi

pouco superior ao da testemunha sem inoculação (Figura 4D). Analisando-se o teor de fenóis de forma acumulada, pela área abaixo da curva de progresso do teor de fenóis (AACPTF), o fosfite de manganês, seguido de inoculação, proporcionou maior área, seguido pelos demais tratamentos com fosfite. Os tratamentos ASM, ASM inoculado e a testemunha inoculada não diferiram entre si e foram superiores apenas à testemunha sem inoculação (Figura 5B).

Iriti e Faoro (2003) também observaram maior formação de lignina em função do tratamento com ASM, o que pode ser, juntamente com maior atividade das proteínas PR, um dos principais mecanismos responsáveis pela resistência do feijoeiro contra *U. Appendiculatus*. Kuhn (2007) observou que a aplicação de ASM em feijoeiro causou aumento na síntese de lignina. Segundo este autor, este fato pode estar associado à redução da severidade de *X. axonopodis* pv *phaseoli*, em casa de vegetação e de *Sclerotinia sclerotiorum*, no campo.

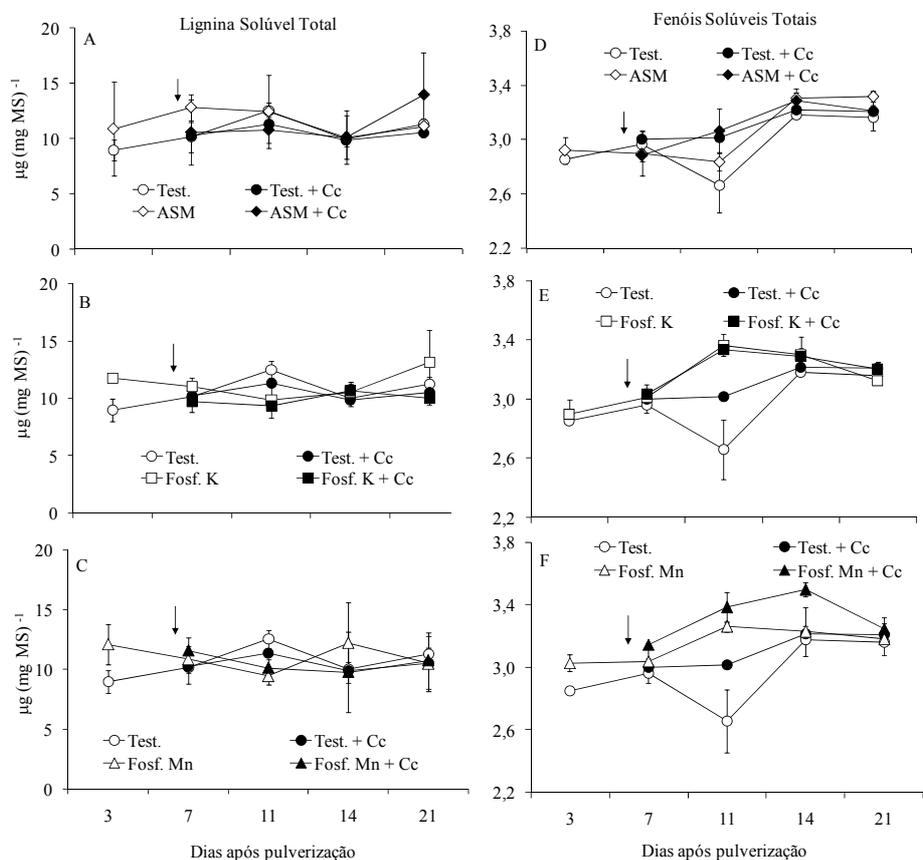


FIGURA 4 Teor de lignina solúvel total ($\mu\text{g mg}^{-1} \text{MS}^{-1}$) (A, B e C) e de fenóis solúveis totais ($\mu\text{g de catecol mg}^{-1} \text{MS}^{-1}$) (D, E e F), em folhas de mudas de cafeeiro, após tratamentos com: ASM – acibenzolar-S-metil (A e D), fosfíto de potássio (Fosf. K) (B e E) e fosfíto de manganês (Fosf. Mn) (C e F) comparado com o da testemunha. Setas indicam inoculação com *Cercospora coffeicola* (Cc), 6 dias após pulverização. Barras indicam desvio padrão da média.

