



Bragantia

ISSN: 0006-8705

editor@iac.sp.gov.br

Instituto Agronômico de Campinas

Brasil

Nogueira de Moura Guerra, Antonia Mirian; Ávila Rodrigues, Fabrício; Berger, Paulo Geraldo; Barros, Angélica Fátima; Rodrigues, Yasmim Cristina; Costa Lima, Tricia  
Resistência do algodoeiro à ferrugem tropical potencializada pelo silício  
Bragantia, vol. 72, núm. 3, 2013, pp. 279-291  
Instituto Agronômico de Campinas  
Campinas, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90828777011>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal

Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

# Resistência do algodoeiro à ferrugem tropical potencializada pelo silício

Antonia Mirian Nogueira de Moura Guerra <sup>(1)</sup>; Fabrício Ávila Rodrigues <sup>(2)</sup>; Paulo Geraldo Berger <sup>(3\*)</sup>; Angélica Fátima Barros <sup>(2)</sup>; Yasmim Cristina Rodrigues <sup>(2)</sup>; Trícia Costa Lima <sup>(4)</sup>

<sup>(1)</sup> Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), Instituto de Biodiversidade e Florestas, 68035-110 Santarém (PA), Brasil.

<sup>(2)</sup> Universidade Federal de Viçosa (UFV), Departamento de Fitopatologia, 36570-000 Viçosa (MG), Brasil.

<sup>(3)</sup> UFV, Departamento de Fitotecnia, 36570-000 Viçosa (MG), Brasil.

<sup>(4)</sup> Universidade Estadual de Goiás (UEG), Unidade Universitária de Palmeiras de Goiás, 76190-000 Palmeiras de Goiás (GO), Brasil.

(\*) Autor correspondente: pgberger@ufv.br

Recebido: 28/mar./2013; Aceito: 27/jun./2013

## Resumo

Este trabalho teve como objetivo estudar o efeito do silício (Si) sobre componentes de resistência do algodoeiro à ferrugem tropical causada por *Phakopsora gossypii*. Plantas das cultivares BRS Buriti e FM 993 cresceram em solução nutritiva contendo zero (-Si) ou 2 mmol Si L<sup>-1</sup> (+Si). A maior concentração foliar de Si aumentou o período de incubação e o período latente em 9% e 14,3%, respectivamente, reduziu a área pustular, a área abaixo da curva de progresso da ferrugem e a área abaixo da curva de progresso da área da pústula em 27,5%, 36% e 22%, respectivamente. Nas plantas das cultivares BRS Buriti e FM 993 supridas com Si houve redução no número de pústulas em 70% e 30% e no número de urédias em 40,3% e 19,5%, respectivamente. A concentração de compostos fenólicos nas plantas da cultivar BRS Buriti supridas com Si aumentou até os 10 dai e, para a cultivar FM993, até os 30 dai. A concentração de derivados da lignina-ácido tioglicólico aumentou depois dos 20 dai para as duas cultivares supridas com Si. Atividade da peroxidase aumentou até os 25 dai e os 10 dai para as plantas das cultivares BRS Buriti e FM 993 supridas com Si, respectivamente. A atividade da quitinase aumentou até 10 dai para as plantas da cultivar BRS Buriti e aos 10 e 20 dai para as plantas da cultivar supridas com Si. A atividade da glucanase aumentou até os 10 dai para as plantas da cultivar BRS Buriti supridas com Si e até os 20 dai para as plantas da cultivar FM 993 supridas com Si. Em conclusão, o suprimento de Si contribuiu para aumentar a resistência do algodoeiro à ferrugem devido à maior atividade das enzimas de defesa.

**Palavras-chave:** compostos de defesa, *Phakopsora gossypii*, resistência.

## Cotton resistance to tropical rust mediated by silicon

### Abstract

The objective of this study was to examine the effect of silicon (Si) on some components of cotton resistance to tropical rust caused by *Phakopsora gossypii*. Cotton plants from cultivars BRS Buriti and FM 993 were grown in nutrient solution containing 0 (-Si) or 2 mmol Si L<sup>-1</sup> (+Si). The increase in Si concentration on leaf tissue increased the incubation period and the latent period in 9% and 14.3%, respectively and reduced the pustule area, the area under cotton leaf rust progress curve, the area under pustule progress curve by 27.5%, 36% and 22%, respectively. In +Si plants, the NP decreased by 70% and 30% and the NU by 40.3% and 19.5% for cultivars BRS Buriti and FM993, respectively. The concentration of phenolic compounds for +Si plants of cultivar BRS Buriti and FM 993 was high at 10 and 30 dai, respectively. The concentration of derivatives of lignin-thioglycolic acid increased after 20 dai for both cultivars supplied with Si. Peroxidase activity was high at 25 and 10 dai for +Si plants of cultivars BRS Buriti and FM993, respectively. Chitinase activity was high at 10 dai for +Si plants of cultivar BRS Buriti and at 10 and 20 dai for cultivar FM993. Glucanase activity was high at 10 and 20 dai for +Si plants of cultivars BRS Buriti and FM993, respectively. In conclusion, the supply of Si to cotton plants contributed to increase their resistance to rust due to the participation of the defense enzymes.

**Key words:** compounds of host defense, *Phakopsora gossypii*, resistance.

## 1. INTRODUÇÃO

A cultura do algodão (*Gossypium hirsutum* L.) é uma das mais tradicionais e de maior expressão econômica do Brasil e tem dado sinais de crescimento em termos de área cultivada nos últimos anos (FREIRE, 2011). Entretanto, uma das principais dificuldades no estabelecimento da cotonicultura em diversas regiões do Brasil e do mundo é a ocorrência de doenças. A ferrugem tropical, causada por *Phakopsora gossypii* (Arth.) Hirat., foi constatada em lavouras de algodão na região Centro-oeste do Brasil (SUASSUNA e ARAÚJO, 2003). O fungo não apresenta distribuição mundial homogênea, concentrando-se principalmente nas regiões dos trópicos (STERNE, 1981), mas de ocorrência esporádica (PNITHALINGAM, 1968). O sintoma característico da ferrugem tropical são pústulas de aspecto ferruginoso (STERNE, 1981). Os sintomas aparecem primeiramente nas folhas, principalmente nas mais velhas para as mais novas, podendo causar desfolha prematura (SUASSUNA e ARAÚJO, 2003). A ferrugem caracteriza-se por pequenos pontos de coloração vermelho-arroxeados, localizados na epiderme abaxial; as pústulas rompem a epiderme e com o decorrer do tempo liberam uma massa pulverulenta de uredosporos (BENED, 1995; SUASSUNA e ARAÚJO, 2003; STERNE, 1981).

A principal estratégia de manejo da ferrugem é o controle químico, sendo apresentado como alternativa para garantir o desenvolvimento sustentável da cultura no Cerrado, visto que a maioria das cultivares de algodão utilizadas não possuem resistência genética (SUASSUNA e ARAÚJO, 2003). É sabido que o fornecimento de silício (Si) às plantas tem contribuído de forma eficiente para o controle de doenças fúngicas em dicotiledôneas como banana, tomate, café, abóbora, pepino, videira e roseira (BÉLANGER et al., 2003; BOWEN et al., 1992; FRENCH-MONAR et al., 2010; HUANG et al., 2011; MENZIES et al., 1991; PEREIRA et al., 2009; VERMEIRE et al., 2011). Dessa forma, essa medida alternativa de controle vem ganhando cada vez mais aceitação e é promissora para os produtores considerando os enormes prejuízos que as diferentes doenças têm causado na produção das mais diversas culturas.

O Si, apesar de não ser considerado essencial para o crescimento das plantas, pode ser absorvido pelo arroz a níveis que excedem os macronutrientes (EPSTEIN, 1999). Essencial ou não, o papel do Si nas plantas tem sido cada vez mais de interesse dos pesquisadores devido aos seus inúmeros benefícios, principalmente sob condições de estresse. Do ponto de vista morfológico, a deposição e polimerização do ácido monossilícico abaixo da cutícula formam uma camada dupla de cutícula-silica (YOSHIDA, 1965) que pode impedir ou atrasar a penetração de patógenos (KIM et al., 2002). Outro mecanismo proposto é que o Si solúvel tenha um papel ativo, potencializando mecanismos de defesa das plantas com o aumento na produção de compostos fenólicos, aumento nos níveis de algumas classes de fitoalexinas e também

potencializando a ativação de alguns genes que codificam proteínas PR (CHÉRIF et al., 1994; RODRIGUES et al., 2003; 2004; 2005). No entanto, a exata natureza da interação entre o Si solúvel com as vias bioquímicas de defesa da planta permanece desconhecida.

Não existe nenhuma pesquisa publicada acerca dos efeitos do Si sobre o controle das doenças do algodoeiro, particularmente da ferrugem tropical, e sobre seus efeitos sobre os componentes de resistência do hospedeiro e os possíveis mecanismos bioquímicos envolvidos na resistência. Assim, este trabalho objetivou determinar o efeito do Si sobre alguns componentes de resistência, bem como sobre os mecanismos bioquímicos que podem estar envolvidos com o aumento da resistência do algodoeiro à ferrugem tropical.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### Preparo da solução nutritiva e crescimento das plantas de algodão

Sementes de algodão das cultivares BRS Buriti e FM 993 foram lavadas em solução de hipoclorito de sódio (10%) por dois minutos, seguidas de lavagem em água destilada por três minutos e germinadas em leito de areia lavada e autoclavada. Dez dias após a germinação, três plântulas foram transferidas para vasos plásticos de cinco litros contendo solução nutritiva de HOAGLAND e ARNON (1950) modificada, constituída de: 6,0 mmol L<sup>-1</sup> KNO<sub>3</sub>; 1,0 mmol L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 2,0 mmol L<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 4,0 mmol L<sup>-1</sup> Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; 0,3 μmol L<sup>-1</sup> CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O; 1,3 μmol L<sup>-1</sup> ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 46 μmol L<sup>-1</sup> H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 12,6 μmol L<sup>-1</sup> MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O; 0,1 μmol L<sup>-1</sup> (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O; 45 μmol L<sup>-1</sup> FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O-EDTA bissódico. O ácido monossilícico obtido pela passagem do silicato de potássio através de uma coluna contendo resina trocadora de cátions (Amberlite IRA 410) (MA e TAKAHASHI, 2002) foi adicionado à solução nutritiva nas concentrações de zero (-Si) e 2 mmol Si L<sup>-1</sup> (+Si). Foi utilizada solução nutritiva a meia força iônica incluindo a adição ou não do ácido monossilícico. Após sete dias, a concentração da solução utilizada foi modificada para força total. A solução nutritiva foi aerada, trocada a cada quatro dias e o pH foi verificado diariamente e mantido entre 5,5 e 6,0.

