

RODRIGO VIEIRA DA SILVA

RESISTÊNCIA DO CAFEIRO A *Meloidogyne exigua*: MECANISMOS DE
NATUREZA GENÉTICA E POTENCIALIZADOS PELO SILÍCIO

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

RODRIGO VIEIRA DA SILVA

RESISTÊNCIA DO CAFEIEIRO A *Meloidogyne exigua*: MECANISMOS DE
NATUREZA GENÉTICA E POTENCIALIZADOS PELO SILÍCIO

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

APROVADA: 27 de fevereiro de 2009.

Prof. Silamar Ferraz

Dr. Antônio C. Baião de Oliveira

Dr. Antônio Alves Pereira
(Co-orientador)

Prof. Fabrício de Ávila Rodrigues
(Co-orientador)

Prof^ª. Rosângela D'Arc de Lima
Oliveira
(Orientadora)

A Deus,

Aos meus pais Heitor e Zélia,

Aos meus irmãos.

A Brenda, uma pessoa que tem me dado felicidade pelo simples fato de estar na minha vida.

E àquelas pessoas que sempre torceram pelo meu sucesso.

OFEREÇO E DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primariamente a Deus por mais esta vitória alcançada.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade de realização do Programa de Pós- Graduação.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa de estudo e pelo financiamento parcial do projeto, o que permitiu a compra de um microscópio de luz (Carl Zeiss Axio Imager A1).

À EMBRAPA Café - PNP&D/Café pelo financiamento parcial do projeto de tese.

Aos professores Reginaldo da Silva Romeiro e Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, do Depto. de Fitopatologia da UFV por franquear o uso de equipamentos em seus laboratórios.

Ao Professor Gilberto Fernandes Corrêa (UFU) pela sugestão da classe de solo e sua coleta para utilização neste trabalho.

Ao professor Gaspar Henrique Korndörfer (UFU) pelas análises de teor de silício no solo e material vegetal.

Ao professor Fabrício de Ávila Rodrigues (DFP - UFV) pela grande contribuição e apoio na realização deste trabalho.

Ao professor Silamar Ferraz, e aos pesquisadores Dr. Antônio Carlos Baião de Oliveira (EMBRAPA) e Antônio Alves Pereira (EPAMIG), pelas sugestões e informações necessárias à correção deste trabalho.

À professora Rosângela D'Arc de Lima Oliveira, pela orientação, dedicação, ensinamentos e amizade.

Ao Secretário de Pós-Graduação do (DFP - UFV) Délio Duarte pela amizade e ajuda nos momentos em que foi solicitado.

À Kelly Telles, pela grande ajuda na realização dos ensaios bioquímicos.

Aos estagiários e bolsistas do laboratório de Nematologia: Dalila, Patrícia, Douglas, Aline Barros, Aline Oliveira e Naylor, pela ajuda no desenvolvimento dos experimentos.

Ao técnico do laboratório de Nematologia Elói dos Santos pela amizade, por manter o laboratório sempre limpo e organizado, e pelo cafezinho.

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para realização desse trabalho.

BIOGRAFIA

RODRIGO VIEIRA DA SILVA, filho de Heitor Ladeira da Silva e Zélia de Jesus Vieira, nasceu em 21 de fevereiro de 1979, em Viçosa, Estado de Minas Gerais.

Em 1995, ingressou no curso Técnico em Agropecuária da Central de Ensino e Desenvolvimento Agrário de Florestal, Florestal (MG), onde concluiu o curso em 27 de dezembro de 1997.

Em 1998, ingressou no curso de Agronomia da Universidade Federal de Viçosa (MG), onde se graduou em março de 2003.

Em março de 2003, iniciou o curso de Mestrado em Fitopatologia na Universidade Federal de Viçosa, sob orientação da professora Rosângela D'Arc de Lima Oliveira, cuja defesa da dissertação ocorreu em 24 de fevereiro de 2005.

Em março de 2005, iniciou o curso de Doutorado em Fitopatologia na Universidade Federal de Viçosa, sob orientação da professora Rosângela D'Arc de Lima Oliveira.

SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
INTRODUÇÃO GERAL	01
REVISÃO DE LITERATURA	04
O cafeeiro	04
Os nematóides	04
A espécie <i>Meloidogyne exigua</i>	06
Resistência no controle de fitonematóides	09
O silício no controle de fitonematóides	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
CAPÍTULO 1: Respostas de defesa do cafeeiro à <i>Meloidogyne exigua</i> de cultivar resistente e de planta não hospedeira	28
RESUMO	28
INTRODUÇÃO.....	29
MATERIAL E MÉTODOS	30
RESULTADOS	34
DISCUSSÃO	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
CAPÍTULO 2: Silício em raízes de cafeeiro e seu reflexo no controle de <i>Meloidogyne exigua</i>	46
RESUMO	46
INTRODUÇÃO.....	47
MATERIAL E MÉTODOS	49
RESULTADOS	52
DISCUSSÃO	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
CAPÍTULO 3: Silício na absorção de nutrientes em mudas de cafeeiro infectadas por <i>Meloidogyne exigua</i>	63
RESUMO	63
INTRODUÇÃO	64
MATERIAL E MÉTODOS	65

RESULTADOS	69
DISCUSSÃO	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
CAPÍTULO 4: Respostas bioquímicas de defesa de cafeeiros a <i>Meloidogyne exigua</i> potencializadas pelo silício	81
RESUMO.....	81
INTRODUÇÃO.....	82
MATERIAL E MÉTODOS	83
RESULTADOS	90
DISCUSSÃO	94
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98
CONCLUSÕES GERAIS	103

RESUMO

SILVA, Rodrigo Vieira da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2009. **Resistência do cafeeiro a *Meloidogyne exigua*: mecanismos de natureza genética e potencializados pelo silício.** Orientadora: Rosângela D'Arc de Lima Oliveira. Coorientadores: Fabrício Ávila Rodrigues e Antônio Alves Pereira.

Meloidogyne exigua constitui-se num dos principais patógenos do cafeeiro no Brasil. Atualmente, sabe-se que a resistência a esse nematóide é conferida por um gene dominante, designado de *Mex-1*. Entretanto, os mecanismos de resistência em cafeeiro à *M. exigua* ainda necessitam de esclarecimentos. Assim, o presente estudo objetivou avaliar as respostas de defesa do cafeeiro a *M. exigua*, genéticos e potencializados pelo silício (Si), além do papel desse elemento na absorção e conteúdo de nutrientes nas raízes e parte aérea de mudas de cafeeiro. As seguintes variáveis foram avaliadas: penetração, desenvolvimento pós-embriogênico e reprodução de populações de *M. exigua* que diferem quanto à capacidade de infectar o cafeeiro, bem como a histopatologia de raízes inoculadas com *M. exigua*. O conteúdo de Si nas raízes e o efeito desse elemento no controle de *M. exigua*, além da análise de algumas variáveis bioquímicas, possivelmente potencializadas por esse elemento, foram também estudadas. Foi demonstrado que a resistência do cafeeiro a *M. exigua* não é devida apenas à resposta de hipersensibilidade (HR), mas ao conjunto de respostas de defesa, constitutivas e/ou induzidas, após a penetração do nematóide, o qual inibe a formação do sítio de alimentação, provoca a emigração dos J2 e atrasa ou inibe o desenvolvimento e a reprodução do nematóide. Além disso, plantas exibindo resistência de não-hospedeira diferiram das resistentes, considerando que nenhuma evidência de HR foi observada na primeira. As primeiras evidências científicas da absorção de Si pelas raízes de cafeeiro e o efeito positivo do mesmo no desenvolvimento da planta e no controle do nematode foram demonstradas neste estudo. O teor Si atingiu níveis superiores a 1% da matéria seca em raízes de cafeeiro da cultivar Catuaí Vermelho IAC 44. Esse teor de Si na raiz foi considerado alto considerando que o cafeeiro é uma espécie de dicotiledônea, o que demonstra o efeito promissor desse elemento num sistema de manejo de *M. exigua* em cafeeiro. O Si influenciou positivamente a absorção e o conteúdo de alguns nutrientes nas raízes e parte aérea do cafeeiro, além de aumentar a resistência do cafeeiro à infecção pelo nematóide. A maior atividade das peroxidases, polifenoloxidasas e fenilalanina amônia-liases, além da maior concentração de

lignina nas raízes de plantas resistentes e suscetíveis, supridas com Si, indicam claramente que esses mecanismos bioquímicos de resistência estão associados com a resistência genética e a mediada pelo Si, do cafeeiro a *M. exigua*. Resultados provados neste estudo suportam a conclusão que a aplicação de Si aumenta a resistência do cafeeiro à *M. exigua* por afetar o parasitismo do nematóide e potencializar alguns mecanismos bioquímicos de respostas de defesa.

ABSTRACT

SILVA, Rodrigo Vieira da, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2009.

Resistance of the coffee plant to *Meloidogyne exigua*: mechanisms of genetic nature and silicon potencialization. Adviser: Rosângela D’Arc de Lima Oliveira. Co-advisers: Fabrício de Ávila Rodrigues and Antônio Alves Pereira.

Meloidogyne exigua is considered the one of the most important pathogens of coffee in Brazil. Nowadays, coffee resistance to this nematode is known to be conferred by the dominant gene *Mex-1*, but the mechanisms of coffee resistance to *M. exigua* still need to be investigated. Therefore, this study aimed to evaluate the defense responses of coffee to *M. exigua*, either genetic or potentiated by silicon (Si), besides the effect of this element on nutrients uptake and content in roots and shoots of coffee seedlings. The following variables were evaluated: penetration, post-embryonic development, and reproduction of *M. exigua* populations that differ in their capacity of infect coffee roots as well as the histopathology of roots from plants inoculated with the nematode. The content of Si on roots and its effect on *M. exigua* control, besides the analysis of some biochemical variables, possibly potentiated by this element, were also studied. It was demonstrated that coffee resistance to *M. exigua* is not only due to the hypersensitive response (HR), but to a set of defense responses, constitutive and/or inducible, after nematode penetration that strongly inhibits the formation of feeding sites. This dramatically causes J2 migration and slows down or inhibits nematode development and reproduction. Furthermore, plants showing non-host resistance were different from the resistant ones considering that no evidence of HR was observed on the former. The first scientific evidence of Si uptake by coffee roots and its positive effect on both plant development and nematode control were demonstrated in this study. Coffee roots of plants from "Catuaí Vermelho IAC 44" cultivar had Si content up to 1%. This Si content is quite higher considering that coffee is a dicotyledonous plant species. Silicon positively influenced the uptake and the content of some nutrients on coffee roots and shoots, besides increasing coffee roots resistance to nematode infection. The highest activity of peroxidases, polyphenoloxidases, and phenylalanin ammonia-liases, besides the great concentration of lignin in roots of both resistant and susceptible plants supplied with Si clearly indicates that these biochemical mechanisms of resistance were associated with both genetic and Si-mediated resistance of coffee to *M. exigua*.

Results provided in this study support the conclusion that application of Si increases coffee resistance against infection by *M. exigua* by affecting nematode parasitism and enhancing some biochemical mechanisms of defense responses.

INTRODUÇÃO GERAL

O uso da resistência no manejo de fitonematóides, quando a mesma é disponível, apresenta-se como a forma mais efetiva, econômica e ambientalmente segura para o controle desse grupo de patógenos.

Existem diversos mecanismos de resistência em plantas atacadas por nematóides do gênero *Meloidogyne*, dentre eles destacam-se a reação de hipersensibilidade, o acúmulo de compostos fenólicos, a formação de fitoalexinas e aumento na atividade de enzimas oxidativas, tais como peroxidases, polifenoloxidasas e fenilalanina-amônia-liase (FAL) (Giebel, 1982). A enzima FAL atua na rota dos fenil propanóides, responsável pela formação de lignina, suberina, ácido clorogênico, fenóis, fitoalexinas e coumarinas (Molinari, 1996).

A principal estratégia para o desenvolvimento de cultivares resistentes a *M. exigua* é a transferência de gene de resistência de *Coffea canephora* para *C. arabica* por meio de cruzamentos e retrocruzamentos. Atualmente, sabe-se que a resistência a esse patógeno é conferida por um gene dominante, denominado de *Mex 1* (Noir *et al.*, 2003). Entretanto, os mecanismos de resistência em cafeeiro a esse nematóide ainda necessitam de esclarecimentos. Informações dessa natureza certamente contribuirão para o avanço das pesquisas direcionadas para o desenvolvimento de cultivares de cafeeiro do tipo arábica resistentes a este nematóide.

A exploração isolada da resistência constitui-se num passo importante para manter a população do nematóide abaixo do nível de dano econômico. No entanto, o uso contínuo de cultivares com um único gene de resistência e por longos períodos, como no caso do cafeeiro à *M. exigua*, pode favorecer a suplantação do gene pelo patógeno. Portanto, explorar outras estratégias que permitam minimizar ainda mais a ação do patógeno, faz com que a efetividade e durabilidade da resistência sejam maiores.

Devido às preocupações com o ambiente, a segurança dos aplicadores e saúde pública, o custo elevado dos nematicidas e a proibição do brometo de metila, intensificam a busca por métodos alternativos de controle de fitonematóides nas principais culturas. Nos últimos anos, vem se buscando utilizar a nutrição mineral das plantas com o objetivo de aumentar a resistência e, ou, a tolerância às doenças (Marschner, 1995). Nesse contexto, a utilização do silício (Si) pode ser uma

estratégia de controle a ser introduzida no manejo integrado de nematóides na cultura do cafeeiro.

Apesar do Si não ser ainda considerado um elemento essencial às plantas, o mesmo pode, em determinadas espécies, acumular-se em quantidade superior a de alguns macronutrientes como o nitrogênio, o fósforo e o potássio (Epstein, 1999). O efeito benéfico do Si é observado no crescimento, desenvolvimento e na produtividade de determinadas culturas, especialmente das famílias Gramineae e Cyperaceae, o qual também participa como potencializador da resistência de plantas às diversas doenças fúngicas (Savant *et al.*, 1997b; Datnoff *et al.*, 2007). Mesmo em dicotiledôneas, o Si apresenta efeito positivo no controle de algumas doenças, como as causadas por oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepino (Fawe *et al.*, 1998) e a cercosporiose (*Cercospora coffeicola*) do cafeeiro (Pozza *et al.*, 2004), dentre outras.

Praticamente não existem trabalhos a respeito do papel do Si no controle de fitonematóides. Em um dos raros trabalhos, cultivares de arroz que apresentavam maior nível de resistência a *Meloidogyne graminicola*, também acumularam maior teor de sílica nos seus tecidos (Swain & Prasad, 1988). Com isso, levantou-se a hipótese de que o Si pudesse atuar de alguma maneira na resistência aos nematóides. Em trabalhos preliminares, sob condição de campo, o silicato de cálcio teve efeito positivo no controle de *Meloidogyne exigua* em cafeeiro (Dutra *et al.*, 2004). Porém, estudos mais refinados são necessários para confirmar tal fato e, caso positivo, determinar quais os possíveis mecanismos de resistência potencializados por esse elemento.

OBJETIVOS

I - Avaliar a penetração, o desenvolvimento pós-embriogênico e a reprodução de populações de *M. exigua* que se diferenciam quanto à capacidade de infectar o cafeeiro.

II - Realizar observações histopatológicas em raízes de cafeeiros para verificar a capacidade de juvenis de segundo estágio de *M. exigua* em induzir a formação de células gigantes e detectar os prováveis mecanismos de resistência;

III - Estudar o efeito do silício na penetração, formação de galhas e reprodução de *M. exigua* em mudas de cafeeiro;

IV - Analisar a absorção e translocação do silício e o efeito do mesmo no balanço nutricional do cafeeiro infectado por *M. exigua*.