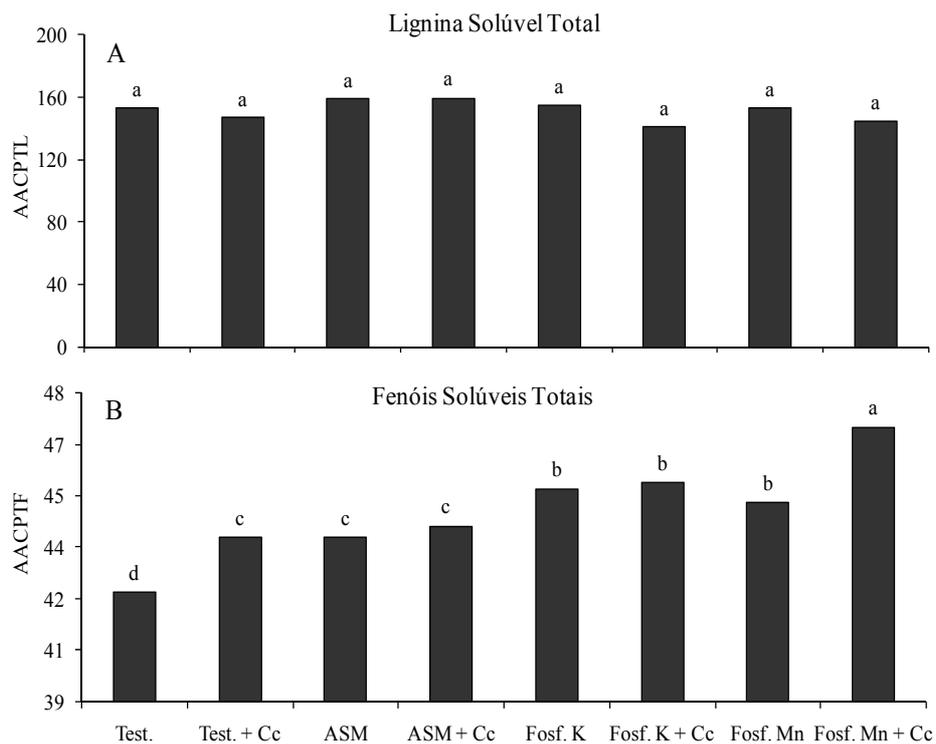


FIGURA 5 Área abaixo da curva do progresso dos teores de lignina solúvel total – AACPTL (A) e de fenóis solúveis totais (B) – AACPTF, após tratamentos com: ASM – acibenzolar-S-metil, fosfito de potássio (Fosf. K) e fosfito de manganês (Fosf. Mn), comparada com a da testemunha. “Cc” indica inoculação com *Cercospora coffeicola*, 6 dias após pulverização. Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

Compostos fenólicos são conhecidos como substâncias fungitóxicas e, em alta concentração nas células, podem ser oxidados a quinonas, constituindo-se em componentes de defesa do vegetal contra fatores externos (Nicholson & Hammerschmidt, 1992).

De Nardi et al. (2006) observaram, 16 horas após a pulverização com ASM em cafeeiro, utilizando-se o PCR quantitativo em tempo real e a técnica de microarranjo, a expressão dos genes de defesa típica da RSA. A principal resposta nas folhas foi a expressão de genes relacionados à explosão oxidativa e ao aumento de barreiras físicas e químicas (peroxidase, quitinase, lipoxigenase, glutathione-S-transferase e superóxido dismutase).

Naturalmente, mais investigações devem ser realizadas para elucidar o efeito desses produtos na ativação de repostas de defesa em cafeeiro, como o estudo de outras enzimas relacionadas com a defesa de plantas, bem como o estudo da expressão de genes que codificam para essas proteínas.

4 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que os fosfitos de potássio, manganês e o ASM promovem aumento na atividade das proteínas PR, peroxidase, quitinase e β -1, 3 glucanase, além de aumentar os teores de fenóis solúveis totais em folhas de cafeeiros.

Estas substâncias não proporcionam alteração no teor de lignina solúvel total no período de avaliação, até 21 dias após pulverização.

Os fosfitos proporcionam aumento nos teores de fenóis solúveis totais em folhas de cafeeiro superior àqueles induzidos pelo ASM.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTEROLA, A. M.; LEWIS, N. G. Trends in lignin modification: a comprehensive analysis of the effects of genetic manipulations/ mutations on lignification and vascular integrity. **Phytochemistry**, Oxford, v. 61, n. 3, p. 221-294, Oct. 2002.

BARGUIL, M. B. **Indução de resistência e reação de cultivares de *Coffea arabica* L. a *Phoma costarricensis* ECHANDI**. 2004. 64 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Washington, v. 72, n. 1/2, p. 248-254, 1976.