### Obtenção do inóculo de *P. gossypii* e inoculação das plantas

O inóculo de *P. gossypii* foi obtido de plantas de algodão doentes coletadas em Viçosa (MG), 20°45'14"S; 42°52'55"W, 649 m. As folhas contendo pústulas de *P. gossypii* foram lavadas com água destilada com auxílio de um pincel para uma melhor retirada dos uredosporos e, posteriormente,

a suspensão obtida foi filtrada em gazes para a retirada de impurezas. A suspensão resultante foi homogeneizada e ajustada para a concentração de  $2,5 \times 10^5$  uredosporos de *P. gossypii* mL<sup>-1</sup>. Tween 20 (0,1 mL 100 mL<sup>-1</sup> de suspensão) e gelatina foram adicionados à suspensão (1% p/v) para aumentar a aderência dos uredosporos à superfície foliar. Plantas de algodoeiro no estágio V4 (30 dias após transplântio) (MARUR e RUANO, 2001) foram inoculadas com a suspensão de uredosporos. As plantas de cada vaso receberam 30 mL da suspensão de uredosporos. Após a inoculação, as plantas foram transferidas para câmara de nevoeiro a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  e umidade relativa de  $90 \pm 5\%$  com fluxo contínuo de luz por 24 h e, em seguida, transferidas para câmara de crescimento com temperatura ambiente e umidade relativa de  $50 \pm 5\%$ , onde permaneceram até o final das avaliações.

### Quantificação dos componentes de resistência

Os seguintes componentes de resistência foram avaliados: período de incubação (PI), período latente ( $PL_{60}$ ), incidência (I), número de pústulas (NP), número de urédias (NU), severidade final, área pustular (AP), foi calculada a área abaixo da curva do progresso da ferrugem (AACPF) e a área abaixo da curva de progresso da área da pústula (AACPP), conforme modelo proposto por SHANER e FINNEY (1977). Em cada planta foram marcadas três folhas usadas para avaliar os componentes de resistência. O aparecimento dos sintomas da ferrugem em cada folha marcada foi avaliado a cada 24 h a partir do 5º dia após inoculação (dai). A incidência de plantas com sintomas da ferrugem, em porcentagem, foi avaliada no décimo dai. Dez urédias em cada folha marcada foram selecionadas aleatoriamente e examinadas a cada 24 h com uma lupa de bolso (30×) para determinar o início da esporulação. O  $PL_{60}$  ocorreu quando 60% das urédias marcadas e examinadas apresentavam liberação de uredosporos. A severidade e a área pustular foram avaliadas a partir do 15º dai e depois a cada cinco dias até o 35º dai. Para a severidade, foram dadas notas com relação a porcentagem da área foliar afetada pela ferrugem. A área pustular foi avaliada medindo-se cinco pústulas selecionadas em cada folha com paquímetro digital. A área abaixo da curva do progresso da ferrugem (AACPF) e a área abaixo da curva do progresso da área pustular (AACPP) foram calculadas usando-se a integração trapezoidal das curvas de progresso da severidade da ferrugem e da área pustular, respectivamente, seguindo a fórmula proposta por SHANER e FINNEY (1977). No 35º dai, as folhas marcadas foram coletadas e, com uma lupa, numa área de 1 cm<sup>2</sup>, foram contados o número de urédias e de pústulas. Foram realizadas duas contagens, uma de cada lado da folha.

### Determinação da concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFST)

Amostras de folhas foram coletadas em nitrogênio líquido e imediatamente armazenadas em ultrafreezer a  $-80^\circ\text{C}$  até a análise. Amostras de 0,1 g foram maceradas em nitrogênio líquido. O macerado foi homogeneizado com 1,5 mL de metanol 80% e extraído durante 12 h em mesa agitadora orbital (150 rpm), a temperatura ambiente ( $\sim 25^\circ\text{C}$ ). Os tubos foram cobertos com papel alumínio para proteger o extrato metanólico da oxidação pela luz. O extrato metanólico verde escuro foi centrifugado a 12.000 g por 5 min e, após centrifugação, o sobrenadante foi transferido para um novo tubo e o resíduo mantido a  $-80^\circ\text{C}$ , para determinação da concentração dos derivados da lignina-ácido tioglicólico. A metodologia proposta por ZIESLIN e BEN-ZAKEN (1993), com algumas modificações, foi usada para determinação da concentração de CFST. Adicionaram-se 150 µL do reagente Folin & Ciocalteu's Phenol 0,25 M (Sigma-Aldrich, São Paulo, SP, Brasil) a 150 µL do extrato metanólico. A mistura foi homogeneizada e mantida a temperatura ambiente ( $\sim 25^\circ\text{C}$ ) por 5 min. Posteriormente, 150 µL de carbonato de sódio 1 M foram adicionados à mistura, a qual foi homogeneizada novamente e mantida a temperatura ambiente. Após 10 min, adicionou-se 1 mL de água destilada à mistura, que permaneceu em temperatura ambiente ( $\sim 25^\circ\text{C}$ ) por 30 min. A absorbância das amostras foi medida a 725 nm. A concentração de CFST foi expressa em mg de compostos fenólicos (expresso em catecol) por kg de folha fresca.

### Determinação da concentração dos derivados da lignina-ácido tioglicólico (DLATG)

Adicionou-se 1,5 mL de água estéril ao resíduo obtido após a extração dos CFST. Após a homogeneização, a mistura foi centrifugada a 12.000 g por 5 min. O sobrenadante foi descartado e o resíduo foi seco a  $65^\circ\text{C}$  por  $\sim 12$  h. O resíduo alcoólico-insolúvel seco, contendo lignina e ácidos fenólicos associados à parede celular, foi usado para determinação de lignina de acordo com a metodologia de BARBER e RIDE (1988). Um volume de 1,5 mL da solução de ácido tioglicólico (Sigma-Aldrich, São Paulo, SP, Brasil) e HCl 2 N (1:10) foram adicionados ao resíduo seco. Os tubos foram levemente agitados para hidratar o resíduo e, em seguida, foram colocados em banho-maria ( $100^\circ\text{C}$ ). Após 4 h, os tubos foram colocados no gelo por dez minutos. A mistura foi centrifugada a 12.000 g por 10 min, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi lavado com 1,5 mL de água destilada estéril e a seguir centrifugado a 10.000 g por 10 min. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspendido em 1,5 mL de NaOH 0,5 M. A mistura foi agitada em mesa agitadora orbital (150 rpm),

a temperatura ambiente ( $\sim 25^{\circ}\text{C}$ ) por 12 h. A mistura foi centrifugada a 10.000 g por 10 min e o sobrenadante foi transferido para um novo tubo. Após a adição de 200  $\mu\text{L}$  de HCL concentrado ao sobrenadante, os tubos foram transferidos para uma bandeja com gelo e mantidos na geladeira ( $4^{\circ}\text{C}$ ) por 4 h para precipitação dos DLATG. Após a centrifugação a 10.000 g por 10 min, o sobrenadante foi descartado e o precipitado, de cor laranja-amarronzada, foi dissolvido em 2 mL de NaOH 0,5 M. A leitura da absorbância foi realizada a 290 nm. A concentração dos DLATG foi expressa em  $\text{mg kg}^{-1}$  de folha fresca utilizando-se uma curva padrão obtida com diferentes concentrações de lignina alcalina, éter 2-hidroxipropil (Sigma-Aldrich, São Paulo, SP, Brasil).

### Determinação da atividade de enzimas de defesa

Amostras da folha índice das plantas foram coletadas aos 10, 15, 20, 25, 30 e 35 dai. Amostras de folhas coletadas de plantas não inoculadas (0 h) com *P. gossypii* serviram como controle. As amostras foram mantidas em nitrogênio líquido durante a coleta e armazenadas em ultrafreezer à  $-80^{\circ}\text{C}$  até serem analisadas.

Atividade de peroxidases (POX, EC 1.11.1.7): o extrato enzimático foi obtido pela maceração de 0,2 g de folhas em nitrogênio líquido seguida de homogeneização em 2 mL do meio de extração composto de 0,1 M tampão fosfato de potássio (pH 6,8), 1 mM fenilmetilsulfonilflúor (PMSF), 0,1 mM ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e 200 mg de polivinilpolipirrolidona (PVPP). O homogeneizado foi centrifugado a 12.000 g por 15 min a  $4^{\circ}\text{C}$  e o sobrenadante foi utilizado no ensaio enzimático. A atividade da POX foi determinada conforme metodologias propostas por CHANCE e MAEHLEY (1955) e KAR e MISHRA (1976). No ensaio colorimétrico, utilizou-se pirogalol e peróxido de hidrogênio como substratos. Para a reação foram adicionados 340  $\mu\text{L}$  de água destilada, 250  $\mu\text{L}$  do tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 6,8), 200  $\mu\text{L}$  de pirogalol 100 mM, 200  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio 100 mM e 10  $\mu\text{L}$  do extrato. As leituras de absorbância foram realizadas a 420 nm a cada 10 s durante um minuto. A atividade da POX foi medida utilizando-se para os cálculos o coeficiente de extinção molar  $2,47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (CHANCE e MAEHLEY, 1955).