V - Estudar possíveis respostas bioquímicas de defesa de raízes de cafeeiro à infecção por *M. exigua* potencializadas pelo silício.

REVISÃO DE LITERATURA

O Cafeeiro

O cafeeiro é uma espécie exótica, originária do continente africano, pertencente à família Rubiaceae. Dentre as espécies do gênero *Coffea*, cerca de 100, somente *C. arabica* e *C. canephora* são cultivadas comercialmente. A primeira representa aproximadamente 75% do café cultivado no mundo, principalmente devido a sua melhor qualidade de bebida e preferência do consumidor. No Brasil, o cultivo iniciou-se com a introdução das primeiras mudas e sementes vindas da Guiana, em 1727 (Carvalho, 1993). Atualmente, constitui um dos principais produtos agrícolas do mercado internacional. O Brasil se destaca como maior produtor e exportador mundial de café (Conab, 2008), participando com aproximadamente um terço da oferta global do produto, além de ocupar a segunda posição entre os maiores consumidores (Conab, 2008).

O Estado de Minas Gerais lidera a produção brasileira de café com 23,4 milhões de sacas beneficiadas (99% do tipo arábica) numa área de 1,15 milhões de hectares, o que representa mais de 50% da produção nacional (Conab, 2008). Além da quantidade, esse Estado vem se destacando pela excelente qualidade de seus cafés, que têm conquistado diversos prêmios e alcançado valor diferenciado no mercado, principalmente o internacional. Além da importância econômica, a cafeicultura assume um papel importante na geração de emprego para o país, sendo responsável por cerca de 9 milhões de empregos diretos e indiretos (CAIXETA, 2001).

Os nematóides

Os nematóides fitoparasitas constituem-se num fator limitante à produção agrícola, pois causam perdas estimadas de 125 bilhões de dólares de prejuízo anual, em todo o mundo (Chitwood, 2003).

Na cultura do cafeeiro, merecem atenção especial os nematóides das galhas, pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, devido aos prejuízos que causam aos cafeicultores brasileiros e de vários países do continente americano (Campos & Villain, 2005). Nos principais países produtores de café, os danos causados pelos fitonematóides estão na faixa de 15% (Sasser, 1979). No Brasil, as perdas são ainda

maiores e são estimadas em 20%, sendo as espécies de *Meloidogyne* responsáveis por 80% destes (Lordello, 1984). Até o presente, são 17 as espécies de *Meloidogyne* relatadas em associação com o cafeeiro no mundo (Campos & Villain, 2005), mas no Brasil apenas cinco foram encontradas parasitando esse hospedeiro. Embora *M. javanica* fosse relatada em associação com o cafeeiro, não há evidências científicas de sua capacidade de infectar o mesmo (Oliveira *et al.*, 1998; Carneiro *et al.*, 2005). Merecem destaque especial *M. exigua*, *M. incognita* e *M. paranaensis* por serem as mais prejudiciais à cafeicultura nacional.

O nematóide das galhas radiculares (*Meloidogyne* spp.) possivelmente seja encontrado desde os mais remotos períodos das antigas civilizações, pois praticamente todas as espécies vegetais cultivadas são hospedeiras desse grupo de patógenos. No entanto, somente em meados do século XIX ocorreu o primeiro relato sobre a meloidoginose, realizado pelo Reverendo Miles Joseph Berkeley, na Inglaterra. Naquela época, o autor relatou a ocorrência de galhas em raízes de plantas de pepino cultivadas em casa de vegetação (Winslow, 1960). A partir desse relato, muitos outros foram feitos em diferentes partes do mundo e em diversos hospedeiros. No Brasil, a primeira referência a respeito do ataque de nematóides foi em cafeeiro, realizada por Jobert (1878), na então província do Rio de Janeiro, e relatada posteriormente em um relatório pelo suíço Goeldi, em 1887. Ao estudar esta doença, este último autor nomeou o patógeno responsável pela doença de *Meloidogyne exigua*, estabelecendo deste modo o gênero *Meloidogyne* (Goeldi, 1892, reeditado por Moura, 1998). No entanto, desde a primeira descrição de nematóides das galhas por Goeldi em 1887, até a validação do gênero *Meloidogyne* em 1949 por Chitwood, foram utilizados os nomes de *Heterodera*, *Anguillula*, *Anguillulina* e *Caconema* como sinônimos de *Meloidogyne* (Hirschmann, 1985). O trabalho de Goeldi foi a primeira investigação de uma espécie de *Meloidogyne* como uma importante agente causal de doença em planta no mundo. Neste período, Goeldi já alertava a respeito dos grandes prejuízos provocados pelos nematóides formadores de galhas na cafeicultura do Estado do Rio de Janeiro, e da provável destruição da cafeicultura naquele Estado, até então maior produtor brasileiro. Este fato veio há ocorrer um pouco mais tarde, sendo o cafeeiro substituído pela cultura da cana-de-açúcar a partir do final do século XIX (Santos, 1997). Mais de 120 anos se passaram desde a sua descrição e, ainda nos dias atuais *M. exigua* apresenta-se como um dos principais patógenos do cafeeiro no Brasil e em diversos países do continente Americano.

A espécie *Meloidogyne exigua*

Atualmente, *Meloidogyne exigua* é a espécie dos nematóides das galhas mais disseminada e com maior distribuição geográfica em áreas de cultivo de café do tipo arábica na América Latina, principalmente no Brasil (Gonçalves & Silvarolla, 2001; Campos & Villain, 2005; Castro *et al.*, 2008). Em Minas Gerais, principal pólo produtor do país, estima-se que esse patógeno esteja presente em mais de 50% das propriedades cafeeiras e praticamente em todos os municípios onde se cultiva o cafeeiro. Assim, *M. exigua* apesar de ser menos agressiva comparada a *M. incognita* e *M. paranaensis*, outras espécies de nematóides das galhas que parasitam o cafeeiro, é certamente a responsável pelos maiores prejuízos totais à cafeicultura nacional. Esta espécie chegou a causar redução de 58% no desenvolvimento de mudas de cafeeiro sob condição de casa de vegetação na Costa Rica (Rodrigues *et al.*, 1995) e perdas na produtividade da ordem de 45% em cafezais do noroeste do Estado do Rio de Janeiro (Barbosa *et al.*, 2004).

Por ser um patógeno biotrófico, *M. exigua* alimenta-se exclusivamente do citoplasma de células vegetais vivas. Portanto, o mesmo necessita de plantas hospedeiras para sua sobrevivência e multiplicação. As perdas devido ao seu parasitismo ocorrem pela extrapolação de nutrientes e principalmente devido a mudanças anatômicas nas raízes, como o desenvolvimento de células gigantes e, ou a formação galhas, resultante da hipertrofia e hiperplasia de células do cilindro central que comprimem os vasos do xilema, reduzindo assim a absorção e o transporte de água e nutrientes (Kirkpatrick *et al.*, 1991).

A formação de células gigantes ocorre pela ativação de genes da planta hospedeira e da reativação do ciclo celular, engatilhada por secreções das glândulas esofagianas do nematóide (Williamson & Hussey, 1996). Essas células sofrem sucessivas divisões nucleares sem ocorrência de citocinese, tornando-se multinucleadas. O citoplasma dessas células torna-se denso, com elevado número de mitocôndrias, e as paredes celulares tornam-se invaginadas, aumentando a superfície de absorção de fotoassimilados, minerais e outros metabólitos. A indução e a manutenção das células gigantes, dependem do contínuo estímulo do nematóide, sem o qual essas células atrofiam e degeneram (Reddigari *et al.*, 1985). Ao redor dos sítios de alimentação ocorre a divisão de células corticais, dando origem às típicas galhas induzidas por *Meloidogyne* spp. (Williamson & Gleason, 2003).

Essa espécie estava presente em 31% das amostras de solo e raízes coletadas em várias propriedades cafeeiras de Minas Gerais (Campos & Melles, 1987). A distribuição deste nematóide continua aumentando nos cafezais mineiros. No ano de 1999, *M. exigua* estava presente em 45,4% das amostras de solo e raízes coletadas neste Estado (Souza *et al.*, 1999) e em 40 e 45 % das amostras coletadas nos municípios paranaenses de Terra Rocha e Altônia, respectivamente, (Portz *et al.*, 2006), apresentando como a segunda espécie mais distribuída no oeste do Estado do Paraná. Em levantamento realizado no Planalto de Vitória da Conquista e Chapada Diamantina no Estado da Bahia, de 316 propriedades avaliadas em seis municípios, 57,3% dos cafeeiros amostrados encontraram-se infectados com *M. exigua* (Souza *et al.*, 2000). Além dos Estados citados acima, o mesmo já foi detectado em SP, ES, RJ, DF, CE, PA, AM e MT (Santos, 1997).

Até início dos anos 80 do último século, *M. exigua* era a única espécie do gênero *Meloidogyne* relatada parasitando os cafezais mineiros, quando em Machado, Sul de Minas, foi constatada a espécie *M. coffeicola*, a qual foi em seguida erradicada (Guerra Neto *et al.* 1983; Campos *et al.*, 1985). Apesar das quatro raças de *M. incognita* estarem presentes em outras culturas e plantas daninhas no Estado, as mesmas foram incapazes de se reproduzir nas mudas de cafeeiro, independente da concentração de inóculo, da temperatura, do estágio de desenvolvimento e do genótipo de cafeeiro (Oliveira, 2006). Em 1984, foi observada uma população de *M. incognita* infectando o cafeeiro em Nova Resende e São Tomás de Aquino na mesma região (Guerra Neto & D'Antonio, 1985). Constatou-se que essa população, infectiva ao cafeeiro, foi introduzida por meio de mudas contaminadas procedentes do Estado de São Paulo, tais lavouras foram posteriormente erradicadas.

Em levantamento recente, *M. paranaensis* foi diagnosticada apenas em um município, Piumhi, no sul do Estado (Castro *et al.*, 2008). Além desse, foi detectada nos municípios de Serra do Salitre e Patrocínio (Castro *et al.*, 2003), e *M. coffeicola* em Coromandel (Castro *et al.*, 2004), ambos localizados na região do Alto Paranaíba em Minas Gerais. Assim, *M. exigua* continua sendo a principal espécie de fitonematóides atacando os cafezais jovens e adultos do Estado de Minas Gerais (Oliveira *et al.*, 2005b; Castro *et al.*, 2008).

M. exigua se reproduz por partenogênese meiótica facultativa, um modo de reprodução que teoricamente favorece uma menor estabilidade genética quando

comparado a outras espécies que se reproduzem por partenogênese mitótica (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985).

Estudos envolvendo técnicas moleculares têm demonstrado a existência de variabilidade na espécie. Randig *et al.* (2002), por meio da técnica DNA polimórfico amplificado ao acaso RAPD, detectaram alto nível de polimorfismo intraespecífico (67,5%) entre as populações de *M. exigua* provenientes de cafeeiros e aquelas de seringueira. Curiosamente, tais populações oriundas de cafeeiro e seringueira têm revelado diferenças bioquímicas quanto à enzima esterase, o que culminou com a detecção de cinco fenótipos, E1, E1a, E1b, E2 e E3 (Esbenshade & Triantaphyllou, 1985; Carneiro & Almeida, 2000; Oliveira *et al.*, 2005b, Muniz *et al.*, 2008). Mas, variabilidade fisiológica também tem sido encontrada, como no trabalho de Carneiro & Almeida (2000) e confirmada por Silva (2005), que propuseram a separação das “raças fisiológicas” com base na capacidade de reprodução em plantas de diferentes espécies botânicas. A raça 1 é constituída por indivíduos que infectam o pimentão e o cafeeiro, mas não conseguem infectar o tomateiro; indivíduos da raça 2 infectam o tomateiro, o pimentão e o cafeeiro, e à raça 3 pertencem os indivíduos que não infectam o tomateiro, o pimentão e nem o cafeeiro, mas atacam a seringueira. Além disso, um comportamento diferencial foi observado entre populações de *M. exigua*, quanto à capacidade de infectar genótipos de cafeeiro derivados do Híbrido de Timor (Silva *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2007b).

Além do cafeeiro, a lista de hospedeiros de *M. exigua* integra culturas de importância econômica tais como o tomate e o pimentão e dezenas de plantas daninhas (Lima *et al.*, 1985; Almeida & Campos, 1991; Santos *et al.*, 1992; Oliveira *et al.*, 2005a). Esta espécie constitui-se também num sério problema na cultura da seringueira (*Hevea brasiliensis*), na qual ocorre de forma endêmica na Amazônia (Santos, 1995), onde encontra-se disseminada no município de São José do Rio Claro em Mato Grosso (Bernado *et al.*, 2003). O Mato Grosso possui a maior área cultivada com esta cultura no Brasil, que participa com cerca de 22% do látex coagulado (Anônimo, 2001).

A utilização de cultivares resistentes, na forma de porta enxerto ou em pé franco, constitui-se numa das principais formas de controle de *M. exigua*. O sucesso desta prática vai depender do conhecimento das espécies ou raças presentes na área, pois a resistência é na maioria das vezes específica (Gonçalves & Silvarolla, 2001).

Em *C. canephora*, *C. congensis* e *C. dewevrei*, têm-se encontrado gene (s) de resistência permitindo o uso de plantas dessas espécies como porta-enxertos e doador (as) de gene (s) para espécies suscetíveis, porém produtivas (Curi *et al.*, 1970; Fazuoli & Lordello, 1977; Gonçalves & Silvarolla, 2001). Híbridos artificiais de *C. arabica* x *C. canephora*, como por exemplo, do genótipo Icatu, H4782-7-585 e H4782-7-785 que são resistentes à ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*), apresentaram também resistência à *M. exigua*, *M. incognita* e, ou *M. paranaensis*, como H4782-7-925, porém esses híbridos têm segregado para essa característica (Gonçalves *et al.*, 1998). As seleções de Híbridos de Timor e derivados UFV 981, UFV 1266 e UFV 1848, que apresentam resistência ao fungo *Hemileia vastatrix*, também foram imunes e homozigotos quanto à resistência à *M. exigua* (Silva *et al.*, 2007b). Essa característica eleva-os a uma categoria superior de doador (es) de gene(s) num programa de melhoramento (Silva *et al.*, 2007b).

Resistência genética no controle de fitonematóides

A utilização da resistência genética no controle de doenças de plantas é considerada uma das principais estratégias de manejo de fitonematóides, em especial para os endoparasitos sedentários, como os do gênero *Meloidogyne*, que apresentam uma interação especializada e complexa com seus hospedeiros (Roberts, 2002).

A resistência natural de plantas aos fitopatogênicos baseia-se, em parte, em uma diversidade de mecanismos de defesa pré-existentes, independentemente da chegada do patógeno no sítio de infecção (Kiraly *et al.*, 1970; Goto, 1990; Sticher *et al.*, 1997). Porém, as plantas possuem outros mecanismos de defesa ainda mais eficazes, que, aparentemente, permanecem inativos ou latentes, sendo ativados e expressos após entrarem em contato com algum agente indutor (Kiraly *et al.*, 1970; Colson & Deverall, 1996; Sticher *et al.*, 1997; Fodor *et al.*, 1998).