CAVALCANTI, F. R., RESENDE, M. L. V., OLIVEIRA, J. T., SILVEIRA, J. A.; CARVALHO, C. P. An aqueous suspension of *Crinipellis pernicioso* mycelium activates tomato defence response against *Xanthomonas vesicatoria*. **Crop Protection**, Oxford, v. 26, p.729-738, 2007.

CAVALCANTI, L. S.; BRUNELLI, K. R.; STANGARLIN, J. R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L V.; ROMEIRO, R.S. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ. 2005. p. 81-124.

CHALFOUN, S. M. **Doenças do cafeeiro**: importância, identificação e métodos de controle. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 93 p.

DANIEL, R.; GUEST, D. Defence responses induced by potassium phosphonate in *Phytophthora palmivora*-challenged *Arabidopsis thaliana*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 67, n. 3-5, p. 194–201, Sept./Dec. 2006.

DE NARDI, B.; DREOS, R.; TERRA, L.D.; MARTELLOSI, C.; ASQUINI, E.; TORNINCASA, P.; GASPERINI, D.; PACCHIONI, B.; RATHINAVELU, R.; PALLAVICINI, A. & GRAZIOSI, G. Differential responses of *Coffea arabica* L. leaves and roots to chemically induced systemic acquired resistance. **Genome**, Toronto, v. 49, n. 12, p. 1594–1605, Dec. 2006.

DOSTER, M. A.; BOSTOCK, R. M..Quantification of lignin formation in almond bark in response to wounding and infection by *Phytophthora* species. **Phytopathology**, St. Paul, v.78, n. 4, p. 473-477, Apr. 1988.

GUZZO, S. D.; HARAKAWA, 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**, Jaboticabal, v. 30, n. 3, p. 376–381, jul./set. 2004.

IRITI, M.; FAORO, F. Benzothiadiazole (BTH) induces cell-death independent resistance in *Phaseolus vulgaris* against *Uromyces appendiculatus*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 151, n. 3, p. 171-180, Mar. 2003.

JACKSON, T. J.; BURGESS, T.; COLQUHOUN, I.; HARDY, G. E. S. T. J. Action of the fungicide phosphonate on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 49, n. 1, p. 147–54, Feb. 2000.

KESSMAN, H. T.; STAUB, T.; HOFMANN, C.; MAETZKE, T.; HERZOG, J.; WARD, E.; UKNES, S.; RYALS, J. Induction of systemic acquired resistance in plants by chemicals. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 32, p. 439-459, 1994.

KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. Piracicaba, 2007. 140 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura. “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

MANSK, Z.; MATIELLO, J. B. Estudo de doses de fungicidas sistêmicos e orgânicos no controle à *Phoma* spp. em cafeeiros (*Coffea arabica* L.). CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 10., 1983, Poços de Caldas. **Anais...** Rio de Janeiro: IBC/GERBA, 1983. p. 392-393.

MOERSCHBACHER, B. M.; NOLI, U. M.; FLOTT, B. U.; REISENER, H. J. Lignin biosynthesis enzymes in stem rust infected, resistant and susceptible near-isogenic wheat lines. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 33, n. 1, p. 33–46, 1988.

NEMESTOTHY, G. S.; GUEST, D. I. Phytoalexin accumulation, phenylalanine ammonia lyase activity and ethylene biosynthesis in Foestyl-Al treated resistant and susceptible tobacco cultivars infected with *Phytophthora nicotianae* var

nicotianae. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 37, n. 3, p. 207–219, Sept. 1990.

NICHOLSON, R.L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 30, p. 369-389, 1992.

NOJOSA, G. B. A. **Efeito de indutores na resistência de *Coffea arabica* L. à *Hemileia vastatrix* BERK & BR. e *Phoma costaricensis* ECHANDI**. 2003. 102 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

NOJOSA, G. B. A.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, A. V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 139-153.

OKINAKA, Y.; MIMORI, K.; TAKEO, K.; KITAMURA, S.; TAKEUCHI, Y.; YAMAOKA, N.; YOSHIKAWA, M. A structural model for the mechanisms of elicitor release from fungal cell walls by plant [beta]-1,3-endoglucanase. **Plant Physiology**, Rockville, v.109, n. 3, p. 839-845, Nov. 1995.