Atividade de polifenoloxidasas (PPO, EC 1.10.3.1): a obtenção do extrato enzimático foi feita da mesma forma que para a POX. A atividade da PPO foi determinada conforme metodologias propostas por CHANCE e MAEHLEY (1955) e KAR e MISHRA (1976). No ensaio colorimétrico, utilizou-se o pirogalol a 100 mM como substrato. A reação foi composta por 520  $\mu\text{L}$  de água destilada, 250  $\mu\text{L}$  do tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 6,8), 200  $\mu\text{L}$  de pirogalol 100 mM e 30  $\mu\text{L}$  do extrato. As leituras de absorbância foram realizadas a 420 nm a cada 10 s durante um minuto.

A atividade da enzima foi medida utilizando-se para os cálculos o coeficiente de extinção molar de  $2,47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (CHANCE e MAEHLEY, 1955).

Atividade de quitinases (QUI, EC 3.2.1.14): o extrato enzimático foi obtido pela maceração de 0,2 g de folhas em nitrogênio líquido seguida de homogeneização em 2 mL do meio de extração composto de tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 6,5), 1 mM PMSF e 200 mg de PVPP. O homogeneizado foi centrifugado a 20.000 g por 25 min a  $4^{\circ}\text{C}$  e o sobrenadante foi utilizado no ensaio enzimático. A determinação da atividade da QUI foi conforme metodologia proposta por ROBERTS e SELITRENNIKOFF (1988), modificada por HARMAN et al. (1993), utilizando-se como substrato o p-nitrofenil- $\beta$ -D-N-N'-diacetilquitobiose (PNP) (Sigma-Aldrich, São Paulo, SP, Brasil). O meio de reação foi composto por 470  $\mu\text{L}$  de tampão acetato de sódio 50 mM (pH 5,0), 10  $\mu\text{L}$  de PNP a  $2 \text{ mg mL}^{-1}$  e 20  $\mu\text{L}$  do extrato vegetal, incubado a  $37^{\circ}\text{C}$  por 2 h. A reação foi parada acrescentando-se 500  $\mu\text{L}$  de acetato de sódio de 50 mM (pH 5,0). As leituras de absorbância foram realizadas a 410 nm. Foi utilizado para o cálculo o coeficiente de extinção molar de  $7 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

Atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases (GLU, EC 3.2.1.6): o extrato enzimático foi obtido da mesma forma que para a QUI. A atividade da GLU foi determinada conforme metodologia descrita por LEVER (1972) com algumas modificações. O ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) foi usado em substituição à hidrazida do ácido p-hidroxibenzóico. O meio de reação foi constituído de 230  $\mu\text{L}$  de tampão acetato de sódio 100 mM (pH 5,0), 250  $\mu\text{L}$  da solução de substrato da laminarina ( $4 \text{ mg mL}^{-1}$ ) e 20  $\mu\text{L}$  do extrato vegetal, incubado a  $45^{\circ}\text{C}$  por 30 min. Após esse período acrescentaram-se ao meio de reação 500  $\mu\text{L}$  de DNS e em seguida essa mistura foi aquecida a  $100^{\circ}\text{C}$  por 5 min. Após o resfriamento em gelo até a temperatura de  $30^{\circ}\text{C}$ , as amostras tiveram absorbância determinada a 540 nm.

A concentração de proteínas utilizada para o cálculo da atividade das enzimas foi obtida pelo método de BRADFORD (1976) usando albumina sérica bovina como padrão.

### Determinação da concentração foliar de Si

Ao 35º dai, as folhas das plantas avaliadas no experimento sobre componentes de resistência foram coletadas, lavadas em água destilada e secas em estufa com ventilação forçada de ar a  $70^{\circ}\text{C}$  até atingir peso constante. Posteriormente, as folhas foram trituradas em moinho tipo Thomas-Wiley (Thomas Scientific, Swedesboro, NJ), equipado com peneira de 20 mesh para determinação da concentração foliar de Si conforme proposto por KORNDÖRFER et al. (2004).

Coleta de amostras de folhas para microscopia eletrônica de varredura: para as análises microscópicas foram coletados aos 35 dai dez fragmentos ( $\sim 25 \text{ mm}^2$ ) de folhas. Os fragmentos foram transferidos para vidros contendo fixativo glutaraldeído

2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (pH 7,2) e armazenados em geladeira. Após 15 dias, os fragmentos foram lavados com tampão cacodilato de sódio por quatro vezes durante 10 min cada e desidratados em uma série alcoólica de 30%, 50% e 70%, com intervalos de 15 min entre as trocas, sendo realizadas três passagens na última concentração no mesmo intervalo de tempo. As amostras foram pós-fixadas durante duas horas a temperatura ambiente com tetróxido de ósmio a 1% em tampão cacodilato de sódio 0,1 M (pH 7,2). Após uma nova desidratação em uma série alcoólica de 80%, 95% e 100%, os fragmentos foram submetidos à secagem no ponto crítico (Balzers, modelo CPD020) e as amostras foram montadas sobre suportes metálicos de alumínio previamente cobertos com fita adesiva dupla face. Em seguida, os fragmentos foram cobertos com ouro por meio de metalização no aparelho SputterCoater acoplado a um FreezingDrying Unit (Balzers, FDU010) e, posteriormente, observados no microscópio eletrônico de varredura (LEO, modelo 1430VP) operado a 10 Kv para obtenção das eletromicrografias.

### Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2 com seis repetições, exceto para a coleta de material para análises enzimáticas, realizada com quatro repetições. Os fatores estudados foram duas cultivares de algodão (BRS Buriti e FM 993) e duas doses de Si (0 e 2 mmol Si L<sup>-1</sup>). Cada unidade experimental foi composta por um vaso plástico contendo cinco plantas de algodão. Os dados obtidos para cada variável foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste-*t* ( $p \leq 0,05$ ), a interação doses de silício x cultivares foi comparada pelo teste Tukey ( $p \leq 0,05$ ) utilizando-se o SAS versão 6.12 (SAS Institute, Inc., Cary, NC). A concentração de Si nos tecidos

foliares foi correlacionada com os componentes de resistência do hospedeiro.

## 3. RESULTADOS

### Componentes de resistência do algodoeiro à ferrugem tropical

O fator doses de Si foi significativo ( $p \leq 0,05$ ) para o PI, PL<sub>60</sub>, I, SF, AP, AACPF, AACPAP e concentração foliar de Si. Houve aumento de 9% e 14,3% para PI e PL<sub>60</sub>, respectivamente, para o tratamento +Si em relação ao tratamento -Si (Tabela 1). A I, SF, AP, AACPF e AACPAP foram reduzidas significativamente ( $p \leq 0,05$ ) em 86, 49, 27,5, 36 e 22 para o tratamento +Si em relação ao tratamento -Si (Tabela 1). A concentração foliar de Si aumentou em 85% para o tratamento +Si em relação ao tratamento -Si (Tabela 1). O fator cultivares não foi significativo ( $p > 0,05$ ) para nenhum dos componentes de resistência estudados (Tabela 1).

A interação doses de silício x cultivares foi significativa ( $p \leq 0,05$ ) para NU e NP (Tabela 2). O NP foi reduzido significativamente ( $p \leq 0,05$ ) em 70% e 30% nas cultivares BRS Buriti e FM 993, respectivamente, para o tratamento +Si em relação ao tratamento -Si (Tabela 2). Para o NU houve redução de 40,3% e 19,5% nas cultivares BRS Buriti e FM 993, respectivamente, para o tratamento +Si em relação ao tratamento -Si (Tabela 2).

### Correlação de Pearson

A correlação concentração foliar de Si com PI e PL<sub>60</sub> foi significativa pelo teste F e positiva ( $r = 0,42$  e  $0,71$ ,  $p \leq 0,01$ , respectivamente) e significativa e negativa para I, SF, AP, AACPF, AACPAP, NP e NU ( $r = -0,41$ ;  $-0,56$ ;  $-0,47$ ;  $-0,46$ ;  $-0,48$ ;  $-0,69$  e  $-0,83$ ,  $p \leq 0,01$ , respectivamente).