Em geral, uma planta resistente a nematóides pode repelir ou dificultar a sua penetração, impedir o seu estabelecimento, atrasar o seu desenvolvimento e diminuir ou inibir a reprodução em seus tecidos (Dropkin, 1969). Quatro principais tipos de mecanismos de resistência podem ser distinguidos: (i) a planta pode produzir substâncias tóxicas que matam o nematóide; por exemplo, *Asparagus officinalis* que contém em seu caule, folhas e raízes um glicosídeo tóxico a *Trichodorus christiei*, e a população desse nematóide declina rapidamente próximo às raízes dessa planta

(Rhode & Jenkins, 1958). As raízes de *Tagetes patula* e *T. erecta* contêm α -tertienil e derivados de bitienil (Uhlenbroek & Bijloo, 1959), os quais limitam populações de *Meloidogyne* spp. e *Pratylenchus* spp. (Oostenbrink, 1957; Winoto, 1969); (ii) a resistência reside no fato de que nem todas as plantas contêm substâncias necessárias para o desenvolvimento e a reprodução de certas espécies de nematóides, ou contêm quantidade insuficientes. Webster (1969) determinou que o ácido indolacético (IAA), e seu precursor triptofano, são necessários para a reprodução de *Aphelenchoides ritzemabosi*. Szczygiel & Giebel (1970) observaram que o sistema enzimático de IAA-oxidase apresentava maior atividade em variedade de morango resistente a *A. fragariae* do que em variedades suscetíveis. Isso ocorre possivelmente porque o IAA e alguns compostos derivados estimulam o desenvolvimento e a reprodução do nematóide; (iii) a resistência pode ser baseada na falta de atração. Portanto, diferenças de compostos químicos secretados pelas plantas podem ser repelentes, neutras ou agir como atrativos em diferentes espécies de nematóides (Giebel, 1982); (iv) a ocorrência de reação de hipersensibilidade (HR) ao ataque pelo nematóide, que provoca mudanças histológicas, como a morte celular próxima ao sítio de infecção do juvenil de segundo estágio de *Meloidogyne* spp. (Dropkin, 1969). Durante a HR, diversas rotas bioquímicas também podem ser ativadas, culminando com aumento de atividades de enzimas, produção de compostos fenólicos, lignina e fitoalexinas, dentre outros.

Moutain & Patrick (1959) descobriram que o glicosídeo amigdalina era hidrolizado a ácido hidrocianico e benzaldeído em raízes de pêssigo pela enzima β -glucosidase de *Pratylenchus penetrans*. Esses compostos foram nocivos ao patógeno e ao hospedeiro, causando escurecimento e morte dos tecidos no local da penetração. A rapidez da morte do tecido foi dependente da concentração de amigdalina.

A infecção do cafeeiro Catimor (*Coffea arabica* cv. Caturra x Híbrido de Timor) por *M. exigua* e *M. megadora* acarreta a necrose, que se assemelha a uma reação de hipersensibilidade, que se inicia quando o nematóide induz a formação o sítio de alimentação (Rodrigues, *et al.*, 2000). Essas observações, associadas às obtidas por Anthony *et al.* (2005) que observaram condensamento do citoplasma e alteração nas estruturas das organelas, juntamente com a caracterização por Noir *et al.* (2003) do gene de resistência a *M. exigua* (*Mex-1*) reforçam a idéia de que a interação *M. exigua*-cafeeiro seja baseada no modelo gene-a-gene de Flor (Flor, 1971). No entanto, estudos mais refinados, por meio da microscopia eletrônica de

transmissão e análises bioquímicas, fazem-se necessário para esclarecimento dos mecanismos de resistência desencadeados na interação *Meloidogyne exigua*-cafeeiro. Isto se deve ao fato de que respostas de defesa das células do cafeeiro podem ser ativadas em estágio mais avançados da patogênese, inibindo ou atrasando o desenvolvimento de juvenis e a completa diferenciação do sítio de alimentação ou, até mesmo, interferir na reprodução.

Já é bem conhecido o envolvimento de compostos fenólicos em resposta de defesa das plantas a fitopatógenos. Há uma distinta correlação entre o grau de resistência da planta e a concentração de compostos fenólicos em seus tecidos (Giebel, 1970; Hung & Rohde, 1973; Rodrigues *et al.*, 2000). A observação de que compostos eletro-densos acumulam nos sítios de infecção, decorrente da invasão de *M. incognita* em raízes de tomateiro, sugerem que compostos fenólicos possam estar envolvidos na resposta de defesa da planta a este nematóide. Embora seja conhecido que compostos fenólicos são formados nas raízes de plantas em resposta a infecção por nematóide, pouca informação é disponível sobre a natureza dessas substâncias e de seu potencial papel na defesa contra *Meloidogyne* spp.

A presença do ácido clorogênico foi detectada em raízes de tomateiro resistente a nematóide das galhas, as quais exibiram necroses em resposta a invasão do juvenil de segundo estágio do nematóide (Hung & Rohde *et al.*, 1973). A quantidade de ácido clorogênico em raízes de pimentão (*Capsicum annuum*) cv. Doux Long des Landes (suscetível), inoculada com *M. arenaria* foi apenas 20% superior a das raízes das plantas não inoculadas. Entretanto, na cv. resistente CM 334, a quantidade de ácido clorogênico foi 59 vezes maior em raízes infectadas do que nas sadias (Pegard *et al.*, 2005).

Uma metodologia que tem grande potencial, mas não é bem explorada para o estudo de mecanismos de incompatibilidade na interação patógeno-hospedeiro, principalmente para fitonematóides, é a utilização de populações (“raças” ou “biótipos”) virulentas e avirulentas de uma mesma espécie de patógeno em genótipos da planta hospedeira. Tais estudos podem ser úteis para o esclarecimento dos mecanismos bioquímicos e moleculares envolvidos na resistência do cafeeiro à *M. exigua*.

O silício no controle de fitopatógenos

Dentre os elementos minerais utilizados no manejo de doenças em plantas o silício (Si) tem demonstrado efeito positivo por reduzir a severidade de doenças em diversas culturas de expressão econômica em várias partes do mundo (Epstein, 1999; Rodrigues & Datnoff, 2005). Este elemento é de ocorrência abundante na natureza (Epstein, 1999), encontra-se na solução do solo na forma de ácido monossilícico (H_4SiO_4), prontamente disponível à absorção pelas plantas. A essencialidade do Si na fisiologia das plantas é motivo de controvérsias entre autores. Diversos pesquisadores o classificam como um elemento benéfico ou útil às plantas, entretanto, recentemente vem recebendo a denominação de quase-essencial (Epstein & Bloom, 2005). Isto deve-se, principalmente à dificuldade de se eliminar completamente o Si da solução nutritiva nos estudos sem a presença desse elemento e da comprovada essencialidade do mesmo para algumas espécies de vegetais (Epstein & Bloom, 2005). As espécies mais beneficiadas pelo Si pertencem às famílias Poaceae, Equisetaceae e Cyperaceae (Elawad & Green, 1979) e são chamadas acumuladoras de Si, pois são capazes de acumular mais de 1% desse elemento nos seus tecidos (Epstein, 1994). As dicotiledôneas de uma maneira geral apresentam o teor de 0,1% a 1% de Si. Entretanto, acredita-se que elas possam se beneficiar de algumas vantagens conferidas por esse elemento. Essas discrepâncias no conteúdo de Si são devidas a diferenças na habilidade das raízes de absorver o silício (Takahashi *et al.*, 1990).

Foi descoberto, recentemente que a rápida absorção e acúmulo de Si em plantas de arroz deve-se a absorção ativa. Esta é proporcionada pela presença da proteína transportadora, produzida pelo gene *LSi1*, que se localiza nas membranas plasmáticas da exoderme e endoderme das células das raízes (Ma *et al.*, 2006). Por outro lado, a absorção desse elemento por outras espécies vegetais, como o pepineiro e o tomateiro, ocorre via difusão passiva (Mitani & Ma, 2005). O transporte à longa distância de Si em plantas ocorre via xilema (Balastra *et al.*, 1989), sendo depositado preferencialmente como $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ amorfa ou opala. O Si não sofre redistribuição devido a sua precipitação na forma de SiO_2 (Raven, 1983). A deposição de Si ocorre tanto nas raízes quanto na parte aérea (Sangster & Parry, 1976; Hodson & Sangster, 1988). Nas dicotiledôneas, tais como citros, soja, morango, rabanete, repolho e tomate, o Si acumula-se de preferência nas raízes (Sangster, 1978; Wutscher, 1989).

Estudos preliminares mostraram que em raízes de cafeeiro, o teor deste elemento atingiu níveis acima de 1% (Silva *et al.*, 2007b), o que levaria a classificá-la, segundo Jones & Handreck (1967) como uma espécie intermediária (1-3%) quanto ao acúmulo de Si.

O arroz é a cultura mais bem estudada em relação ao papel do Si. A presença desse elemento melhorou o aproveitamento da água diminuindo a taxa de transpiração, aumentou a área fotossintética e reduziu o número de grãos quebrados (Savant *et al.*, 1997a), além de elevar os conteúdos de hemicelulose e lignina, o que aumenta ainda mais a rigidez da parede celular (Adatia & Besford, 1986). Doenças fúngicas de importância econômica como a brusone (*Magnaporthe grisea*), a mancha parda (*Cochliobolus miyabeanus*), a podridão do colmo (*Magnaporthe salvinii*), a escaldadura (*Monographella albescens*), a queima-das-bainhas (*Thanatephorus cucumeris*) e a descoloração dos grãos (causada por espécies de *Bipolaris*, *Fusarium*, entre outros fungos) tiveram suas intensidades significativamente reduzidas após a aplicação de Si no solo (Datnoff *et al.*, 1997; Savant *et al.*, 1997b; Rodrigues *et al.*, 2001, 2003b; Rodrigues & Datnoff &, 2005). Com relação a doenças causadas por bactéria parasitas de plantas, o Si também apresentou efeito positivo. Houve redução significativa no tamanho das lesões incitadas por *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* em folhas de arroz de quatro cultivares, nos tratamentos supridos com o Si (Chang *et al.*, 2002).

Rodrigues *et al.* (2003a) estudaram, a nível ultraestrutural e citoquímico, os eventos da patogênese na interação arroz-*M. grisea* com a aplicação de Si e apresentaram as primeiras evidências de que o aumento na resistência foi devido ao acúmulo de compostos fenólicos. Nas plantas que receberam Si, as hifas do fungo presentes nas células da epiderme, do mesófilo e do sistema vascular ficaram vazias e foram circundadas por uma camada densa de material osmiofílico, o que sugere que compostos fenólicos ou fitoalexinas tiveram um papel determinante na resistência do arroz a brusone. É possível que o Si, por ser um semi-metal, esteja potencializando os mecanismos de resistência do arroz a brusone, principalmente por atuar na rota metabólica dos fenilpropanóides.

Já foi registrado o efeito positivo do Si no controle de doenças fúngicas em dicotiledôneas cultivadas comercialmente, principalmente em hidroponia, tais como o míldio pulverulento (*Podosphaera xanthii*) em abóbora, a podridão das raízes (*Pythium ultimum*) e a murcha-de-fusário em pepino, o míldio pulverulento

(*Uncinula necator*) da videira e o oídio da roseira (Miyake & Takahashi, 1983; Bowen *et al.*, 1992; Menzies *et al.*, 1991; Chérif *et al.*, 1992a; Bélanger *et al.*, 1995). A adição do silicato de cálcio ao solo para o cultivo do feijoeiro reduziu em 62,4% a severidade antracnose, em relação à testemunha (Moraes *et al.*, 2006).

Em pepineiro, Menzies *et al.* (1991) observaram mudanças drásticas na expressão da defesa de células da epiderme colonizadas por *Podosphaeria xanthii*. Compostos fenólicos acumularam de forma mais rápida nas células de plantas supridas com Si e infectadas pelo fungo do que nas células de plantas que não receberam esse elemento. Células das raízes de pepineiro infectadas por *Pythium ultimum* supridas com Si responderam de forma mais rápida a infecção por meio do acúmulo de compostos fenólicos. Ao contrário da barreira física, os fenóis presentes exerceram um efeito tóxico que impediu o ingresso do patógeno no sistema vascular (Chérif *et al.*, 1992b). Em outro estudo, Chérif *et al.* (1994) observaram que a atividade de enzimas relacionadas com a patogênese quitinases, peroxidases e polifenoloxidasas em plantas de pepino supridas com o Si e inoculadas com *P. ultimum* tiveram um aumento drástico, ao contrário do observado em plantas que não receberam Si e inoculadas com o patógeno. A descoberta de que uma nova classe de fitoalexina é induzida em pepineiro pelo Si após infecção por *P. xanthii* (Fawe *et al.*, 1998) leva a crer que esse elemento potencializa uma cascata de eventos bioquímicos relacionados com a defesa a patógenos. Bélanger *et al.* (2003) encontraram uma extensiva deposição de fenóis glicosilados, após marcação citoquímica com sonda específica, na parede das células da epiderme de trigo que receberam Si e colonizadas por *Blumeria graminis* f.sp. *tritici*. A presença desses compostos também foi observada envolvendo a membrana extra-haustorial do fungo, comprometendo a absorção de nutrientes.

Recentemente, Pozza *et al.* (2004) ao estudarem o efeito da aplicação do Si (1g de CaSiO_3 por quilo de substrato) na intensidade da cercosporiose (*Cercospora coffeicola*) em mudas de cafeeiro cultivadas em tubetes, observaram uma redução de 63% nas folhas lesionadas e de 43% no total de lesões por planta na cultivar Catuaí, em relação à testemunha. Os mesmos autores observaram maior quantidade de Cu, Fe e Zn nas mudas de cafeeiro tratadas com Si, diferentemente do verificado na testemunha sem a adição do mesmo. Esses micronutrientes podem atuar como co-fatores na síntese de enzimas ligadas à patogênese, o que evidencia a atuação destes elementos no processo de defesa da planta (Bélanger *et al.*, 2003).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADATIA, M.H. & BESFORD, A.T. The effects of silicon on cucumber plants grown in recirculating nutrient solution. *Annals of Botany* 58: 343-351. 1986.
- ALFENAS, A.C. Eletroforese e marcadores bioquímicos em plantas e microrganismos. 2. ed. Editora UFV, Viçosa MG. 2006.
- ALMEIDA, V.F. & CAMPOS, V.P. Alternância de culturas e sobrevivência de *Meloidogyne exigua* em áreas de cafezal infestado e erradicado. *Nematologia Brasileira* 15: 30-42. 1991.
- ANÔNIMO. Anuário da Agricultura Brasileira, Agrianual. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio, 545p. 2001.
- ANTHONY, F., TOPART, P., MARTINEZ, A., SILVA, M. & NICOLE, M. Hypersensitive-like reaction conferred by the *Mex-1* resistance gene against *Meloidogyne exigua* in coffee. *Plant Pathology* 54: 476. 2005.
- BALASTRA, M.L.F., PEREZ, C.M., JULIANO, B.O. & VILLREAL, P. Effects of silica level on some properties of *Oriza sativa* straw and hult. *Can. J. Bot.* 67: 2356-63. 1989.
- BARBOSA D.H.S.G., VIEIRA, H.D., SOUZA, R.M. & SILVA, C.P. Survey of root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) in coffee plantations in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Nematologia Brasileira*, 28: 43-47. 2004a.
- BARBOSA, D.H.S.G., VIEIRA, H.D., SOUZA, R.M., VIANA, A.P. & SILVA, C.P. Field estimates of coffee yield losses and damage threshold by *Meloidogyne exigua*. *Nematologia Brasileira* 28: 49-54. 2004b
- BÉLANGER, R.R., BOWEN, P.A., EHRET, D.L. & MENZIES, J.G. Soluble silicon: its role in crop and disease management of greenhouse crops. *Plant Disease* 79: 329-336. 1995.
- BÉLANGER, R.R. & MENZIES, J.G. Use of silicon to control diseases in vegetable crops. In: XXXVI Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Uberlândia, MG. *Fitopatologia Brasileira* 28: 42-45. 2003.