PATRÍCIO, F. R. A.; ALMEIDA, I. M. G.; BARROS, B. C.; SANTOS, A. S.; FRARE, P. M. Effectiveness of acibenzolar-*S*-methyl, fungicides and antibiotics for the control of brown eye spot, bacterial blight, brown leaf spot and coffee rust in coffee. **Annual Applied Biology**, Warks, v. 152, n. 1, p. 29–39, 2008.

PEREZ, V.; MAMDOUH, A.M.; HUET, J.C.; PERNOLLET, J.C.; BOMPEIX, G. Enhanced secretion of elicitors by *Phytophthora* fungi exposed to phosphonate. **Cryptogamie Mycologie**, Paris, v. 16, n. 3, p. 191–194, Sept. 1995.

PIETERSE, C. M. J.; TON, J.; VAN LOON, L. C. Cross-talk between plant defense signaling pathways: boost or burden? **AgBiotechNet**, Wallingford, v. 3, p. 1-8, 2001.

RASMUSSEN, C.B.; DUNFORD, H.B.; WELINDER, K.G. Rate enhancement of compound I formation of barley peroxidase by ferulic acid, caffeic acid, and coniferyl alcohol. **Biochemistry**, Oxford, v. 34, n. 12, p. 4022–4029, Mar. 1995.

RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; RESENDE, M.L.V.; PEREIRA, R.B.; CAVALCANTI, F.R.; AMARAL, D.R.; PÁDUA, M.A. Fosfíto de potássio na indução de resistência a *Verticillium dahliae* Kleb., em mudas de cacaueteiro (*Theobroma cacao* L.). **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 629-636, jul./ago. 2006

SHANER, G.; FINNEY, R. F. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v. 67, n. 8, p. 1051-1056, Aug. 1977.

SOYLU, S., BAYSAL, O.; SOYLU, E. M. Induction of disease resistance by the plant activator, acibenzolar-S-methyl (ASM), against bacterial canker (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*) in tomato seedlings. **Plant Science**, Limerick, v. 165, n. 5, p.1069-1075, Nov. 2003.

SPANOS, G. A.; WROLSTAD, R. E. Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. **Journal of Agricultural & Food Chemistry**, Washington, v. 38, n. 7, p. 1565-1571, July 1990.

URBANEK, H.; KUZNIAK-GEBAROWSKA, E.; HERKA, H. Elicitation of defence responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. **Acta Physiologiae Plantarum**, Varsóvia, v. 13, n. 1, p. 43-50, 1991.

VAN LOON, L. C. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 103, n. 9, p.753-765, Dec. 1997.

WIRTH, S. J.; WOLF, G. A. Dye-labelled substrates for the assay and detection of chitinase and lysozyme activity. **Journal of Microbiological Methods**, Amsterdam, v. 12, n. 3/4, p. 197-205, Dec. 1990.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R. Estratégias múltiplas no manejo integrado de doenças do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, 137-153. 2003. Suplemento.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de insumos contendo fosfitos tem ganhado importância no manejo de doenças de plantas por sua capacidade de atuar diretamente sobre os patógenos e pela capacidade de ativar respostas de defesas induzidas em plantas. Devido a isso, podem ser utilizados no manejo de doenças de plantas, isoladamente, ou até mesmo aplicá-los em alternância com fungicidas ou mesmo em mistura na própria calda. Para tanto, mais estudos devem ser realizados com o intuito de se avaliar a compatibilidade destes com os fungicidas.

Estudos indicam a eficácia de fosfitos no controle da mancha de Phoma e no presente estudo, controle parcial da ferrugem e cercosporiose do cafeeiro em campo e cercosporiose em mudas. No entanto, o efeito de fosfitos em outras importantes doenças do cafeeiro deve ser estudado, como aquelas causadas por fungos do complexo *Colletotrichum*.

O estudo da indução de resistência proporcionada pelos fosfitos deve ter continuidade. Para tanto, podem-se fazer mais estudos para se avaliar o efeito desta molécula na fisiologia do cafeeiro, bem como estudar outras enzimas relacionadas à defesa de plantas e também estudar a expressão de genes que codificam para as principais proteínas relacionadas com a defesa contra estes patógenos.

A exploração dos mecanismos de defesa endógenos das plantas para o controle de doenças associado à ação tóxica direta a patógenos, torna os fosfitos uma boa alternativa no controle de doenças de plantas. Além disso, os fosfitos, sendo menos tóxicos ao ambiente e ao homem, certamente contribuirão para a produção de alimentos de melhor qualidade que serão oferecidos ao consumidor.