**Tabela 1.** Período de incubação (PI), período latente (PL<sub>60</sub>), incidência (I), severidade final (SF), área da pústula (AP), área abaixo da curva de progresso da ferrugem (AACPF), área abaixo da curva de progresso da área da pústula (AACPAP) e concentração foliar de Si em folhas de plantas de algodão das cultivares BRS Buriti e FM 993 crescidas em solução nutritiva contendo (+Si) ou não (-Si) silício (Si) e infectadas por *Phakopsora gossypii*

Fatores	Variáveis								
	Silício	PI (dias)	PL <sub>60</sub> (dias)	I (%)	SF (%)	AP (mm <sup>2</sup> )	AACPF	AACPAP	Si (%)
-Si		11,52	19,98	13,21	14,73	7,15	95,72	60,67	0,09
+Si		12,54	22,83	1,83	7,53	5,18	61,19	47,29	0,59
Teste-t		0,07*	0,07*	9,52*	4,18*	1,49*	25,80*	8,55*	0,09*
Cultivares									
BRS Buriti		11,79	21,53	8,63	12,19	6,47	87,27	56,77	0,36
FM 993		12,28	21,28	6,42	10,07	6,13	69,65	51,18	0,31
Teste-t		0,07 <sup>ns</sup>	0,76 <sup>ns</sup>	9,94 <sup>ns</sup>	4,17 <sup>ns</sup>	1,56 <sup>ns</sup>	24,98 <sup>ns</sup>	8,41 <sup>ns</sup>	0,24 <sup>ns</sup>
C.V. (%)		7,03	4,17	55,14	43,98	29,05	37,40	18,34	30,44

C.V. = coeficiente de variação; <sup>ns</sup>: não significativo; \* $p \leq 0,05$ : significativo a 5% de probabilidade pelo teste-*t*

## Desenvolvimento da ferrugem tropical

O número de urédias por pústula nas folhas das duas cultivares que não receberam Si foi maior ( $35,53 \pm 0,56$  e  $56,18 \pm 0,56$  para as cultivares BRS Buriti e FM 993, respectivamente) (Figura 1a,b). Nas plantas que receberam Si, o número de urédias por pústula foi reduzido ( $14,33 \pm 0,56$  e  $10,98 \pm 0,56$

**Tabela 2.** Número de pústulas (NP) e número de urédias (NU) por  $\text{cm}^2$  em folhas das plantas de algodão das cultivares BRS Buriti e FM 993 crescidas em solução nutritiva contendo (+Si) ou não (-Si) silício (Si) e infectadas por *Phakopsora gossypii*

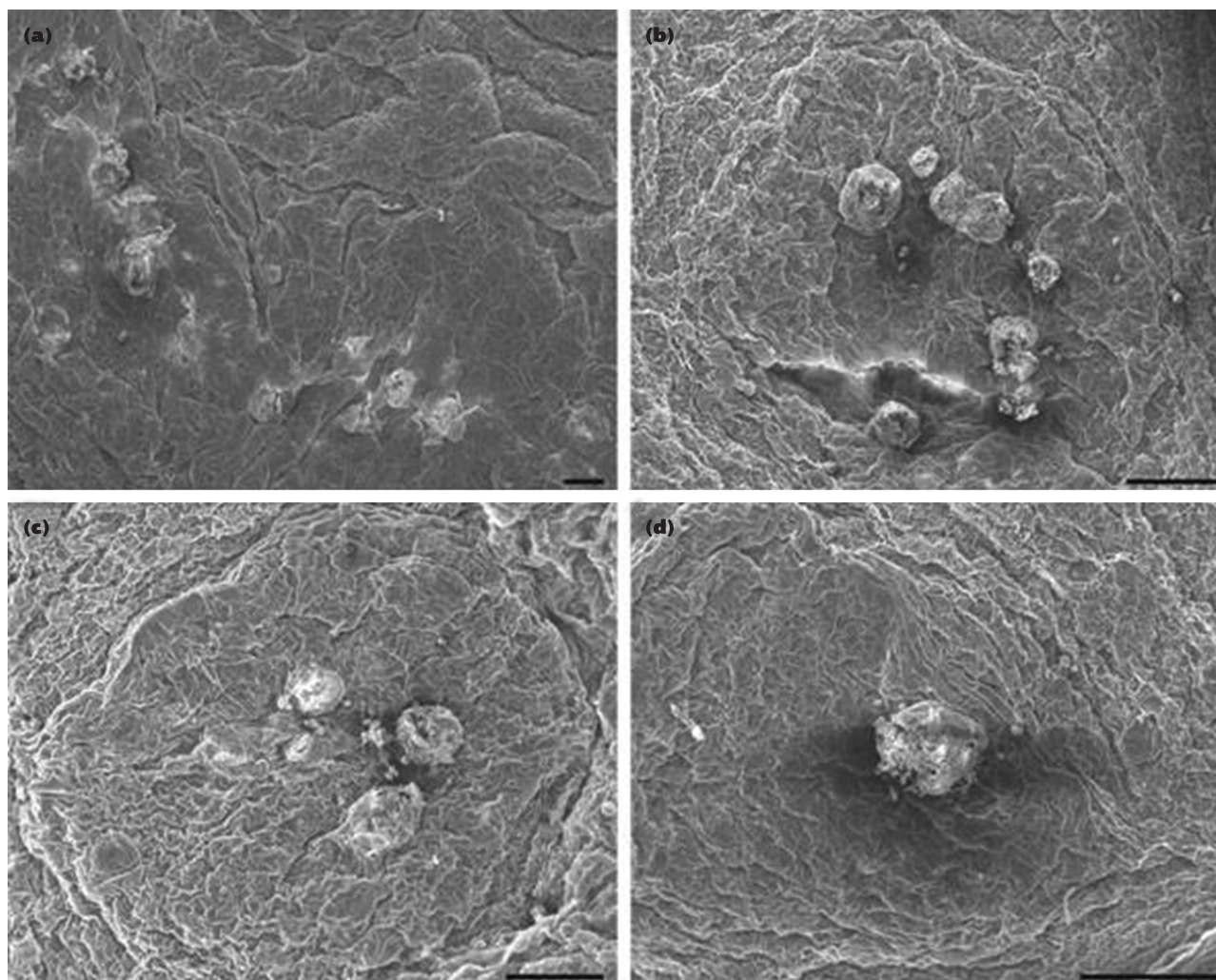
Cultivares	NP		NU	
	-Si	+Si	-Si	+Si
BRS Buriti	8,17 Ba	5,73 Ab	35,53 Ba	14,33 Ab
FM 993	15,22 Aa	4,58 Bb	56,18 Aa	10,98 Bb
C.V. (%)	9,00		4,68	

Médias na mesma coluna seguidas de mesma letra maiúscula ou médias na linha seguidas de mesma letra minúscula são estatisticamente iguais ( $p \leq 0,05$ ), de acordo com o teste de Tukey; C.V. = coeficiente de variação

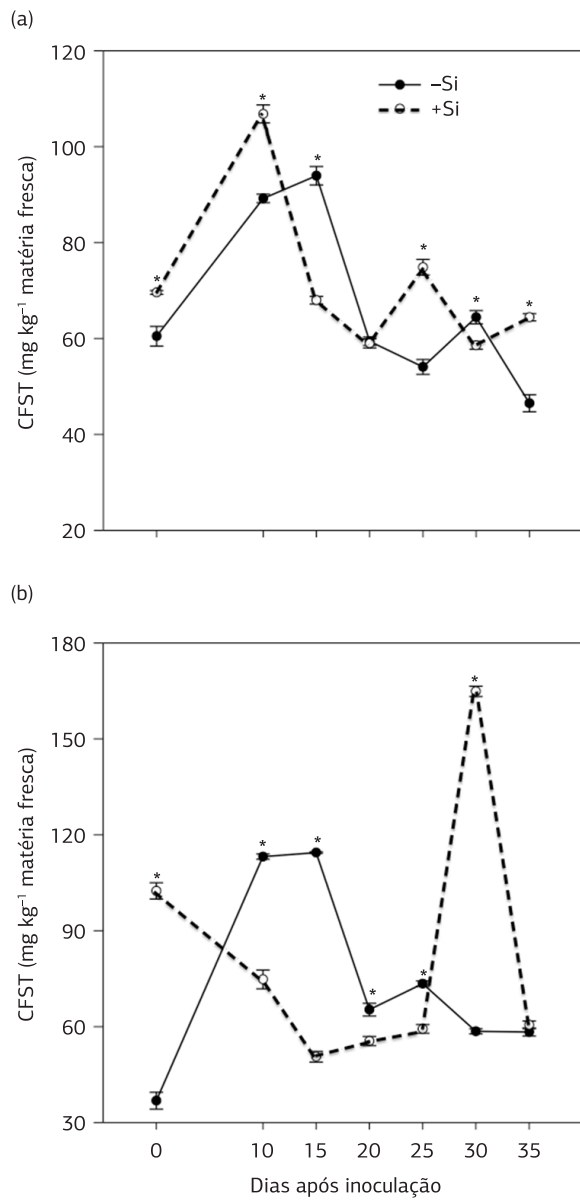
para as cultivares BRS Buriti e FM 993, respectivamente) (Figura 1c,d).

## Concentração de CFST

A concentração de CFST para as plantas da cultivar BRS Buriti supridas com Si apresentou um aumento até 10 dai, seguida de redução até 20 dai. Aos 25 dai ocorreu aumento (Figura 2a). A concentração em plantas da cultivar FM 993 supridas com Si decresceu até os 15 dai e posteriormente aumentou até os 30 dai, seguindo-se um decréscimo aos 35 dai (Figura 2b). Diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos +Si e -Si ocorreram aos 0, 10, 25 e 35 dai para a cultivar BRS Buriti, sendo esses aumentos de 15%, 19%, 38% e 38,5%, respectivamente. Aos 0 e 30 dai ocorreram aumentos significativos entre os tratamentos +Si e -Si para a cultivar FM 993, sendo os aumentos de 178% e 181%, respectivamente.