BERNADO, E.R.A., SANTOS, J.M., SILVA, R.A., NETO, D.C., SANTOS, S.S., DELMADI, L. & ROCHA, V.F. Levantamento de *Meloidogyne exigua* na cultura da seringueira em São José do Rio Claro, MT, Brasil. *Ciência Rural* 33: 157-159. 2003.

BONETI, J.I.S., FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira* 6: 553. 1981. (Resumo)

BOWEN, P., MENZIES, J. & EHRET, D. Soluble silicon sprays inhibit powdery mildew development on grape leaves. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 117: 906-912. 1992.

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* 72: 248-254. 1976.

BYRD, J.D.W., KIRKPATRICK, J. & BARKER, K.R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. *Journal of Nematology* 15: 142. 1983.

CAIXETA, G.Z.T. Gerenciamento da cafeicultura em época de crise. In: Zambolim, L. (Ed.). *Tecnologias de produção de café com qualidade*. Viçosa: Editora UFV. 2001. pp.1-24.

CAMPOS, V.P., LIMA, R.D. & ALMEIDA, V.F. Nematóides parasitas do cafeeiro. *Informe Agropecuário* 11: 50-58. 1985.

CAMPOS, V.P. & MELLES, C.C.A. Ocorrência e distribuição das espécies de *Meloidogyne incognita* em cafezais dos campos das vertentes e do sul de Minas. *Nematologia Brasileira* 11: 33-241. 1987.

CAMPOS, V.P. & VILLAIN, L. Nematode parasites of coffee and cocoa. In: LUC, M., SIKORA, R.A. & BRIDGE, J. (Eds.) *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. Wallingford UK. CAB. Internacional. 2005. pp. 529-579.

CARNEIRO, R.M.D.G & ALMEIDA, M.R.A. Caracterização isoenzimática e variabilidade intraespecífica dos nematóides de galhas do cafeeiro no Brasil. In: I SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL. Poços de Caldas, MG. 2000. pp. 280-282.

CARNEIRO, R.M.D.G. & ALMEIDA, M.R.A. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas dos nematóides das galhas para identificação de espécies. Fitopatologia Brasileira 25: 35-44. 2001.

CARNEIRO, R.M.G., ONIVALDO, R., ALMEIDA, M.R.A. & GONÇALVES, W. Identificação e caracterização de espécies de *Meloidogyne* em cafeeiro nos Estados de São Paulo e Minas Gerais através dos fenótipos de esterase e SCAR-multiplex-PCR Nematologia Brasileira 29:2 33-241. 2005.

CARVALHO, A. Histórico do desenvolvimento do cultivo do café no Brasil. Campinas, Instituto Agrônomo, 7 p. (Documentos do IAC, 34). 1993.

CASTRO, J.M.C., CAMPOS, V.P. & NAVES, R.L. Ocorrência de *Meloidogyne paranaensis* em cafeeiros na região do Alto Paranaíba em Minas Gerais. Fitopatologia Brasileira 28: 565. 2003.

CASTRO, J.M.C., CAMPOS, V.P. & DUTRA, M.R. Ocorrência de *Meloidogyne coffeicola* em cafeeiros do município de Coromandel, região do Alto Paranaíba em Minas Gerais. Fitopatologia Brasileira 29: 227. 2004.

CASTRO, J.M.C., CAMPOS, V.P., POZZA, E.A., NAVES, R.L., ANDRADE JUNIOR, W.C., DUTRA, M.R., COIMBRA, J.L., MAXIMINIANO, C. & SILVA, J.R.C. Levantamento de fitonematóides em cafezais do Sul de Minas Gerais. Nematologia Brasileira 32: 56-64. 2008.

CHANG, S.J., TZENG, D.D.S., & LI, C.C. Effect of silicon nutrient on bacterial blight resistance of rice (*Oryza sativa* L.). In: SECOND SILICON IN AGRICULTURE CONFERENCE. T. Matoh, ed. Press-Net, Kyoto, Japan, 2002. pp. 31-33.

CHÉRIF, M., BENHAMOU, N., MENZIES, J.G. & BÉLANGER, R.R. Silicon induced resistance in cucumber plants against *Pythium ultimum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 41: 411-425. 1992a.

CHÉRIF, M., MENZIES, J.G., BENHAMOU, N., BÉLANGER, R.R. Studies of silicon distribution in wounded and *Pythium ultimum* infected cucumber plants. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 41: 371-383. 1992b.

CHÉRIF, M., ASSELIN, A. & BÉLANGER, R.R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. *Phytopathology* 84: 236-242. 1994.

CHITWOOD, D.J. Research on plant-parasitic nematode biology conducted by the United States Department of Agriculture–Agricultural Research Service. *Pest Management Science* 59: 748-753. 2003.

COLSON, E. & DEVERALL, B. Helping plants fight their own disease battles. *Australian Cottongrower* 17: 76-80. 1996.

CONAB: Convênio Ministério da Agricultura – Secretaria da Produção e Comercialização. da safra brasileira de café 2008. Disponível na Internet via WWW. URL: <http://www.conab.gov.br>. Última atualização em 30 de dezembro de 2008.

CURI, S.M., CARVALHO, A., MORAES, F.P., MONACO, L.C & ARRUDA, H.V. Novas fontes de resistência genética de *Coffea* no controle do nematóide do cafeeiro, *Meloidogyne exigua*. *O Biológico* 36: 41- 44. 1970.

DATNOFF, L.E., DEREN, C.W. & SNYDER, G.H. Silicon fertilization for disease management of rice in Florida. *Crop Protection* 16: 525-531. 1997.

DATNOFF L.E., RODRIGUES, F.Á. & SEEBOLD K.W. 2007 Silicon and plant disease. In: DATNOFF, L.E., ELMER, W.H. & HUBER, D.M. Mineral nutrition and plant disease. The American Phytopathological Society Press: St Paul, MN. 2007. pp. 233-246.

DAVIS, B.J.B. Disk electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Annals of the New York Academy of Sciences* 121: 404. 1964.

DROPKIN, V.H. The necrotic reaction of tomatoes and other host resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. *Phytopathology* 59: 1632. 1969.

DUTRA, M.R., GARCIA, A.L.A., PAIVA, B.R.T.L., SILVA, R.V.B. & CAMPOS, V.P. Controle do nematóide *Meloidogyne exigua* em cafeeiro com produtos alternativos no município de Varginha-MG. *Fitopatologia Brasileira* 29: 174. 2004. (Resumo)

ELAWAD, S.H. & GREEN, V.E. Silicon and the rice plant environment: A review of recent research. *II Riso, Milano*. 28: 235-253. 1979.

ELLIOTT, C.L., SNYDER, G.H. Autoclave-induced digestion for the colorimetric determination of silicon in rice straw. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 39: 1118-1119. 1991.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília, 1999. 412p.

EPSTEIN, E. The anomaly of silicon in plant biology. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 91: 11-17. 1994.

EPSTEIN, E. Silicon. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 641-664. 1999.

EPSTEIN, E. & BLOOM, A.J. Mineral nutrition of plants: principles and perspectives. 2nd ed. pp. 19-23. 2005.

ESBENSHADE, P.R. & TRIANTAPHYLLOU, A.C. Electrophoretic methods for the study of root-knot nematode enzymes. In: BARKER, K.R., CARTER, C.C., SASSER, J.N. (Eds.) *An advanced treatise on Meloidogyne*. North Carolina State University Graphics, p.115-123. 1985.

FAZUOLI, L.C. & LORDELLO, R.R.A. Resistência de *Coffea liberica* e *C. dewevrei* a *Meloidogyne exigua*. *Nematologia Brasileira* 2: 197-199. 1977.

FAWE, A., ABOU-ZAID, M., MENZIES, J.G. & BÉLANGER, R.R. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. *Phytopathology* 88: 396-401. 1998.

FODOR, J., JOZSA, A. & KIRALY, Z. Systemic acquired disease resistance in plants. *Novenyvedelem* 34: 117-126. 1998.

GIEBEL, J. Phenolic content in roots of some *Solanaceae* and its influence on IAA-oxidase activity as an indicator of resistance to *Heterodera rostochiensis*. *Nematologica* 16: 22-32. 1970.

GIEBEL, J. Mechanism of resistance to plant nematodes. *Annual Review of Phytopathology* 20: 257-279. 1982.

GONÇALVES, W. & PEREIRA, A.A. Resistência de cafeeiro a nematóides IV Reação do cafeeiro derivados do híbrido de Timor a *Meloidogyne exigua*. *Nematologia Brasileira* 22: 39-49. 1998.

GONÇALVES, W. & SILVAROLLA, M.B. Nematóides parasitos do cafeeiro. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) *Tecnologias de produção de café com qualidade*. Viçosa: Editora UFV. 2001. pp.199-267.

GOTO, M. *Fundamentals of bacterial plant pathogens*. San Diego: Academic Press. 1990.

GUERRA NETTO, E.G., D'ANTONIO, A.M., ALMEIDA, S.R. & LORDELLO, L.G.E. Ocorrência do nematóide *Meloidogyne coffeicola* Lordello & Zamith, 1960, em lavoura de café no sul do estado de Minas Gerais. *Revista de Agricultura* 58: 45. 1983.

GUERRA NETTO, E.G., D'ANTONIO, A.M. & FREIRE, A.C.F.E. Influência de *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887, no desenvolvimento de lavoura de *coffea arabica* L., variedade Mundo Novo. In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS. Caxambu, MG. p. 36-37. 1985. (Resumos)

HIRSCHMANN, H. The genus *Meloidogyne* and morphological characters differentiating its species. In: BARKER, K.R., CARTER, C.C. & SASSER, J.N.

(Eds.). An advance treatise on *Meloidogyne*. Methodology. North Carolina State University Graphics, Raleigh, 2: 79-93. 1985.

HODSON, M.J. & A.G. SANGSTER. Observations on the distribution of mineral elements in the leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.), with particular reference to silicon. *Ann. Bot.* 62: 463-471. 1988.

HUNG, C. & ROHDE, R.A. Phenol accumulation related to resistance in tomato to infection by root-knot and lesion nematodes. *Journal of Nematology* 5: 253-257. 1973.

JOHNSON, C.M., ULRICH, A. Analytical methods for use in plants analyses. Los Angeles: University of California, 1959. 247p.

JONES, L.H.P. & HANDRECK, K.A. Silica in soils, plants and animals. *Advances in Agronomy* 19: 107-149. 1967.

KIRALY, Z., KLEMENT, Z., SOLIMOSY, F. & VOROS, J. Methods in plant pathology. Budapest: Akademiai Kiadó. 1970.

KRZYZANOWSKI, A.A., FIGUEIREDO, R., SANTIAGO, D.C. & FAVORETO, L. Levantamento de espécies e raças de *Meloidogyne* em cafeeiros no Estado do Paraná. In: II SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL. Vitória, ES. p. 81. 2001.

LIMA, R.D., CAMPOS, V.P., HUANG, S.P. & MELLES, C.C.A. Reprodutividade e parasitismo de *Meloidogyne exigua* em ervas daninhas que ocorrem em cafezais. *Nematologia Brasileira* 9: 63-72. 1985.

LORDELLO, L.G.E. Nematóides das plantas cultivadas. 8° ed. São Paulo: Nobel, 1984. 314p.

LORDELLO, A.I.L. & LORDELLO, R.R.A. Nematóides encontrados em cafezais do Estado de São Paulo. *Congresso Brasileiro de Nematologia* 23: 85. 2001.

MA J.F., TAMAI K., YAMAJI N., MITANI M., KONISHI S., KATSUHARA M., ISHIGURO M., MURATA Y. & YANO M. Silicon transporter in Rice. *Nature* 440: 688-691. 2006.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed. New York. Academic Press. 1995.

MENZIES, J.G., EHRET, D.L., GLASS, A.D.M., HELMER, T., KOCH, C. & SEYWERT, F. Effects of soluble silicon on the parasitic fitness of *Sphaerotheca fuliginea* on *Cucumis sativus*. *Phytopathology* 81: 84-88. 1991.

MITANI, N. & MA J.F. Uptake system of silicon in different plant species. *Journal of Experimental Botany* 56: 1255-61. 2005.

MIYAKE, Y. & TAKAHASHI, E. Effect of silicon on the growth of solution-cultured cucumber plant. *Soil Science and Plant Nutrition* 29:71-83. 1983.

MOLINARI, S. Molecular aspects of plant nematode interaction. *Nematologia Mediterranea* 24:139-154. 1996.

MONTIES, B. Lignins. In: DEY, P.M. & HARBORNE, J.B. (Eds.) *Methods in Plant Biochemistry*. Volume 1. New York. Academic Press. 1989. pp. 113-158.

MORAES, S.R.G., POZZA, E.A., ALVES, E., POZZA, A.A.A., CARVALHO, J.G., LIMA, P.H. & BOTELHO, A.O. Efeito de fontes de silício na incidência e na severidade da antracnose do feijoeiro. *Fitopatologia Brasileira* 31: 69-75. 2006.

MORI, T., SAKURAI, M. & SAKUTA, M. Effects of conditioned medium on activities of PAL, CHS, DAHP synthase (DS-Co and DS-Mn) and anthocyanin production in suspension cultures of *Fragaria ananassa*. *Plant Science* 160: 355-360. 2001.

MOUNTAIN, W.B. & PATRICK, Z.A. The peach replant problem in Ontario. 7. The pathogenicity of *Pratylenchus penetrans* (Cobb, 1917) Filip. & Schuurm.-Stekh. 1941. *Can. J. Bot.* 37: 459-470. 1959.

MOURA, R.M. Reedição do relatório sobre a moléstia do cafeeiro na província do Rio de Janeiro, 1887, Emilio Augusto Göeldi. Recife, UFRPE. 1998. 121p.

MUNIZ, M.F.S., CAMPOS, V.P., CASTAGNONE-SERENO P., CASTRO, J.M.C., ALMEIDA, M.R.A. & CARNEIRO, R.M.D.G. Diversity of *Meloidogyne exigua*

(Tylenchida: Meloidogynidae) populations from coffee and rubber tree. *Nematology* 10: 897-910. 2008.

OLIVEIRA, C.M.G., KUBO, R.K., ANTEDOMENICO, S.R. & MONTEIRO, A.R. Reação de cafeeiros a *M. javanica*. *Revista de Agricultura* 73: 307-313. 1998.

OLIVEIRA, D.S., OLIVEIRA, R.D.L., FREITAS, L.G. & SILVA, R.V. Variability of *Meloidogyne exigua* on coffee crops in the Zona da Mata of Minas Gerais State, Brazil. *Journal of Nematology* 37: 323-327. 2005b.

OLIVEIRA, D.S. Patogenicidade de populações de *Meloidogyne incognita*, proveniente de Minas Gerais e São Paulo, ao cafeeiro. Tese de Doutorado. Viçosa MG. Universidade Federal de Viçosa. 2006.

OOSTENBRINK, U., KUIPER, K. & JACOB, J.J.S. *Tagetes* al feindpfangen yon *Pratylenchus*-arten. *Nematologica Suppl.* 2: 421-433. 1957.