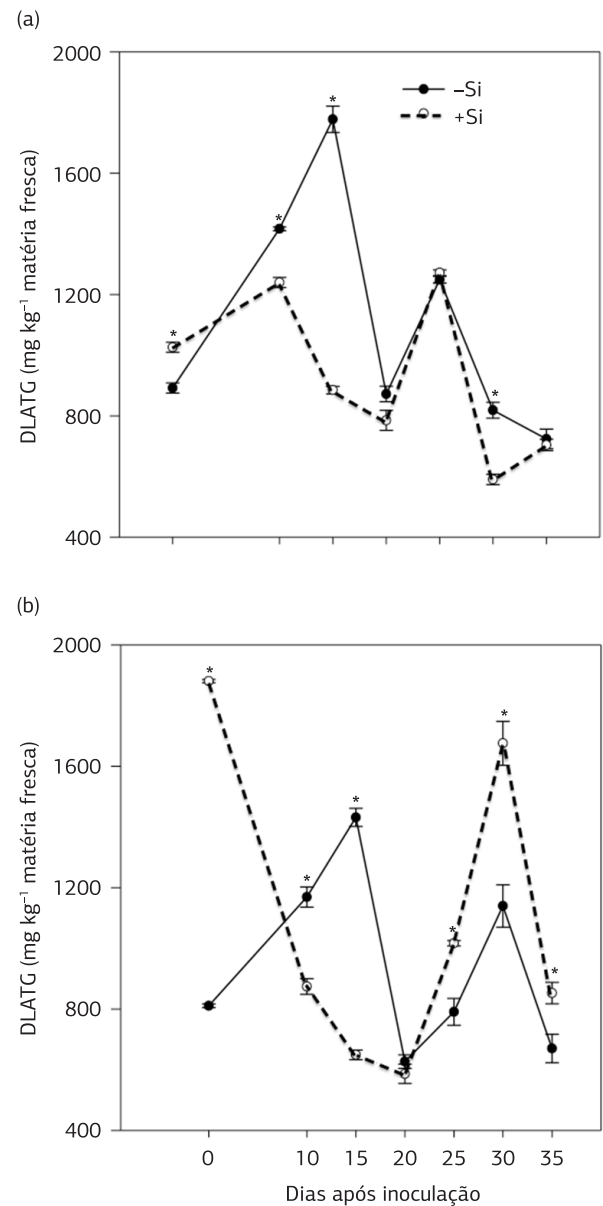
**Figura 1.** Eletromicrografias de varredura da superfície abaxial de folhas de algodão das cultivares BRS Buriti (a, c) e FM 993 (b, d) crescidas em solução nutritiva sem (a, b) ou com (c, d) silício aos 35 dias após inoculação com *Phakopsora gossypii*; barras em a = 100  $\mu\text{m}$ ; b, c = 200  $\mu\text{m}$ ; d = 300  $\mu\text{m}$ .



**Figura 2.** Concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFST) em folhas de plantas de algodão das cultivares BRS Buriti (a) e FM 993 (b) crescidas em solução nutritiva contendo (+Si) ou não (-Si) silício (Si) e infectadas por *Phakopsora gossypii*; cada ponto representa a média de quatro repetições; barras de erros representam o desvio padrão da média; médias dos tratamentos -Si e +Si seguidas de asterisco (\*) são diferentes ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste-*t*.

### Concentração de DLATG

A cultivar BRS Buriti suprida com Si apresentou aumento na concentração de DLATG de modo bifásico, o primeiro até os 10 dai e o segundo aos 25 dai (Figura 3a). A cultivar FM 993 suprida com Si apresentou decréscimo até os 20 dai, seguido de aumentos até os 30 dai (Figura 3b). Diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos +Si e -Si ocorreu apenas aos 0 dai para a cultivar BRS Buriti, sendo



**Figura 3.** Concentração dos derivados da lignina-ácido tioglicólico (DLATG) em folhas de plantas de algodão das cultivares BRS Buriti (a) e FM 993 (b) crescidas em solução nutritiva contendo (+Si) ou não (-Si) silício (Si) e infectadas por *Phakopsora gossypii*; cada ponto representa a média de quatro repetições; barras de erros representam o desvio padrão da média; médias dos tratamentos -Si e +Si seguidas de asterisco (\*) são diferentes ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste-*t*.

esse aumento de 15%. Para a cultivar FM 993 ocorreram diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos +Si e -Si aos 0, 25, 30 e 35 dai, de 132%, 28%, 47% e 27%, respectivamente.

### Atividade enzimática

A atividade da POX na cultivar BRS Buriti suprida com Si mostrou aumentos até os 25 dai, seguidos de um decréscimo

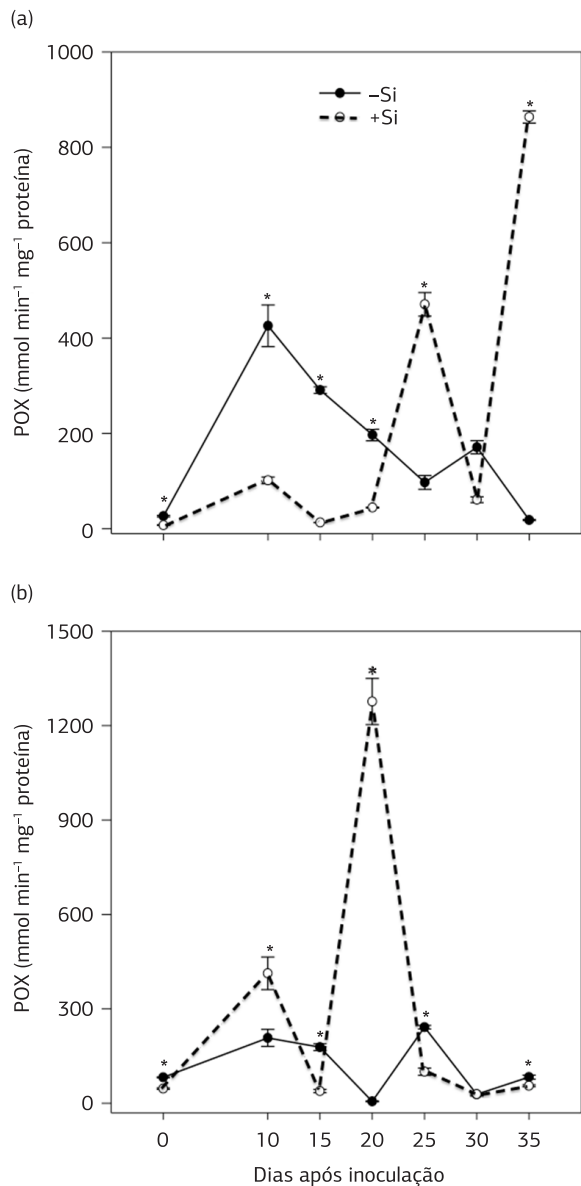


aos 30 dai e de outro aumento aos 35 dai. Houve aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) na atividade da POX aos 25 e 35 dai (Figura 4a). Na cultivar FM 993 suprida com Si houve aumento na atividade da POX até os 10 dai e aos 20 dai, seguido de decréscimo até os 35 dai. Houve aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) aos 10 e 20 dai entre os tratamentos +Si e -Si (Figura 4b).

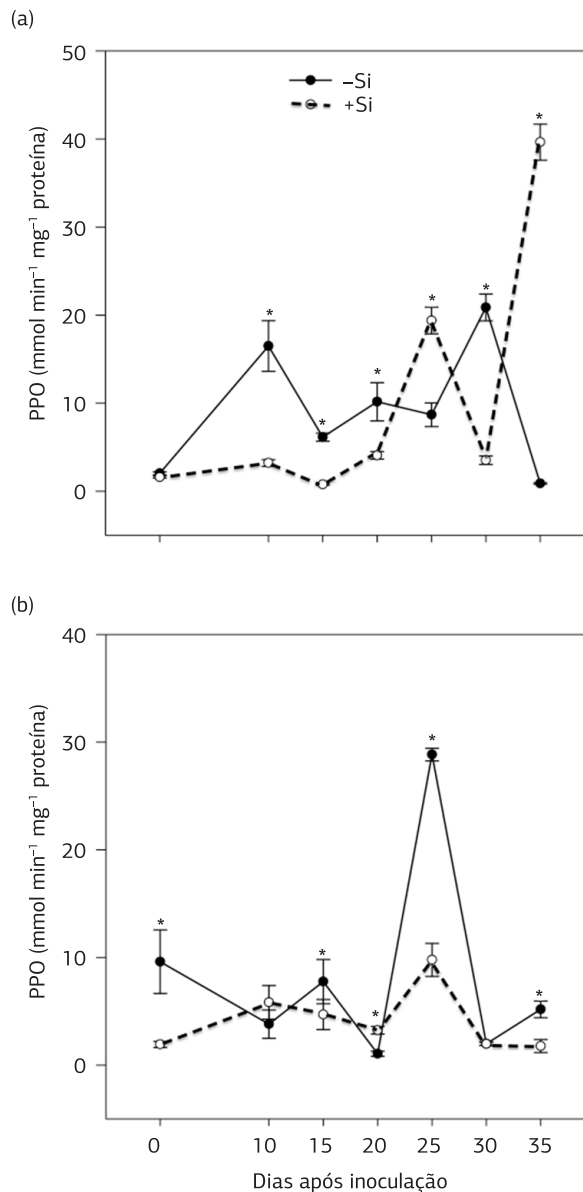
As plantas da cultivar BRS Buriti supridas com +Si apresentaram aumentos na atividade da PPO até os 35 dai, sendo esses aos 25 e 35 dai. Houve aumento significativo

( $p \leq 0,05$ ) da PPO nas plantas supridas com Si aos 25 e 35 dai (Figura 5a). A cultivar FM 993 suprida com Si apresentou aumento da atividade da PPO até os 25 dai, seguido de decréscimo até os 35 dai. Nas plantas dessa cultivar supridas com Si não ocorreu aumento significativo ( $p > 0,05$ ) da atividade da PPO (Figura 5b).