ORNSTEIN, L. Disc electrophoresis. I. Background and Theory. *Annals of the New York Academy of Sciences* 121: 321-349. 1964.

PEGARD, A., BRIZZARD, G., FAZARI, A., SOUCAZE, O., ABAD, P. & DJIAN-CAPORALINO, C. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsicum annuum*. *Phytopathology* 95: 158-165. 2005.

PORTZ, R.L., STANGARLIN, J.R., FRANZENER, G., BALBI-PEÑA, M.I. & FURLANETTO, C. *Meloidogyne* spp. associadas à cafeicultura em municípios do oeste do Paraná. *Nematologia Brasileira* 30: 23-27. 2006.

POZZA, A.A., ALVES, E., POZZA, E.A., CARVALHO, J.G., MONTANARI, M., GUIMARÃES, P.T.G. & SANTOS, D.M. Efeito do silício no controle da cercosporiose em três variedades de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira* 29: 185-188. 2004.

RANDIG, O., BONGIOVANNI, M., CARNEIRO, R.M.D.G & CASTAGNONE SERENO, P. Genetic diversity of root-knot nematodes from Brazil and development

of SCAR markers specific for the coffee-damaging species. *Genome* 45: 862-870. 2002.

RAVEN, J.A. The transport and function of silicon in plants. *Biological Reviews* 58: 179-207. 1983.

REDDIGARI, S.R., SUNDERMANN, C.A. & HUSSEY, R.S. Isolation of subcellular from second-stage juveniles of *Meloidogyne incognita*. *Journal of Nematology* 17: 482. 1985.

ROBERTS, P.A. Concepts and consequences of resistance. In: STARR, J.L., COOK, R. & BRIDGE, J. (Eds.). *Plant Resistance to Parasitic Nematodes*. CAB International. pp. 23-41. 2002.

RODRIGUES, A.C.F.O., ABRANTES, I.M.O., MELILLO, M.T. & BLEVEZACHEO, T. Ultrastructural response of coffee roots to root-knot nematodes, *Meloidogyne exigua* and *M. megadora*. *Nematropica* 30: 201-210. 2000.

RODRIGUES, F.A., DATNOFF, L.E., KORNDÖRFER, G.H., SEEBOLD, K.W. & RUSH, M.C. Effect of silicon and host resistance on sheath blight development in rice. *Plant Disease* 85: 827-832. 2001.

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* 93: 535-546. 2003a.

RODRIGUES, F.A., VALE, F.X.R., DATNOFF, L.E., PRABHU, A.S. & KORNDÖRFER, G.H. Effect of rice growth stages and silicon on sheath blight development. *Phytopathology* 93: 256-261. 2003b.

RODRIGUES, F.A. & DATNOFF, L.E. Silicon and rice disease management. *Fitopatologia Brasileira* 30: 457-469. 2005.

ROHDE, R.A. & JENKINS, W.R. Basis for resistance of *Asparagus officinalis* var *altilis* L. to the stubby-root nematode *Trichodorus christiei* Allen, 1957. *Md. Agric. Exp. Stn., Bull. A-97*: 1-19. 1958.

SANGSTER A.G. & PARRY D.W. The ultrastructure and electron-probe microassay of silicon deposits in the endodermis of the seminal roots of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Annals of Botany* 40: 447-459. 1976.

SANGSTER, A.G. Silicon in the roots of higher plants. *American Journal Botany* 65: 929-935. 1978.

SANTOS, J.M. *Meloidogyne exigua*, sério patógeno da seringueira nas plantações E. Michelin, em Rondonópolis, MT. Congresso Brasileiro de Nematologia, Lavras, MG, Brasil, p. 75. 1992. (Resumos)

SANTOS, J.M. *Meloidogyne exigua* e *Botryodiplodia theobromae*, principais componentes biótipos de uma doença complexa da seringueira em Mato Grosso. *Fitopatologia Brasileira* 28: 341. 1995.

SANTOS, J.M. Estudo das principais espécies de *Meloidogyne* Goeldi que infectam o cafeeiro no Brasil com descrição de *Meloidogyne goeldi* sp. n. Tese de Doutorado. Botucatu SP. FCA, UNESP. 1997.

SASSER, J.N. Pathogenicity, host ranges and variability in *Meloidogyne* species. In: LAMBERTI, F. & TAYLOR, C.E. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* species): systematics, biology and control. New York Academic Press, Inc.: 257-268. 1979.

SAVANT, N.K., DATNOFF, L.E. & SNYDER, G.H. Depletion of plant-available silicon in soils: a possible cause of declining rice yields. *Communication in Soil Science and Plant Analysis* 28: 1245-1252. 1997a.

SAVANT, N.K., SNYDER, G.H. & DATNOFF, L.E. Silicon management and sustainable rice production. *Advances in Agronomy* 58: 151-199. 1997b.

SILVA, R.V., OLIVEIRA, R.D., PEREIRA, A.A & PINTO, F.S. Variabilidade de *Meloidogyne exigua* em genótipos de cafeeiro. In: XXXVI CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA 28: 293. 2003. (Resumo)

SILVA, R.V. Produção de inóculo e diferenciação de raças de *Meloidogyne exigua* em *Coffea* spp. Dissertação de Mestrado. Viçosa MG. Universidade Federal de Viçosa. 2005.

SILVA, R.V., RODRIGUES, F.A., OLIVEIRA, R.D.L., FERREIRA, P.S. & CASTRO, D.B. Acúmulo de silício em raízes de cafeeiro e seu reflexo no controle de *Meloidogyne exigua*. Fitopatologia Brasileira 32: 159. 2007a. (Resumo)

SILVA, R.V., OLIVEIRA, R.D.L., PEREIRA, A.A. & SÊNI, D.J. Respostas de genótipos de *Coffea* spp. a diferentes populações de *Meloidogyne exigua*. Fitopatologia Brasileira 32: 205-212. 2007b.

SOUZA, J.T., MAXIMINIANO, C. & CAMPOS, V.P. Nematóides parasitos encontrados em cafeeiros em campo e em viveiros de mudas do Estado de Minas Gerais. Summa Phytopathologica 25: 180-183. 1999.

SOUZA, S.E., SANTOS, J.M., MATOS, R.V., RAMOS, J.A., SANTOS, F.S., FERRAZ, R.C.N., CARVALHO, G.S. & OLIVEIRA, C.A. Levantamento preliminar de *Meloidogyne* em cafeeiros no Estado da Bahia – Planalto de Vitória da Conquista e Chapada Diamantina. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. 2000. pp. 167-170.

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 38:1565-1571. 1990.

STICHER, L., MAUCH MANI, B. & MÉTRAUX, J.P. Systemic acquired resistance. Annual Review of Phytopathology 35: 235-270. 1997.

SZCZYGIEL, A. & J. GIEBEL. Phenols in the leaf buds of two strawberry varieties resistant and susceptible to *Aphelenchoides fragariae* Ritzema Bos Christie. Proc. IXth Int. Nematol. Symp., Europ. Soc. Nematol., Warsaw 1967. Zeszyty problem. Post. Nauk Rol. 92: 247-253. 1970.

TAKAHASHI, E., MA, J.F. & MIYAKE, Y. The possibility of silicon as an essential for higher plants. Comments Agricultural Food Chemical 2: 99-122. 1990.

SWAIN, B.N. & PRASAD, J.S. Influence of silica content in the roots of rice varieties on the resistance to root-knot nematodes. Indian Journal of Nematology 18: 360-361. 1988.

UHLNBROEK, J.H. & BIJLOO, J.D. Isolation and structure of a nematicidal principle occurring in *Tagetes* roots. in Proc. IV th Ira. Congr. Crop Prot., Hamburg 1957. pp. 579-581. 1959.

URBANEK, H., KUZNIAK-GEBAROWSKA, E. & HERKA H. Elicitation of defence responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. Acta Physiologia Plantarum 13: 43-50. 1991.

WEBSTER, J.M. The influence of plant-growth substances and their inhibitors on the host- parasite relationships of *Aphelenchoides ritzemabosi* in culture. Nematologica 13: 256-262. 1969.

WILLIAMSON, V.M. & GLEASON, C. Plant nematode interactions. Current Opinion in Plant Biology 6: 327-333. 2003.

WILLIAMSON, V.M. & HUSSEY, R.S. Nematode pathogenesis and resistance in plants. Plant Cell 8: 1735-1745. 1996.

WINOTO, S.R. Studies on the effect of *Tagetes species* on plant parasitic nematodes. Sticht. Founds. Landbouw. Export Bur. Publ. 47. 1969. 132p.

WINSLOW, R.D. Some aspects of the ecology of free-living and plant-parasitic nematodes. In: SASSER, J.N. & JENKINS, W.R. (Eds.). Nematology, fundamentals and recent advances with emphasis on plant parasitic and soil forms. New Delhi: Eurasia Publishing House (P) LPD, p. 341-415. 1960.

WUTSCHER, H.K. Growth and mineral nutrition of young orange trees grown with high levels of silicon. HortScience 24: 275-277. 1989.

CAPÍTULO 1

Respostas de defesa do cafeeiro à *Meloidogyne exigua* de cultivar resistente e de planta não hospedeira

RESUMO

Atualmente, sabe-se que a resistência do cafeeiro a *Meloidogyne exigua* é conferida por um gene dominante, denominado *Mex 1*, oriundo de *Coffea canephora*. Entretanto, os mecanismos de resistência a esse nematóide ainda necessitam de esclarecimentos. Com o objetivo de elucidar tais mecanismos estudou-se a penetração, o desenvolvimento e a reprodução de duas populações desse patógeno nas cultivares Catuaí Vermelho IAC 44 e Apoatã IAC 2258, suscetível e resistente, respectivamente. A população 1 do nematóide foi coletada em cafeeiro (raça 2) e a 2 em seringueira (raça 3). Inocularam-se 2000 juvenis de segundo estágio (J2) de *M. exigua* em mudas de cafeeiro com 3-4 pares de folhas. As avaliações da penetração e desenvolvimento foram realizadas de dois a 40 dias após a inoculação (DAI). Análise microscópica dos cortes histológicos das raízes foi realizada aos 2, 4 e 6 DAI, e a reprodução aos 50 DAI. Significativamente maior número de J2 da população 1 penetrou na cultivar suscetível, enquanto que para a população 2, não houve diferença entre as duas cultivares. O desenvolvimento do nematóide também foi mais rápido no cafeeiro suscetível. Poucos indivíduos atingiram o estágio de fêmea adulta e reproduziram no cafeeiro resistente e só foi observado quando da inoculação com a população 1. O número de galhas e de ovos produzidos pela população 1 de *M. exigua*, na cultivar suscetível, foi de 76 e 5460, respectivamente. Em raízes de ‘Apoatã’ apesar de ter formado algumas poucas galhas, não houve reprodução do nematóide. A população 2 não induziu a formação de galhas e nem a produção de ovos nas duas cultivares de cafeeiro. Pela análise histológica, observaram-se eventos relacionados com a resposta de hipersensibilidade. No entanto, com base nos resultados, outras respostas de defesa da planta, pré e pós-penetração, parecem estar envolvidas na resistência do cafeeiro a *M. exigua*. São necessários estudos bioquímicos para descobrir quais substâncias relacionadas à resposta de defesa da planta são produzidas nas diferentes etapas da interação incompatível nesse patossistema.

INTRODUÇÃO

O café constitui um dos principais produtos agrícolas do mercado internacional e o Brasil detém a posição de maior produtor e exportador mundial, com participação média de 25 a 30% da oferta global do produto (Conab, 2008). Minas Gerais lidera a produção brasileira de café com 23,4 milhões de sacas beneficiadas (99% de *Coffea arabica*) numa área de 1,15 milhões hectares, participando assim, com mais de 50% da produção nacional (Conab, 2008).

Na América Latina, mas principalmente no Brasil, o parasitismo do nematóide das galhas, com destaque para *Meloidogyne exigua*, é considerado um dos principais fatores responsáveis pela baixa produtividade do cafeeiro arábica (Campos & Villain, 2005). Recentemente, Barbosa *et al.* (2004) verificaram uma redução de produtividade da ordem de 45% em lavoura do noroeste do Estado do Rio de Janeiro. Além das perdas diretas, outros prejuízos decorrem da presença do nematóide, como a destruição de mudas infectadas e desvalorização das propriedades na qual o patógeno se encontra (Campos *et al.*, 1985).

A interação com a planta hospedeira entre os nematóides endoparasitas sedentários, especialmente os pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, é muito especializada e complexa (Williamson & Hussey, 1996). Eventos que envolvem estímulo à eclosão, atração, penetração nos tecidos do hospedeiro, reconhecimento de tecido suscetível para a indução do sítio de alimentação, modificação anatômica nas células e alteração na expressão gênica da planta são fundamentais para o sucesso da infecção (Davis & Mitchum, 2005). O juvenil de segundo estágio (J2), que corresponde à fase móvel e infectiva dos nematóides das galhas, penetra na região de alongamento celular da raiz da planta hospedeiro (Endo, 1975; Mendes, 1977). A seguir o J2 migra entre as células do córtex até alcançar o tecido vascular diferenciado. Neste local, ele seleciona algumas células do parênquima, nas quais induz uma série de mudanças na expressão gênica da planta para formar um elaborado sítio de alimentação que vai fornecer nutrientes para o seu desenvolvimento e reprodução (Davis *et al.*, 2008). A mais evidente resposta morfológica na planta hospedeira, em consequência de uma associação compatível com *Meloidogyne* spp., é a formação de galhas radiculares, que prejudicam a absorção de água e nutriente (Kirkpatrick *et al.*, 1991).

Dentre as diversas estratégias de controle de nematóides, o uso de cultivares de cafeeiros resistentes apresenta-se como a forma mais econômica e eficiente para substituir lavouras infectadas e improdutivas. Uma planta resistente restringe ou previne a reprodução do nematóide pela ativação de mecanismos de defesa em resposta a infecção pelo nematóide. A resistência aos nematóides das galhas pode envolver mecanismos pré e, ou, pós-infectivos (Huang, 1985). Os mecanismos de pré-infecção limitam a penetração dos nematóides das galhas, os quais incluem fatores morfológicos pré-existentes, ou a produção de exsudados radiculares que não atraem ou repelem os J2 (Jatala e Russell, 1972; Huang, 1985). Nos mecanismos pós-infeccionais ocorre a ativação de processos fisiológicos e moleculares da planta que inibi a formação do sítio de alimentação, previnem ou atrasam o desenvolvimento dos J2 e ou a reprodução do nematóide (Giebel, 1982; Huang, 1985; Anwar & MecKenry, 2000). De uma maneira geral, estes últimos são mais efetivos no controle dos nematóides do gênero *Meloidogyne*.

Uma metodologia com grande potencial, mas pouco explorada nos estudos sobre mecanismos de incompatibilidade na interação patógeno-hospedeiro, principalmente para fitonematóides, é a utilização de populações (“raças” ou “biótipos”) de uma mesma espécie de patógeno que diferem quanto à capacidade de infectar genótipos de planta hospedeira e não hospedeira. Tais estudos podem ser úteis para esclarecer, pelo menos em parte, os mecanismos envolvidos na resistência do cafeeiro a *M. exigua*.

Diante do exposto, o presente trabalho objetivou avaliar a penetração, o desenvolvimento pós-infectivo e a reprodução de populações de *M. exigua*, que diferem quanto à capacidade de infectar o cafeeiro em cultivares suscetível e resistente.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido em casa-de-vegetação do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), localizada na região da Zona da Mata de Minas Gerais, com latitude 20° 45’ 14” S e longitude 42° 52’ 53” W. Durante o período experimental as temperaturas mínimas e máximas do ar foram de 19,6 e 28,3 °C, respectivamente.