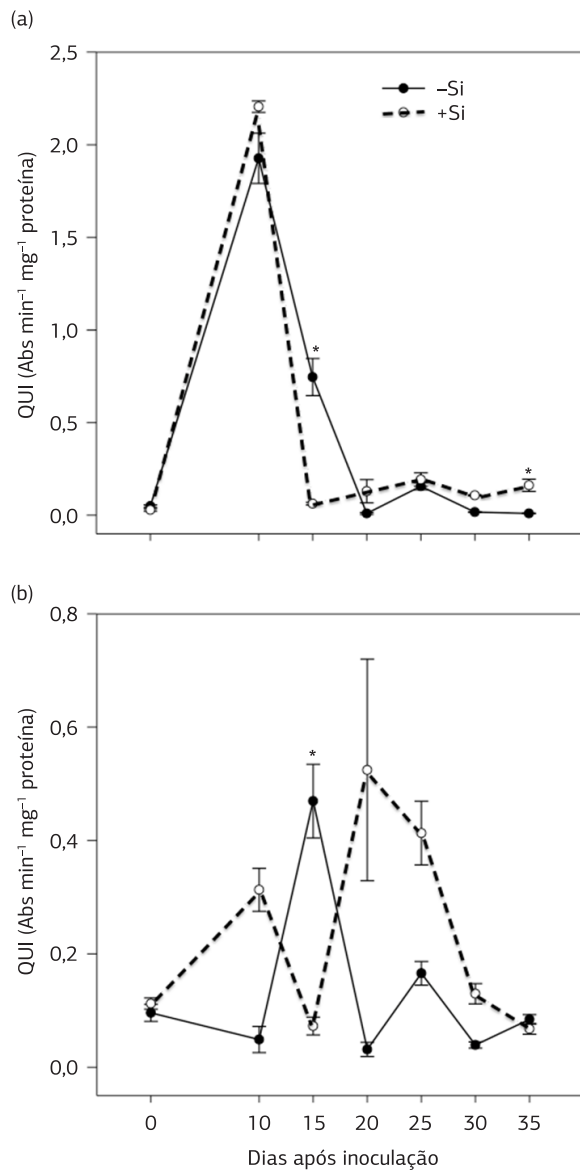
As plantas da cultivar BRS Buriti supridas com Si apresentaram aumento na atividade da QUI até os 10 dai, seguido de redução até os 35 dai (Figura 6a). A cultivar FM 993 suprida com Si apresentou dois picos de atividade



**Figura 4.** Atividade da peroxidase (POX) em folhas de plantas de algodão das cultivares BRS Buriti (a) e FM 993 (b) crescidas em solução nutritiva contendo (+Si) ou não (-Si) silício (Si) e infectadas por *Phakopsora gossypii*; cada ponto representa a média de quatro repetições; barras de erros representam o desvio padrão da média; médias dos tratamentos -Si e +Si seguidas de asterisco (\*) são diferentes ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste-*t*.



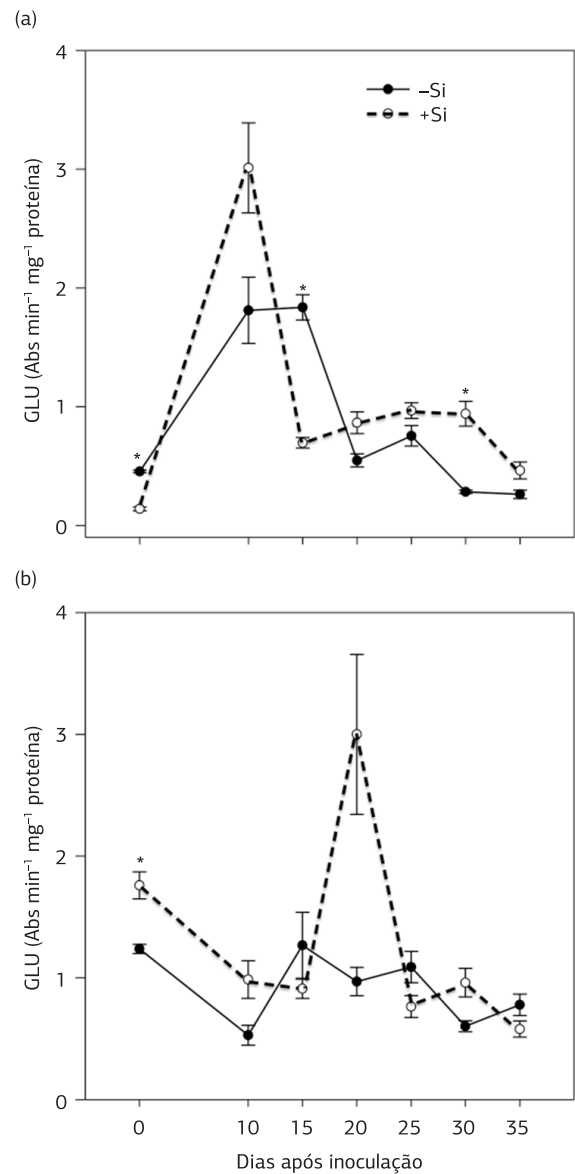
**Figura 5.** Atividade da polifenoloxidase (PPO) em folhas de plantas de algodão das cultivares BRS Buriti (a) e FM 993 (b) crescidas em solução nutritiva contendo (+Si) ou não (-Si) silício (Si) e infectadas por *Phakopsora gossypii*; Cada ponto representa a média de quatro repetições; barras de erros representam o desvio padrão da média; médias dos tratamentos -Si e +Si seguidas de asterisco (\*) são diferentes ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste-*t*.



**Figura 6.** Atividade da quitinase (QUI) em folhas de plantas de algodão das cultivares BRS Buriti (a) e FM 993 (b) crescidas em solução nutritiva contendo (+Si) ou não (-Si) silício (Si) e infectadas por *Phakopsora gossypii*; cada ponto representa a média de quatro repetições; barras de erros representam o desvio padrão da média; médias dos tratamentos -Si e +Si seguidas de asterisco (\*) são diferentes ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste-*t*.

da QUI, sendo um aos 10 dai e o outro aos 20 dai, seguidos de redução até os 35 dai (Figura 6b). Diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos +Si e -Si ocorreram apenas aos 35 dai para a cultivar BRS Buriti (Figura 6a).

A atividade da GLU nas plantas da cultivar BRS Buriti supridas com Si aumentou até os 10 dai, seguindo-se decréscimo até os 35 dai (Figura 7a). A cultivar FM 993 suprida com Si apresentou aumentos na atividade da GLU aos 20 dai, também seguidos de redução (Figura 7b). Diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre os tratamentos +Si



**Figura 7.** Atividade da glucanase (GLU) em folhas de plantas de algodão das cultivares BRS Buriti (a) e FM 993 (b) crescidas em solução nutritiva contendo (+Si) ou não (-Si) silício (Si) e infectadas por *Phakopsora gossypii*; cada ponto representa a média de quatro repetições; barras de erros representam o desvio padrão da média; médias dos tratamentos -Si e +Si seguidas de asterisco (\*) são diferentes ( $p \leq 0,05$ ) pelo teste-*t*.

e -Si ocorreram aos 30 dai, com aumento da atividade da GLU de 232% para a cultivar BRS Buriti e apenas de 42% aos 0 dai para a cultivar FM 993.

#### 4. DISCUSSÃO

A aplicação do Si reduziu a severidade final da ferrugem tropical do algodoeiro mostrando que as plantas de algodoeiro são capazes de absorver e acumular Si em seus

tecidos, impactando negativamente o progresso da ferrugem tropical, assemelhando-se a outros estudos que mostram os efeitos benéficos do Si no controle de doenças em culturas economicamente importantes como arroz, trigo, sorgo, cevada, milho, pepino, tomate, banana, uva, rosa e morango (DATNOFF et al., 2007).

O fornecimento de Si para ambas as cultivares afetou todos os componentes de resistência avaliados. PI e PL60 sofreram aumentos enquanto que I, SF, AP, AACPF, AACPAR, NP e NU foram reduzidos na presença do Si. ZADOKS (1971) relata que aumentos no PI podem reduzir o taxa de epidemia, tendo como consequência diminuição no número de ciclos secundários do patógeno. O fato de a maior concentração foliar de Si reduzir alguns componentes de resistência deve-se ao fato de esse elemento poder provocar alguma interferência no acesso do patógeno aos tecidos do hospedeiro, afetando assim a sua colonização. Os resultados do presente estudo corroboram os obtidos por SHETTY et al. (2012), que observaram atraso no desenvolvimento dos sintomas e redução na severidade da doença provocada pelo míldio pulverulento em roseira suprida com Si. SAMUELS et al. (1991) encontraram resultados promissores no controle do oídio em plantas de pepino cultivadas em solução nutritiva contendo 100 mg/L de silicato de potássio, atribuindo-se a redução no crescimento das colônias do fungo nas folhas das plantas tratadas com Si ao acúmulo de Si ao redor das hifas. Também RESENDE et al. (2009) obtiveram aumento no PI e no PL60 e redução da eficiência relativa de infecção e da área abaixo da curva de progresso da antracnose nas folhas de sorgo com a aplicação de silicato de cálcio no solo.

O mecanismo de ação do Si na redução da ferrugem tropical ainda não é conhecido, mas pode-se inferir que seu efeito seja possivelmente devido à formação de barreiras (químicas e físicas) nas folhas, reduzindo-se assim o acesso de *P. gossypii* aos tecidos das plantas e despertando mecanismos de resistência. Conforme BOWEN et al. (1992), a redução da severidade do oídio da videira também foi devida à formação de barreira física que dificultou a penetração das hifas. DOMICIANO et al. (2010), estudando folhas de sorgo supridas com Si, encontraram em observações feitas em microscópio eletrônico de varredura acoplado a microanálise de raios-X que a distribuição desse elemento foi uniforme em toda a superfície das folhas, seguindo um padrão linear que corresponde às células de sílica, acúmulo que impactou, levando a aumento no PI e a reduções no número de lesões/cm<sup>2</sup>, área abaixo da curva de progresso da mancha marrom e severidade da mancha marrom. Acredita-se que nas áreas da folha onde ocorre deposição de Si haja um atraso no ingresso e na colonização do fungo, permitindo-se, assim, que a planta tenha mais tempo para ativar as respostas de defesa. Além da proteção mecânica da epiderme proporcionada pelo Si (YOSHIDA et al., 1965), pode-se inferir também que o Si potencializou mecanismos de defesa da planta como, por exemplo, o acúmulo de lignina, importante componente na

resistência das plantas aos patógenos (CHÉRIF et al., 1994; RODRIGUES et al., 2004).