Populações de *M. exigua*

Foram estudadas duas populações de *M. exigua*. A população 1 que foi coletada em cafeeiro no município de Manhuaçu, MG, pertencente à raça 2 e fenótipo de esterase (EST) E2 (Rm 1,60 e 1,90), e população 2, aquela coletada em seringueira em São José do Rio Claro, MT, da raça 3 e fenótipo EST E1b (Rm 1,10 e 1,60). Essas populações foram multiplicadas em casa-de-vegetação por aproximadamente um ano em cafeeiro ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ e em seringueira clone ‘RRIM 600’, respectivamente. As populações foram caracterizadas bioquimicamente pelo fenótipo de esterase, usando a técnica de eletroforese vertical em sistema descontínuo, conforme Ornstein (1964) e Davis (1964). O teste fisiológico para a confirmação das raças foi realizado conforme Silva *et al.* (2007).

Cultivares de cafeeiro e inoculação das plantas

Foram utilizadas mudas de cafeeiros das cultivares Catuaí Vermelho IAC 44 (suscetível) e Apatã IAC 2258 (resistente) no estágio de três a quatro pares de folhas completamente desenvolvidas. Para a obtenção das mudas, sementes foram colocadas para germinar em bandejas contendo areia previamente esterilizada. Quando as plântulas encontravam-se no estágio de “palito de fósforo” foram transplantadas para copos plásticos de 500 mL de capacidade contendo uma mistura de solo e areia 2:1 (v/v) também esterilizada.

Os ovos de *M. exigua* foram extraídos segundo o método de Boneti & Ferraz (1981). Em seguida, os ovos foram incubados com água deionizada em câmara de crescimento a 26 °C para a eclosão dos juvenis de segundo estágio (J2). Este procedimento foi realizado segundo o método de Baermann (Baermann, 1917) modificado, utilizando uma tigela ao invés de funil. Os nematóides eclodidos até 24 horas foram descartados com o objetivo de padronizar a idade dos J2. Durante quatro dias, os J2 foram coletados diariamente e a suspensão foi calibrada em câmara de contagem de Peters para a concentração de 500 J2 por mL de água. Quando as mudas atingiram o estágio de três a quatro pares de folhas completamente desenvolvidas procedeu-se a inoculação com 2000 J2 por planta, distribuídos em três orifícios, equidistantes situados a 1 cm do caule, a uma profundidade de aproximadamente 3 cm.

Após 48 h da inoculação, as plantas foram removidas dos copos plásticos e suas raízes lavadas para eliminar J2 que ainda não haviam penetrado, visando padronizar a idade dos J2 em dois dias. Em seguida, cada planta foi transferida para vaso de argila com volume de 2 L, preenchido com solo e areia (2:1) previamente esterilizado.

Análise da penetração e desenvolvimento de *M. exigua*

Três plantas de cada cultivar foram colhidas de dois em dois dias até o décimo dia, mas a partir daí foram colhidas aos 15, 20, 30 e 40 dias após a inoculação. A localização dos diferentes estádios de desenvolvimento do nematóide nas raízes foi realizada pela coloração *in situ* (Byrd *et al.*, 1983) com algumas modificações. As raízes foram retiradas cuidadosamente do solo e lavadas em água corrente, e em seguida, foram mergulhadas em solução de hipoclorito de sódio a 2%, durante 12 minutos. Após esse período, as raízes foram lavadas em água corrente por 30 a 45 segundos para retirar o excesso de hipoclorito de sódio e colocadas em água por 15 minutos. As raízes foram transferidas para um recipiente contendo solução quente de 120 mL de água e 4 mL de solução corante (75 mL de água destilada, 25 mL de ácido acético glacial e 350 mg de fucsina ácida) e mantidas por 30 segundos após fervura. Depois de esfriar até a temperatura ambiente, as mesmas foram lavadas em água corrente para remover o excesso de corante e colocadas em 20 a 30 mL de glicerol acidificado com algumas gotas de ácido clorídrico (HCl 5N), e novamente foram colocadas para aquecer até o início da fervura. As raízes de todo o sistema radicular foram espalhadas em um filme de glicerina entre duas lâminas de vidro (7,5 x 2,5 cm) e analisadas em microscópio de luz (Carl Zeiss Axio Imager A1), para avaliação do número e o estádio de desenvolvimento dos nematóides no interior das raízes.

Análise da reprodução

Aos 50 DAI, avaliou-se também a reprodução do nematóide em seis plantas de cada tratamento. Para averiguar a viabilidade do inóculo das populações de *M. exigua* 1 e 2, avaliou-se a sua reprodução em mudas de pimentão ‘Early California Wonder’ e de seringueira clone RRIM 600, respectivamente. As plantas de pimentão apresentaram número médio de ovos de 11260, e a seringueira 5984 ovos.

Análise histopatológica

Foram amostrados fragmentos de raízes contendo nematóides colhidas aos 2, 4 e 6 DAI, das três repetições por tratamento. Para facilitar a localização do nematóide nas raízes utilizou-se a coloração com fucsina ácida (Byrd *et al.*, 1983) com as modificações já mencionadas. Para cada época de avaliação, foram cortados e selecionados três fragmentos de raiz (0,5 a 1,0 cm). Para inclusão em resina, as seções de raízes foram fixadas em glutaraldeído 2,5% preparado em tampão cacodilato de sódio 0,1 M, pH 7,2, por 12 horas. Após esse período, as amostras foram lavadas com o mesmo tampão para retirar o excesso do fixativo, e pós-fixadas com tetróxido de ósmio a 1%. A seguir, foi realizada a desidratação em série alcoólica (30, 50, 70, 80, 95 e 100%) duas vezes de 15 minutos cada. Na etapa subsequente, as amostras foram embebidas em resina Spurr. Após a infiltração, as raízes foram dispostas em formas plásticas planas contendo resina e levadas para polimerização em estufa (65 °C por 12 horas). Seções semifinas de cortes transversais das raízes, com espessura variando de 0,5 a 1,5 µm, foram obtidas por meio de ultramicrótomo. Os cortes semifinos foram corados com azul de toluidina 0,05% em tampão acetato (pH 4,7) para observação ao microscópio de luz (Carl Zeiss Axio Imager A1).

Delineamento experimental e análise estatística

O ensaio foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, num esquema fatorial 2 x 2 (2 cultivares de cafeeiro x 2 populações de *M. exigua*), com três plantas de cada tratamento em cada uma das 10 épocas de avaliação. Cada unidade experimental foi composta de um vaso argila contendo 2 kg de material de solo e uma planta. Os dados referentes ao número de indivíduos em cada avaliação e à reprodução foram submetidos à análise de variância e teste de médias utilizando-se o programa SAEG (SAEG, 2007).

RESULTADOS

Houve interação significativa entre os fatores população do nematóide e cultivares de cafeeiro, bem como diferença significativa ($P \leq 0,05$) para os fatores isolados.

O número de indivíduos de *M. exigua* que penetraram nas raízes de cafeeiro, o estágio de desenvolvimento e a reprodução diferiram ($P \leq 0,05$) entre as duas cultivares (Tabela 1). Um maior número de J2 ($P \leq 0,05$) da população 1 (oriunda de cafeeiro) penetrou nas raízes das plantas da cultivar suscetível Catuaí Vermelho IAC 44 (Catuaí) comparado ao da resistente Apatã IAC 2258 (Apatã). Já para a população 2 (de seringueira) não houve diferença significativa ($P > 0,05$) na quantidade de J2 que penetraram nas raízes das duas cultivares.

Aos 2 e 4 DAI foram observados vários aglomerados de J2 da população 1 nas extremidades das raízes finas de ‘Catuaí’ (Figura 1A), o que não foi observado nos demais tratamentos. A partir do sexto DAI, a maior parte dos J2 encontravam-se próximo ao feixe vascular em raízes das plantas de ‘Catuaí’. Os nematóides apresentavam-se em várias posições em relação ao cilindro vascular (perpendicular, paralelo, inclinado, dentre outras) (Figura 1B). Nessa época, ocorreu significativa redução ($P \leq 0,05$) no número de nematóides nas raízes dos cafeeiros ‘Apatã’ em relação à primeira avaliação nas plantas inoculadas com a população 1. Diferentemente, somente a partir do décimo DAI ocorreu uma diminuição significativa ($P \leq 0,05$) do número de nematóides nas raízes, quando inoculou-se a população 2. O aparecimento de galhas radiculares evidentes iniciou-se aos 10 DAI e foram observadas apenas em plantas de ‘Catuaí’, inoculadas com a população 1. Os primeiros Juvenis de terceiro (J3) e quarto (J4) estádios da população 1, já exibindo intumescimento do corpo (forma de salsicha) foram observados em plantas de ‘Catuaí’ aos 10 DAI. Em plantas de ‘Apatã’, os mesmos só foram encontrados a partir do vigésimo DAI e em número reduzido. A maioria dos nematóides atingiu o completo desenvolvimento, fase de fêmea adulta, em raízes de ‘Catuaí’ aos 30 DAI, enquanto em Apatã, os poucos indivíduos que conseguiram atingir o estágio de fêmea adulta ocorreram aos 40 DAI. Não foram observados nematóides nos estádios de J3, J4 ou fêmeas nas plantas das duas cultivares de cafeeiro, quando inoculou-se a população 2, procedente da seringueira.

Tabela 1. Número médio de nematóides, em diferentes estádios de desenvolvimento, das populações de *Meloidogyne exigua* oriundas de cafeeiro (= M1) e de seringueira (= M2) em raízes de cafeeiros ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ e ‘Apoatã IAC 2258’, dos dois aos 40 dias após a inoculação

Cultivar	Estádios	2 DAI		4 DAI		6 DAI		8 DAI		10 DAI	
		M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2
Catuaí	J2	186	132	190	99	163	102	146	87	149	55
	J3 e J4	0	0	0	0	0	0	0	0	18	0
	Fêmea	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total ¹	186 aA ²	132 bA	190 aA	99 bA	163 aA	102 bA	146 aA	87 bA	167 aA	55 bA
Apoatã	J2	104	89	88	84	62	73	32	74	18	51
	J3 e J4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Fêmea	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Total	104 aB	89 bB	88 aB	84 aA	62 aB	73 aB	32 bB	74 aA	18 bB	51 aA

...Continuação

Cultivar	Estádios	15 DAÍ		20 DAI		25 DAI		30 DAI		35 DAI		40 DAI	
		M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2	M1	M2
Catuaí	J2	41	38	22	32	21	28	26	22	9	6	6	0
	J3 e J4	77	0	108	0	88	5	33	1	18	0	16	0
	Fêmea	0	0	6	0	39	0	86	0	105	0	99	0
	Total	118 aA	38 bA	136 aA	32 bA	148 aA	33 bA	145 aA	23 bA	132 aA	6 bA	121 aA	0 bA
Apoatã	J2	16	35	10	33	8	26	3	22	0	8	0	0
	J3 e J4	0	0	6	0	4	0	4	1	3	0	0	0
	Fêmea	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	4	0
	Total	16 bB	35 aA	16 bB	33 aA	12 bB	26 aA	7 bB	23 Aa	5 aB	8 aA	4 aB	0 aA

² Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha, e maiúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

¹ O total representa o somatório (J2 + J3 e J4 + fêmeas)

Pelo exame microscópico, observaram-se várias alterações morfológicas na estrutura interna da raiz quando inoculada com *M. exigua* (Figura 2A e B). Embora a migração dos J2 ocorresse de forma intercelular, foi observado rompimento da parede celular e deformação de muitas de células. Aos 2 DAI, os J2 encontravam-se na superfície das raízes e, ou, nas primeiras camadas de células corticais, devido os mesmos estarem ainda no processo de penetração e migração. Nessa época, não foi observada nenhuma mudança estrutural nos tecidos das raízes. Pela análise realizada aos 4 DAI, foi observado que a maioria dos nematóides já estavam próximos do cilindro vascular em plantas da cultivar suscetível, enquanto que nas plantas resistentes haviam poucos indivíduos. Os primeiros sinais de resposta de defesa da planta foi observada a partir do quarto DAI, tanto para a interação incompatível entre a população 1 e as plantas de ‘Apoatã’, quanto para a resposta de não hospedeira dos dois genótipos de cafeeiro com a população 2. Foram visualizadas próximo ao corpo do nematóide, células deformadas e necrosadas, codensação do citoplasma, grande acúmulo de um material que coloriu fortemente com o corante azul de toluidino, sugerindo a presença de compostos fenólicos (Figura 2 C e D). A partir do quarto DAI, na interação da população 2 com plantas dos dois genótipos de cafeeiro, foram observados nematóides em decomposição nas primeiras camadas de células, próximo a epiderme e também no córtex (Figura 2 F), porém sem indícios de HR.

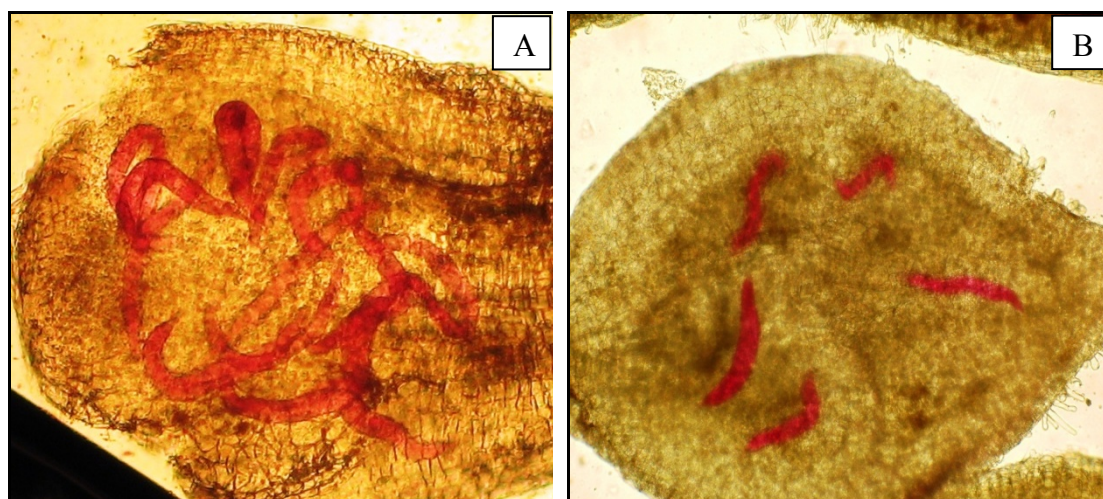


Figura 1. Juvenis de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho IAC 44’. A: Aglomerado de J2 na extremidade da raiz. B: Juvenis após o estabelecimento do sítio de alimentação em diversas posições no cilindro vascular.

A população 1 de *M. exigua* oriunda de cafeeiro induziu a formação de muitas de galhas (76) e a produção de grande quantidade de ovos (5460) em plantas da cultivar suscetível, enquanto que em plantas da cultivar resistente, apesar de ter ocorrido a formação de algumas poucas galhas, média de 3, não houve a produção de ovos. Indivíduos da população 2 não induziram a formação de galhas e nem a produção de ovos em ambos os genótipos de cafeeiro.