A atividade das enzimas POX e PPO na cultivar BRS Buriti suprida com Si foi inferior ao longo do processo infeccioso, apresentando aumentos de atividade em estágios mais avançados da doença. Na cultivar FM 993, a atividade da POX foi influenciada pelo Si ao longo do progresso da doença, enquanto que a PPO não sofreu influência do Si. RODRIGUES et al. (2005) mostraram que as transcrições da POX aumentou durante o curso da infecção por *P. grisea* em ambas interações incompatíveis e compatíveis em plantas de arroz com fornecimento ou privados de Si. CHÉRIF et al. (1994), estudando a interação *Pythium* sp. em raízes de pepino, relataram aumento nas atividades das enzimas POX e PPO nas plantas supridas com Si. As POX têm várias funções fisiológicas que podem contribuir para a resistência da planta, como a biossíntese de compostos fenólicos (SCHMID e FEUCHT, 1980), ligações com polissacarídeos (FRY, 1986), lignificação (WALTER, 1992) e inibição do crescimento fúngico (MACKO et al., 1968). A PPO exerce um papel importante na defesa das plantas, pois oxida compostos fenólicos em quinonas, as quais são tóxicas aos patógenos, além de poder ligar-se a proteínas e carboidratos produzindo compostos que atuam como barreira física aos patógenos (LUTHRA et al., 1988). Neste estudo, as atividades da POX e da PPO estão associadas a aumentos nas concentrações de lignina e compostos fenólicos solúveis totais nas folhas, respectivamente. Esses resultados indicam que é possível que o papel exercido por essas enzimas na resistência do algodão à *P. gossypii* esteja relacionado com o fortalecimento da parede celular, além disso é possível que a POX esteja possivelmente atuando como antioxidante.

Estudos disponíveis na literatura descrevem que a aplicação de Si pode afetar a produção de compostos fenólicos em plantas infectadas por patógenos (CARVER et al., 1998; RODRIGUES et al., 2005). Os compostos fenólicos estão associados às defesas passivas e ativas das plantas aos patógenos e são encontrados tanto em interações compatíveis quanto incompatíveis (NICHOLSON e HAMMERSCHMIDT, 1992). No presente estudo, a concentração de CFST mostrou dois comportamentos, conforme a cultivar avaliada. Na cultivar BRS Buriti houve pico de atividade nos momentos iniciais da infecção, enquanto que a cultivar FM 993 mostrou maior atividade em estágios mais avançados da infecção – esse comportamento mostra que o Si foi capaz de aumentar a resistência das plantas de ambas cultivares. Compostos fenólicos estão relacionados aos efeitos fungitóxicos, especialmente formas oxidadas, incluindo os precursores da lignina. Os compostos fenólicos estão associados com um aumento da permeabilidade da membrana fúngica, ocasionando vazamento do conteúdo das células e agregação do citoplasma (SOUTHERTON e DEVERALL, 1990). A ação do Si sobre a produção de CFST levou ao aumento da resistência das plantas de algodão à ferrugem, a qual é

constatada pela redução em todos os componentes de resistência estudados. Nas plantas não supridas com Si, a concentração de CFST ligeiramente superior nos estágios iniciais da infecção em ambas as cultivares foi provavelmente devida ao elevado número de penetrações bem sucedidas, o que correspondeu a maior severidade da doença conforme determinado pelos componentes de resistência estudados. Os resultados obtidos nesse estudo não corroboram aqueles obtidos por DOMICIANO et al. (2010) e XAVIER FILHA et al. (2011) estudando, respectivamente, as interações trigo-*Bipolaris sorokiniana* e trigo-*Pyricularia grisea*, os quais obtiveram valores inferiores na concentração de CFST das plantas supridas com Si, entretanto, esses foram suficientes para reduzir a severidade das doenças. Os resultados obtidos neste estudo suportam a hipótese de o Si contribuir para aumentar a concentração de CFST e de que esse pode ser considerado como um dos mecanismos de defesa que conferem resistência à ferrugem.

Foi demonstrado que o fornecimento de Si para a cultivar BRS Buriti contribuiu para que as maiores concentrações de DLATG acontecessem nos estágios iniciais do processo infeccioso, enquanto que na cultivar FM 993 ocorressem em estágios mais avançados, de modo que o Si contribuiu para aumentar resistência do algodão à doença. Esses resultados foram semelhantes aos encontrados por RODRIGUES et al. (2005), que observaram que a concentração de derivados DLATG foi bifásica nas cultivares de arroz inoculadas com *P. grisea*. O acúmulo de DLATG foi menor em folhas de plantas da cultivar M201 (suscetível) supridas com Si. Isso mostra que as células da planta, mesmo com menores concentrações de DLATG, foram eficientemente protegidas contra a colonização de *P. gossypii*.

Aumentos nas atividades da QUI e GLU em ambas as cultivares supridas com Si contribuíram para a redução da doença, principalmente nos estágios iniciais, exceto para a GLU na cultivar FM 993, que foi maior em estágios intermediários. Quitinases e glucanases em plantas são enzimas importantes, componentes do sistema de defesa, não só porque podem inibir o crescimento de fungos mas por provocar a dissolução das paredes das células fúngicas elas também são capazes de liberar oligômeros de quitina, que provocam outras importantes reações de defesa celular, como a produção de compostos fenólicos e o aumento na biossíntese de lignina (LEUBNER-METZGERAND e MEINNS JÚNIOR, 1999). De modo geral, a possível dissolução das paredes e degradação das hifas do patógeno levaram a uma menor eficiência no processo de colonização dos tecidos do hospedeiro. Os resultados desse estudo não se assemelham aos obtidos por DOMICIANO et al. (2010), que mostraram que a atividade da QUI foi alta nos estágios mais avançados de infecção por *B. sorokiniana* nas folhas de duas cultivares de trigo supridas com Si. PEREIRA et al. (2009) mostraram que aplicações foliares de silicato de potássio no patossistema café-*Hemileia vastatrix* aumentaram a atividade da QUI e

da GLU em estágios intermediários do processo infeccioso. Portanto, pode-se inferir que as atividades das enzimas QUI e GLU pode estar associada a mecanismos de defesa das plantas de ambas as cultivares supridas com Si, impedindo que o patógeno penetre, cresça e colonize as células do tecido foliar, como a redução dos componentes de resistência avaliados evidencia.

## 5. CONCLUSÃO

Plantas de algodão supridas com Si têm a resistência à ferrugem tropical aumentada, devido à maior atividade das enzimas de defesa.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo recurso financeiro (Processo APQ-01159-09). Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelas bolsas de doutorado e iniciação científica concedidas a A. M. N. M. Guerra e A. F. Barros e pelas bolsas de produtividade em pesquisa dos professores F. A. Rodrigues e P. G. Berger. Os autores agradecem ao Núcleo de Microscopia e Microanálise (CCB/UFV) pela utilização do MEV e pelos equipamentos auxiliares utilizados nas análises microscópicas e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG (APQ-01159/09), CNPq e FINEP pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

- BARBER, M.S.; RIDE, J.P. A quantitative assay for induce lignification in wounded wheat leaves and its use to survey potential elicitors of the response. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.32, p.185-197, 1988. [http://dx.doi.org/10.1016/S0885-5765\(88\)80015-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0885-5765(88)80015-8)
- BÉLANGER, R.R.; BENHAMOU, N.; MENZIES, J.G. Cytological evidence of an active role of silicon in wheat resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*). *Phytopathology*, v.93, p.402-412, 2003. PMID:18944354. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.4.402>
- BENEDO, I.P. Ferrugens. In: BERGAMIN FILHO A.; KIMATI H.; AMORIM L. (Ed.). *Manual de fitopatologia*. São Paulo. Agronômica Ceres, 1995. p.872-880.
- BOWEN, P.; MENZIES, J.; EHRET, D. Soluble silicon spray inhibit powdery mildew development on grape leaves. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v.117, p.906-912, 1992.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, v.72, p.248-254, 1976. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