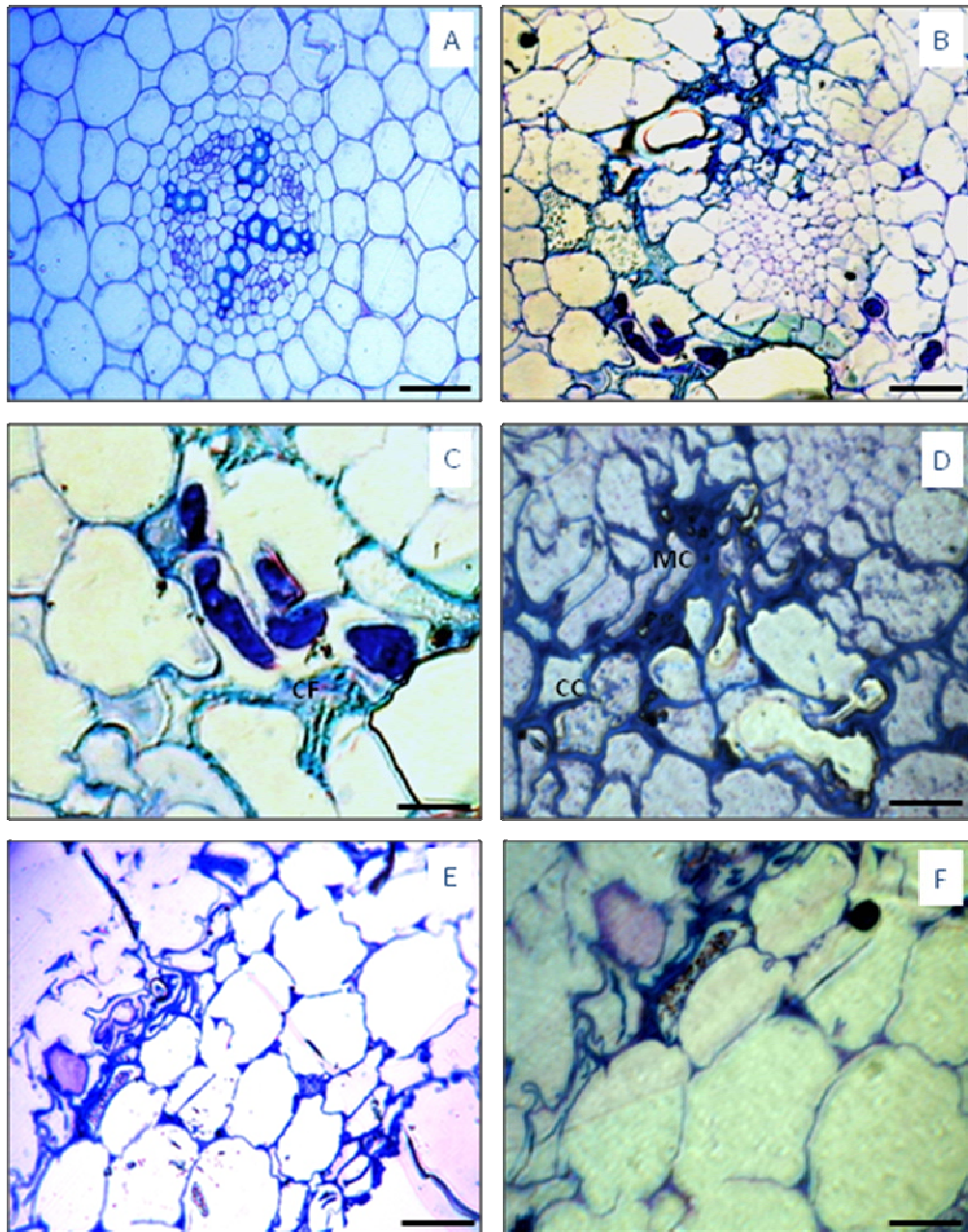


Figura 2. Fotomicrografias de seções finas da raiz de *Coffea canephora* ‘Apoatã IAC 2258’ coradas com azul de toluidina aos 6 dias após a inoculação. A-D - população de *Meloidogyne exigua* de cafeeiro e E-F - de seringueira. A: cilindro vascular de raiz sadia e B: cilindro vascular de raiz com o nematóide ocorrendo desorganização celular. C: células deformadas contendo compostos fenólicos (CF); D: Detalhes da reação de hipersensibilidade (HR), morte celular (MC), condensação do citoplasma (CC); E-F nematóides em decomposição na epiderme e no parênquima sem evidências de HR. Escala da barra: A = 100 μ m; B = 40 μ m; E = 30 μ m C, D e F = 15 μ m.

DISCUSSÃO

Pelos resultados obtidos observou-se que a penetração, o subsequente desenvolvimento e a reprodução de *M. exigua* foram afetados pelo genótipo do cafeeiro. O comportamento da população 1 de *M. exigua*, procedente de cafeeiro, em relação à penetração, o desenvolvimento, os sintomas e a reprodução em raízes de cafeeiro suscetível foram semelhantes aos observados em estudos anteriores (Mendes, 1977; Lima *et al.*, 1985; Anthony *et al.*, 2005). Os J2 penetraram na região de alongamento celular, nas extremidades de raízes finas logo antes da coifa e migraram intercelularmente pelo córtex em direção ao cilindro vascular, onde a maioria destes J2 conseguiu estabelecer o sítio de alimentação. Após o estabelecimento, o nematóide passou por algumas fases de desenvolvimento, avolumou-se até atingir o estágio de fêmea adulta, onde apresentava o formato globoso semelhante à de um limão ‘tahiti’. Apesar de *M. exigua* poder reproduzir facultativamente por anfimixia, não foi encontrado macho dentro das raízes. Simultaneamente, a partir do décimo DAI, houve a indução de típicas galhas radiculares, pequenas, arredondadas e na extremidade das raízes adventícias, porém, sem a ocorrência de necroses. Por volta dos 30 DAI ocorreu a produção de ovos, envolvidos em uma matriz gelatinosa, localizada, predominantemente, no interior do córtex da raiz.

Foi observado que cerca de 70% dos J2 que penetraram nas raízes do cafeeiro suscetível, estabeleceram o sítio de alimentação e se desenvolveram até atingir o estágio de fêmea adulta. Os outros 30% permaneceram vermiformes no córtex da raiz e foram incapazes de induzir a formação de células gigantes. Isto se deve, provavelmente, ao fato de que a energia corporal do J2, principalmente, o conteúdo lipídico acumulado durante o desenvolvimento embrionário (Lee & Atkinson, 1977), possibilitou apenas a penetração, não foi suficiente para o estabelecimento do sítio de alimentação. Para obter sucesso no processo infectivo, durante a patogênese, os J2 de *Meloidogyne* spp. necessitam pelo menos 50% de lipídio no conteúdo corporal (Van Gundy *et al.*, 1967).

Na interação incompatível, envolvendo a população 1 coletada em cafeeiro e a cultivar resistente Aboatã, houve uma drástica redução na quantidade de nematóides dentro das raízes alguns dias após a penetração, isso sugere a ocorrência de emigração dos J2 de *M. exigua*, em resposta aos mecanismos de resistência do

cafeeiro. Segundo Huang (1985) em algumas plantas resistentes pode faltar nutriente ou outras substâncias essenciais para o estabelecimento do nematóide, o que pode resultar na emigração ou atraso no seu desenvolvimento. Com base nessa observação, acredita-se que além da resposta de hipersensibilidade (HR) outros mecanismos de defesa da planta são ativados, os quais não necessariamente provocam a morte do J2, mas impedem o estabelecimento do sítio de alimentação. O fenômeno de emigração em função da resposta de defesa da planta também foi verificado em ‘Apoatã IAC 2258’ inoculado com *M. incognita* (Oliveira, 2006).

A caracterização do gene de resistência do cafeeiro a *M. exigua*, denominado de *Mex 1* (Noir *et. al.*, 2003) e o estudo da herança da resistência, reforça a hipótese de que essa interação segue o modelo da teoria gene-a-gene de Flor (Flor, 1971). Vem corroborar essa premissa, os resultados obtidos por Rodrigues *et al.* (2000) e Anthony *et al.* (2005), que observaram na cultivar resistente IAPAR 59 alterações celulares, como a reação do tipo HR. Estes observaram que no local de tentativa de estabelecimento do sítio de alimentação, havia condensação do citoplasma, aumento do tamanho do núcleo e retração da membrana plasmática da parede celular. A contrastação diferencial com azul de toluidina possibilitou a visualização de uma grande quantidade de material de coloração azul escuro próximo ao corpo do nematóide em decomposição, o que indica a possível participação de compostos fenólicos como uma das respostas de defesa do cafeeiro à *M. exigua*.

Pelos estudos envolvendo a interação incompatível nematóide x hospedeiro, observa-se que a HR constitui-se num dos principais mecanismos de defesa da planta. O grau de hipersensibilidade, o tempo de iniciação da HR e o eventual destino do nematóide dependem da combinação patógeno-hospedeiro (Canto-Saenz & Brodie, 1987). Esta reação ocorreu a partir de 12 horas após a inoculação das raízes de tomateiro com juvenis de *M. incognita* (DROPKIN, 1969), enquanto que em citros infectado com *Tylenchulus semipenetrans*, a mesma pode demorar mais de duas semanas para ocorrer (Kaplan, 1981). Na associação *M. exigua*-cafeeiro ainda não era conhecido o tempo de início da reação de HR. Entretanto, no presente estudo foi detectado que as primeiras características evidentes de HR nesse patossistema ocorram a partir do quarto dia após a inoculação dos J2.

Resistência intermediária ou incompleta de cafeeiro à *M. exigua* foi recentemente sugerida por Alpizar *et al.* (2007). Os mesmos observaram ao estudar a reprodução em linhas puras, resistente e suscetível, e nos cruzamentos entre essas

(híbridos F2), diferentes taxas reprodutivas. As linhas híbridas em heterozigose para o gene de resistência proporcionaram maior reprodução do nematóide do que as linhas puras em homozigose para essa característica. Os autores concluíram que o gene *Mex-1* pode ter expressão de dominância incompleta, que permite a penetração, mas evita a reprodução do nematóide.

No presente estudo, menor número de J2 da população 1 penetrou na cultivar resistente. Aos 2 DAI, havia penetrado aproximadamente 44% menos J2 em raízes de ‘Apoatã’ em relação as de plantas de ‘Catuaí’, esse fato levanta a hipótese de que as raízes da cultivar resistente são menos atrativas aos J2 de *M. exigua*, e, ou, a mesma possuem na parede celular da epiderme algumas características físicas ou químicas que dificultam a penetração. Além dos mecanismos de pré-penetração e a HR, parece que outras respostas de defesa da planta, inclusive, mais importantes do que estas são ativadas durante patogênese, em especial a que acarreta a emigração dos J2. Vale ressaltar que aos 10 DAI foi encontrado em raízes de plantas da cultivar resistente, apenas 17,3% do número de J2 observado na mesma aos 2 DAI. Além desses, outros mecanismos foram ativados, o que provocou inibição e, ou, atraso na transição de juvenis para o estágio globoso e também ausência de reprodução do nematóide. Foi observado que alguns indivíduos desenvolveram, porém mais lentamente, chegando a atingir ao estágio de fêmea adulta, a cerca de 40 DAI. No entanto, não ocorreu a reprodução do nematóide, pois não foram encontrados ovos.

Apesar do cafeeiro ser o hospedeiro tipo de *M. exigua*, e de ter ocorrido a penetração do J2, não houve desenvolvimento e reprodução da população 2, oriunda de seringueira. Estudos anteriores já haviam revelado a incapacidade desse biótipo de *M. exigua* em induzir a formação de galhas e produção de ovos em cafeeiro (Santos, 1997; Carneiro & Almeida, 2000; Silva *et al.*, 2007), independente do genótipo de cafeeiro analisado (Silva *et al.*, 2007). Com base nos resultados deste estudo, sabe-se que ocorre apenas a penetração e que a resposta de planta não hospedeira, no caso do cafeeiro, a essa população, difere daquela da planta resistente. A planta não hospedeira foi mais eficiente inibindo o estabelecimento do sítio de alimentação e o conseqüente desenvolvimento do nematóide.

Conclui-se que a resistência do cafeeiro a *M. exigua* não é devida apenas a HR, como sugerida em estudos anteriores, mas existe um conjunto de respostas de defesa, tanto constitutivas quanto induzidas após a penetração do nematóide que inibi a formação do sítio de alimentação, provoca a emigração dos J2 e atrasa ou inibi o

desenvolvimento e a reprodução do nematóide. Diante do exposto, verifica-se ainda a necessidade de se estudar os mecanismos bioquímicos de resposta de defesa do cafeeiro, desencadeados nas diferentes etapas da infecção por *Meloidogyne exigua*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALPIZAR, E., ETIENNE, H. & BERTRAND B. Intermediate resistance to *Meloidogyne exigua* root-knot nematode in *Coffea arabica*. Crop Protection 26: 903-910. 2007.

ANWAR, S.A. & MCKENRY, M.V. Penetration, development and reproduction of *Meloidogyne arenaria* on two new resistant *Vitis* spp. Nematropica 30: 9-17. 2000.

ANTHONY, F., TOPART, P., MARTINEZ, A., SILVA, M. & NICOLE, M. Hypersensitive-like reaction conferred by the *Mex-1* resistance gene against *Meloidogyne exigua* in coffee. Plant Pathology 54: 476. 2005.

BAERMANN, G. Eine einfache methode zur auffindung von ankvlostomum (nematoden) larven in erdproben. Tijdschr. Ned.-Indie 57: 131-137. 1917.

BARBOSA, D.H.S.G., VIEIRA, H.D., SOUZA, R.M., VIANA, A.P. & SILVA, C.P. Field estimates of coffee yield losses and damage threshold by *Meloidogyne exigua*. Nematologia Brasileira 28: 49-54. 2004.

BONETI, J.I.S. & FERRAZ, S. Modificação do método de HUSSEY & BARKER para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira 6: 553. 1981. (Resumo)

BYRD, J.D.W., KIRKPATRICK, J. & BARKER, K.R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. Journal of Nematology 15: 142. 1983.

CAMPOS, V.P., LIMA, R.D. & ALMEIDA, V.F. Nematóides parasitas do cafeeiro. Informe Agropecuário 11: 50-58. 1985.

CAMPOS, V.P. & VILLAIN, L. Nematode parasites of coffee and cocoa. In: LUC, M., SIKORA, R.A. & BRIDGE, J. (Eds.) Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. Wallingford UK. CAB. Internacional. 2005. pp. 529-579.

CANTO-SAENZ, M. & BRODIE, B.D. Comparison of compatible and incompatible potato to *Meloidogyne incognita*. Journal of Nematology 19: 218-221. 1987.

CARNEIRO, R.M.D.G. & ALMEIDA, M.R.A. Caracterização isoenzimática e variabilidade intraespecífica dos nematóides de galhas do cafeeiro no Brasil. In: I SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL. Poços de Caldas, MG. 2000. pp. 280-282.

CONAB: Convênio Ministério da Agricultura – Secretaria da Produção e Comercialização. da safra brasileira de café 2008. Disponível na Internet via WWW. URL: <http://www.conab.gov.br>. Última atualização em 30 de dezembro de 2008.

DAVIS, B.J.B. Disk electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. Annals of the New York Academy of Sciences 121: 404. 1964.

DAVIS, E.L. & MITCHUM, M.G. Nematodes: sophisticated parasites of legumes. Plant Physiology 137: 1182-1188. 2005.

DAVIS, E.L., HUSSEY, R.S., MITCHUM, M.G. & BAUM, T.J. Parasitism proteins in nematode-plant interactions. Current Opinion in Plant Biology 11: 360-366. 2008.

ENDO, B.Y. Pathogenesis of nematode-infected plants. Annual Review of Phytopathology 13: 218-238. 1975.