- CARVER, T.L.W.; ROBBINS, M.P.; THOMAS, B.J.; TROTH, K.; RAISTRICK, N.; ZEYEN, R.J. Silicon deprivation enhances localized autofluorescent responses and phenylalanine ammonia-lyase activity in oat attacked by *Blumeria graminis*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.52, p.245-257, 1998. <http://dx.doi.org/10.1006/pmpp.1998.0149>
- CHANCE, B.; MAEHLEY, A.C. Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*, v.2, p.764-775, 1955. [http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(55\)02300-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8)
- CHÉRIFF, M.; ASSELIM, A.; BÉLANGER, R.R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. *Phytopathology*, v.84, p.236-242, 1994. <http://dx.doi.org/10.1094/Phyto-84-236>
- DATNOFF, L.E.; RODRIGUES, F.A.; SEEBOLD, K.W. Silicon and Plant Disease. In: DATNOFF, L.E.; ELMER, W.H.; HUBER, D.M. (Ed.). *Mineral Nutrition and Plant Disease*. St. Paul: The American Phytopathological Society, 2007. p.233-246.
- DOMICIANO, G.P.; RODRIGUES, F.A.; VALE, F.X.R.; XAVIER FILHA, M.S.; MOREIRA, W.R.; ANDRADE, C.C.L.; PEREIRA, S.C. Wheat resistance to spot blotch potentiated by silicon. *Journal of Phytopathology*, v.158, p.334-343, 2010. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0434.2009.01623.x>
- EPSTEIN, E. Silicon. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v.50, p.641-664, 1999. PMID:15012222. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant.50.1.641>
- FREIRE, E.C. História do algodão no Cerrado. In: FREIRE, E.C. (Ed.). *Algodão no Cerrado do Brasil*. Brasília: Abrapa, 2011. p.21-52.
- FRENCH-MONAR, R.D.; RODRIGUES, F.A.; KORNDÖRFER, G.H.; DATNOFF, L.E. Silicon suppresses *Phytophthora blight* development on bell pepper. *Journal of Phytopathology*, v.158, p.554-560, 2010.
- FRY, S.C. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. *Annual Review Plant Physiology*, v.37, p.165-186, 1986. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.pp.37.060186.001121>
- HARMAN, G.E.; HAYES, C.K.; LORITO, M.; BROADWAY, R.M.; PIETRO, A.D.; PETERBAUER, C.; TRONSMO, A. QUITinolytic enzymes of *Trichoderma harzianum*: purification of QUITobiosidase and endoQUITinase. *Phytopathology*, v.83, p.313-318, 1993. <http://dx.doi.org/10.1094/Phyto-83-313>
- HOAGLAND, D.R.; ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station*, v.347, p.32, 1950.
- HUANG, C.H.; ROBERTS, P.D.; DATNOFF, L.E. Silicon suppresses *Fusarium* crown and root rot of tomato. *Journal of Phytopathology*, v.159, p.546-554, 2011. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0434.2011.01803.x>
- KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, v.57, p.315-319, 1976. PMID:16659474 PMCid:PMC542015. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.57.2.315>
- KIM, S.G.; KIM, K.W.; PARK, E.W.; CHOI, D. Silicon-induced cell wall fortification of rice leaves, a possible cellular mechanism of enhanced host resistance to blast. *Phytopathology*, v.92, p.1095-1103, 2002. PMID:18944220. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.10.1095>
- KORNDÖRFER, G.H.; PEREIRA, H.S.; NOLLA, O.A. Análise de silício: solo, planta e fertilizante. Uberlândia: Grupo de Pesquisa em Silício, ICIAG, Universidade Federal de Uberlândia, 2004. 34p.
- LEUBNER-METZGERAND, G.; MEINNS JUNIOR, F. Functions and regulation of plant  $\beta$ -1,3-glucanases (PR-2). In: DATTA, S.K.; MUTHUKRISANAN, S. (Ed.) *Pathogenesis-related proteins in plants*. Boca Raton, Florida. CRC Press LLC, 1999. p.49-76. <http://dx.doi.org/10.1201/9781420049299.ch3>
- LEVER, M. A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates. *Analytical Biochemistry*, v.47, p.273-279, 1972. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(72\)90301-6](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(72)90301-6)
- LUTHRA, Y.P.; GHANDI, S.K.; JOSHI, U.N.; ARORA, S.K. Total phenolic compounds and their oxidative enzymes in sorghum leaves resistant and susceptible to *Ramulispora sorghicola* Harris. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, v.23, p.393-400, 1988.
- MA, J.F.; TAKAHASHI, E. Soil, fertilizer and plant silicon research in Japan. Amsterdam: Elsevier Science Academic Press, 2002. 281p.
- MACKO, V.; WOODBURY, W.; STAHMANN, M.A. The effect of peroxidase on the germination and growth on mycelium of *Puccinia graminis* f.sp. *tritici*. *Phytopathology*, v.58, p.1250-1254, 1968.
- MARUR, C.J.; RUANO, O. A reference system of determination of cotton plant development. *Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibras*, v.5, p.313-317, 2001.
- MENZIES, J.; EHRET, D.L.; GLASS, A.D.M.; SAMUELS, A.L. The influence of silicon on cytological interactions between *Sphaerotheca fuliginea* and *Cucumis sativus*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.39, p.403-414, 1991. [http://dx.doi.org/10.1016/0885-5765\(91\)90007-5](http://dx.doi.org/10.1016/0885-5765(91)90007-5)
- NICHOLSON, R.L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compound and their role in disease resistance. *Annual Review of Phytopathology*, v.30, p.369-389, 1992. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.py.30.090192.002101>
- PEREIRA, S.C.; RODRIGUES, F.A.; CARRÉ-MISSIO, V.; OLIVEIRA, M.G.A.; ZAMBOLIM, L. Efeito da aplicação foliar de silício na resistência à ferrugem e na potencialização da atividade de enzimas de defesa em café. *Tropical Plant Pathology*, v.34, p.223-230, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S1982-56762009000400004>
- PNITHALINGAM, E. *Phakopsora gossypii*. C.M.I Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria, v.172, p.1-2, 1968.
- RESENDE, R.R.; RODRIGUES, F.A.; SOARES, J.M.; CASELA, C.R. Influence of silicon on some components of resistance to anthracnose in susceptible and resistant sorghum lines. *European Journal of Plant Pathology*, v.124, p.533-541, 2009. <http://dx.doi.org/10.1007/s10658-009-9430-6>
- ROBERTS, W.K.; SELITRENNIKOFF, C.P. Plant and bacterial quitinases differ in antifungal activity. *Journal of General Microbiology*, v.134, p.169-176, 1988.
- RODRIGUES, F.A.; JURICK, W.M.; DATNOFF, L.E.; JONES, J.B.; ROLLINS, J.A. Silicon influences cytological and molecular events in compatible and incompatible rice-*Magnaporthe grisea* interactions.

- Physiological and Molecular Plant Pathology, v.66, p.144-159, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pmp.2005.06.002>
- RODRIGUES, F.A.; McNALLY, D.J.; DATNOFF, L.E.; JONES, J.B.; LABBÉ, C.; BENHAMOU, N.; MENZIES, J.G.; BÉLANGER, R.R. Silicon enhances the accumulation of diterpenoid phytoalexins in rice: a potential mechanism for blast resistance. *Phytopathology*, v.94, p.177-183, 2004. PMID:18943541. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.2.177>
- RODRIGUES, F.A.; BENHAMOU, N.; DATNOFF, L.E.; JONES, J.B.; BÉLANGER, R.R. Ultrastructural and cytochemical aspects of silicon-mediated rice blast resistance. *Phytopathology*, v.93, p.535-546, 2003. PMID:18942975. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.5.535>
- SAMUELS, A.L.; GLASS, A.D.M.; EHRET, D.L.; MENZIES, J.G. Mobility and deposition of silicon in cucumber plants. *Plant, Cell and Environment*, v.14, p.485-492, 1991. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3040.1991.tb01518.x>
- SCHMID, P.S.; FEUCHT, W. Tissue-specific oxidative browning of polyphenols by peroxidase in cherry shoots. *Gartenbauwissenschaft*, v.45, p.68-73, 1980.
- SHANER, G.; FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology*, v.67, p.1051-1056, 1977. <http://dx.doi.org/10.1094/Phyto-67-1051>
- SOUTHERTON, S.G.; DEVERALL, B.J. Changes in phenolic acid levels in wheat leaves expressing resistance to *Puccinia recondite* f.sp. *tritici*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.37, p.437-450, 1990. [http://dx.doi.org/10.1016/0885-5765\(90\)90035-V](http://dx.doi.org/10.1016/0885-5765(90)90035-V)
- SHETTY, R.; JENSE, B.; SHETTY, N.P.; HANSEN, M.; HANSEN, C.W.; STARKEY, K.R.; JORGENSEN, H.J.L. Silicon induced resistance against powdery mildew of roses caused by *Podosphaera pannosa*. *Plant Pathology*, v.61, p.120-131, 2012. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02493.x>
- STERNE, R. Tropical rust. In: WATKINS, G.M. (Ed.) *Compendium of cotton disease*. American Phytopathological Society, 1981. 39p.
- SUASSUNA, N.D.; ARAÚJO, A.E. *Ferrugem Tropical do Algodoeiro*. Campina Grande: Embrapa Algodão, 2003. (Embrapa Algodão: Documentos, n.114).
- VERMEIRE, M.L.; KABLAN, L.; DOREL, M.; DELVAUX, B.; RISÈDE, J.M.; LEGRÈVE, A. Protective role of silicon in the banana-*Cylindrocladium spathiphylli* pathosystem. *European Journal of Plant Pathology*, v.131, p.621-630, 2011. <http://dx.doi.org/10.1007/s10658-011-9835-x>
- WALTER, M.H. Regulation of lignification in defense. In: BOLLER, T.; MEINS, F. (Ed.) *Genes Involved in Plant Defense*. New York: Springer-Verlag, 1992. p.327-352. PMID:1568117. [http://dx.doi.org/10.1007/978-3-7091-6684-0\\_13](http://dx.doi.org/10.1007/978-3-7091-6684-0_13)
- YOSHIDA, S. Chemical aspects of the role of silicon in physiology of the rice plant. *Bulletin of the National Institute of Agricultural Science Series*, v.15, p.1-58, 1965.
- XAVIER FILHA, M.S.; RODRIGUES, F.A.; DOMICIANO, G.P.; OLIVEIRA, H.V.; SILVEIRA, P.R.; MOREIRA, W.R. Wheat resistance to leaf blast mediated by silicon. *Australasian Plant Pathology*, v.40, p.28-38, 2011. <http://dx.doi.org/10.1007/s13313-010-0010-1>
- ZADOKS, J.C. Systems analysis and the dynamics of epidemics. *Phytopathology*, v.61, p.600-610, 1971.
- ZIESLIN, N.; BEN-ZAKEN, R. Peroxidase activity and presence of phenolic substances in peduncles of rose flowers. *Plant Physiology and Biochemistry*, v.40, p.333-339, 1993.