FLOR H.H. Current status of gene-for-gene concept. Annual Review of Phytopathology 9: 275-96. 1971.

GIEBEL, J. Mechanism of resistance to plant nematodes. Annual Review of Phytopathology 20: 257-279. 1982.

HUANG, C.S. Formation, anatomy and physiology of giant cells induced by root-knot nematodes. In: SASSER, J.N. & CARTER, C.C., (Eds.) An Advanced Treatise

on *Meloidogyne*. Vol. 1: Biology and Control. NCSU and USAID Cooperative Publication, Raleigh, NC, U.S.A. 1985. pp. 155-164.

KAPLAN, D.T. 1981. Characterization of citrus rootstock responses to *Tylenchulus semipenetrans* (Cobb). *Journal of Nematology* 13: 492-498.

JATALA, P. & RUSSELL, C.C. Nature of sweet potato resistance to *Meloidogyne incognita* and the effects of temperature on parasitism. *Journal of Nematology* 4: 1-7 1972.

KIRKPATRICK, T.L., OOSTERHUIS, D.M. & WULLSCHLEGER, S.D. Interaction of *Meloidogyne incognita* and water stressing two cotton cultivars. *Journal Nematology* 23: 462-467. 1991.

LEE, D.L. & ATKINSON, H.J. *Physiology of Nematodes*. New York Columbia University 1977. 215p.

LIMA, R.D. & FERRAZ, S. *Biologia de Meloidogyne exigua* II. Desenvolvimento pós-embriogênico em cafeeiro 'Mundo Novo'. *Revista Ceres* 32: 349-61. 1985.

MENDES, B.V., FERRAZ, S. & SHIMOYA, C. Observações histopatológicas de raízes de cafeeiro parasitadas por *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887. *Nematologia Brasileira* 2: 208-229. 1977.

NOIR, S., ANTHONY, F., BERTRAND, B., COMBES, M.C. & LASHERMES, P. Identification of a major gene (*Mex-1*) from *Coffea canephora* conferring resistance to *Meloidogyne exigua* in *Coffea arabica*. *Plant Pathology* 52: 97-103. 2003.

OLIVEIRA, D.S. Patogenicidade de populações de *Meloidogyne incognita*, proveniente de Minas Gerais e São Paulo, ao cafeeiro. Tese de Doutorado. Viçosa MG. Universidade Federal de Viçosa. 2006.

ORNSTEIN, L. Disc electrophoresis. I. Background and Theory. *Annals of the New York Academy of Sciences* 121: 321-349. 1964.

RODRIGUES, A.C.F.O., ABRANTES, I.M.O., MELILLO, M.T. & BLEVEZACHEO, T. Ultrastructural response of coffee roots to root-knot nematodes, *Meloidogyne exigua* and *M. megadora*. *Nematropica* 30: 201-210. 2000.

SAEG - Sistema para Análises Estatísticas. Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, MG. 2007.

SANTOS, J.M. Estudo das principais espécies de *Meloidogyne* Goeldi que infectam o cafeeiro no Brasil com descrição de *Meloidogyne goeldi* sp. n. Tese de Doutorado. Botucatu SP, FCA, UNESP. 1997.

SILVA, R.V. Produção de inóculo e diferenciação de raças de *Meloidogyne exigua* em *Coffea* spp. Dissertação de Mestrado. Viçosa MG. Universidade Federal de Viçosa. 2005.

SILVA, R.V., OLIVEIRA, R.D.L., PEREIRA, A.A. & SÊNI, D.J. Respostas de genótipos de *Coffea* spp. a diferentes populações de *Meloidogyne exigua*. *Fitopatologia Brasileira* 32: 205-212. 2007.

VAN GUNDY, S.D., BYRD, A.F. & WALLACE, H.R. Aging and starvation in juvenile of *Meloidogyne javanica* and *Tylenchulus semipenetrans*. *Phytopathology* 57: 559-571. 1967.

WILLIAMSON, V.M. & HUSSEY, R.S. Nematode pathogenesis and resistance in plants. *Plant Cell* 8: 1735-1745. 1996.

CAPÍTULO 2

Silício em raízes de cafeeiro e seu reflexo no controle de *Meloidogyne exigua*

RESUMO

Trabalhos preliminares sob condições de campo demonstraram o efeito positivo do silício (Si) no controle de *Meloidogyne* spp. Devido a não quantificação da população inicial do nematóide e a falta de controle nos níveis de Si dos solos utilizados, estudos mais refinados eram necessários para comprovar esse fato. Assim, objetivou-se avaliar a penetração, o desenvolvimento e a reprodução de *Meloidogyne exigua*, bem como o acúmulo de matéria seca, Si e Ca em raízes de mudas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ e ‘IAPAR 59’ (suscetível e resistente) supridas com silicato de cálcio (SC). Foi utilizado um solo deficiente em Si (11,8 mg/Kg), no qual adicionaram-se as doses de 0 e 1,25 g de SC/Kg de solo. Com a finalidade de equilibrar o teor de Ca, adicionaram-se 0,97 g de carbonato de cálcio (CC)/Kg de solo no tratamento sem o SC. Após 30 dias de incubação a 30 °C, mudas de cafeeiro com 3-4 pares de folhas foram transplantadas para vasos plásticos contendo 1,0 Kg de solo. A inoculação com 5000 ovos de *M. exigua* por planta foi realizada aos 15 dias após o transplante. O delineamento experimental foi o DIC com 6 repetições. Aos 5, 10 e 15 dias após a inoculação (DAI) quantificou-se a penetração e o desenvolvimento do nematóide, e aos 120 DAI, avaliaram-se a matéria seca da parte aérea (MSPA) e das raízes (MSR), o número de galhas (NG) e de ovos (NO), e o teor de Ca e Si nas raízes. Os solos incubados com SC (CaSiO_3) ou CC (CaCO_3) apresentaram o mesmo valor de pH (6,2) aos 30 dias após a incubação. As variáveis estudadas foram influenciadas positivamente pela adição do Si em plantas de ‘Catuaí’ com exceção do teor de Ca. O teor de Si e Ca foram de 1,01 e 0,93%, respectivamente. As primeiras evidências científicas do efeito positivo da adição do Si no solo para o controle de *M. exigua* em cafeeiro foram apresentadas, além desse constituir o primeiro relato do acúmulo de Si em raízes dessa espécie. O teor de Si na raiz pode ser considerado elevado por tratar-se de uma dicotiledônea e demonstra o efeito promissor desse elemento num sistema de manejo de *M. exigua* em cafeeiro.

INTRODUÇÃO

Atualmente, *Meloidogyne exigua* é a espécie dos nematóides das galhas mais disseminada e com maior distribuição geográfica em áreas de cultivo de café do tipo arábica na América Latina, principalmente no Brasil (Gonçalves & Silvarolla, 2001; Campos & Villain, 2005; Castro *et al.*, 2008). Em Minas Gerais, principal pólo produtor do país, estima-se que esse patógeno esteja presente em mais de 50% das propriedades cafeeiras e praticamente em todos os municípios onde se cultiva o cafeeiro. Assim, *M. exigua* apesar de ser menos agressiva que *M. incognita* e *M. paranaensis*, outras espécies de nematóides das galhas que parasitam o cafeeiro, é certamente a responsável pelos maiores prejuízos totais a cafeicultura nacional. Esta espécie chegou a causar redução de 58% no desenvolvimento de mudas de cafeeiro sob condição de casa de vegetação na Costa Rica (Rodrigues *et al.*, 1995) e perdas na produtividade da ordem de 45% em cafezais do noroeste do Estado do Rio de Janeiro (Barbosa *et al.*, 2004).

As perdas devidas ao parasitismo de *M. exigua* ocorrem principalmente devido a mudanças anatômicas nas raízes, como o desenvolvimento de células gigantes e, ou a formação galhas, resultante da hipertrofia e hiperplasia de células do cilindro central que comprimem os vasos do xilema, reduzindo assim, a absorção e transporte de água e nutrientes (Kirkpatrick *et al.*, 1991). O sítio de alimentação constitui-se num sério dreno metabólico de fotoassimilados causando um atraso no desenvolvimento da planta. Na interação compatível com o cafeeiro, *M. exigua* induz a formação de típicas galhas radiculares: pequenas, arredondadas, quase sempre nas extremidades das raízes finas e com massas de ovos internas (Mendes *et al.*, 1977; Lima *et al.*, 1985), sem, contudo, causar necrose. Sob condição de alta população do nematóide em seus tecidos, a parte aérea da planta exhibe os sintomas de subdesenvolvimento, clorose, desfolha e pode até mesmo culminar com a morte de planta, quando exposta a longo período por estresse hídrico ou por geadas (Campos & Villain, 2005).

Devido às preocupações com o ambiente, a segurança dos aplicadores e saúde pública, o custo elevado dos nematicidas e a recente proibição do brometo de metila, intensificaram-se a busca por métodos alternativos de controle de fitonematóides nas principais culturas exploradas economicamente. A utilização do silício (Si) pode ser uma estratégia de controle interessante a ser explorada no manejo integrado de

nematóides, pois o uso adequado da nutrição mineral das plantas leva ao aumento na resistência e, ou, tolerância às doenças (Marschner, 1995).

Apesar do Si não ser ainda considerado um elemento essencial, o mesmo pode em determinadas plantas, acumular-se em quantidade superior a de alguns macronutrientes, tal como o nitrogênio, o fósforo e o potássio (Epstein, 1999). O efeito benéfico do Si é observado no desenvolvimento e na produtividade de determinadas culturas, principalmente das famílias Poaceae, Gramineae e Cyperaceae, o qual também participa como potencializador de resistência das plantas às diversas doenças e pragas (Savant *et al.*, 1997b; Datnoff *et al.*, 2007). Além disso, esse elemento reduz a toxidade por manganês e alumínio e, reduz a taxa de transpiração sob condições climáticas adversas (Epstein, 1999). Mesmo em dicotiledôneas, consideradas não acumuladoras, o Si mostrou efeito positivo no controle de algumas doenças, tais como a mancha de oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepino (Fawe *et al.*, 1998) e a cercosporiose (*Cercospora coffeicola*) em cafeeiro (Pozza *et al.*, 2005), dentre outras.

Outro ponto positivo é a correção da acidez do solo por meio do emprego de silicatos, que proporcionam resultados semelhantes aos do carbonato e do hidróxido de cálcio (Barnette, 1952). O mesmo aumenta o pH, eleva os níveis de cálcio, diminui os efeitos tóxicos do ferro, manganês e do alumínio trocáveis na solução do solo, além de aumentar a saturação por bases.

Praticamente não existem trabalhos a respeito do papel do Si no controle de fitonematóides. Em um dos raros trabalhos, as cultivares de arroz que apresentavam maior nível resistência à *Meloidogyne graminicola*, também apresentaram maior teor de sílica nos seus tecidos (Swain & Prasad, 1988). Considera-se a hipótese de que o Si possa atuar de alguma forma na resistência ao nematóide. Em trabalhos preliminares de campo, o silicato de cálcio teve efeito positivo no controle de *Meloidogyne exigua* em cafeeiro (Dutra *et al.*, 2004). Porém, estudos mais refinados são necessários para confirmar tal fato e, caso positivo, analisar quais seriam os mecanismos de resistência potencializados por esse elemento.

No presente estudo objetivou-se avaliar a penetração, o desenvolvimento e a reprodução de *M. exigua*, bem como o teor de Si e Ca em raízes de mudas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ e ‘IAPAR 59’, supridas com silicato de cálcio.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido em casa-de-vegetação do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, localizada na região da Zona da Mata de Minas Gerais, com latitude 20° 45' 14" S e longitude 42° 52' 53" W. Durante o período experimental as médias das temperaturas mínimas e máximas do ar foram de 20,8 e 29,4 °C, respectivamente.

Material de Solo

Foram utilizados os primeiros 20 cm do perfil de um solo pertencente à classe Latossolo Amarelo ácrico típico (Embrapa, 1999), de textura argilosa, coletado no município de Uberlândia, Minas Gerais. Essa classe de solo foi escolhida, dentre outras características, por apresentar baixos teores de Si disponível (11,8 mg/Kg), natureza ácrica e elevado índice de intemperismo, características específicas de solos deficientes em Si (Tabelas 1). As análises físicas e químicas do solo foram realizadas conforme Silva (1999).

Tabela 1. Características físicas e químicas, da camada de 0 a 20 cm superficiais do Latossolo Amarelo ácrico típico, coletado no município de Uberlândia, MG.

Análise Física													
Areia Grossa	Areia Fina			Silte			Argila			Classe Textural			
----- dag/Kg-----													
34	6			7			53			Argiloso			
Análise Química													
pH	Si	P	K	Al	Ca	Mg	H+Al ³⁺	SB	t	T	V	m	M.O.
KCl mg/Kg --mg.dm ⁻³ -- -----cmol _c .dm ⁻³ ----- ---- % --- dag/Kg													
4,8	11,8	0,5	13	0,1	0,0	0,0	3,8	0,1	0,2	3,9	2,0	40,5	2,3

Fonte, doses de silício e adubação das mudas de cafeeiro

Utilizou-se como fonte de silício o produto comercial Vansil W-10 (Volastonita, CaSiO₃), livre de contaminantes como o ferro e fósforo, adquirido da Empresa Ipiranga Comercial Química (São Paulo). As características químicas desse produto são: poder relativo de neutralização (PRNT) de 77%, teor total em SiO₂ de 51,9% (correspondendo a 24,2% de Si) e teor total em CaO de 43,4% (correspondendo a 31% de Ca).

As doses de Volastonita utilizadas foram 0 e 1,25 g/Kg de solo, correspondendo, respectivamente a 0 e 0,30 g Si/Kg de solo. Com a finalidade de padronizar o teor de cálcio (Ca) presente nos vasos com Volastonita na dose de 1,25 g/Kg, foram utilizados 0,967g de carbonato de cálcio (PRNT 100%, Ca 40%), nos vasos que não receberam Volastonita. Com este procedimento, os teores de cálcio oriundos da Volastonita e do carbonato de cálcio ficaram padronizados em 0,387 g/vaso. Assim, apenas o teor de Si variou entre os tratamentos. A acidez do solo foi corrigida com volastonita ou carbonato de cálcio, visando elevar a saturação de bases (V) para 50%. Em seguida, o solo foi incubado em sacos plásticos a temperatura de 30 °C, por um período de 30 dias e a umidade foi mantida constante. Após o período de incubação, foram coletadas amostras de material de solo desses vasos para análise química.

Os solos incubados com volastonita ou carbonato de cálcio apresentaram o mesmo valor de pH (6,2) aos 30 dias após a incubação (Tabela 2).

Tabela 2. Características químicas do solo determinadas após o período de incubação com as doses de volastonita e carbonato de cálcio.

Volastonita	CaCO ₃	pH	P	K	Análise Química								
					Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	CTC (t)	CTC (T)	V	m
-----g/vaso-----		H ₂ O	mg.dm ³		-----cmolc.dm ⁻³ -----								-- % --
0,00	0,967	6,2	1,0	13	1,5	0,0	0,0	1,80	1,53	1,50	3,33	46	0
1,25	0,000	6,2	1,0	14	1,5	0,0	0,0	1,85	1,54	1,54	3,29	47	0

No transplântio das mudas de cafeeiro, realizou-se a adubação inicial do solo, com a adição de 3 g de superfosfato simples, 500 mg de cloreto de potássio e 220 mg de sulfato de amônia por vaso (CFSEMG, 1999). A cada 15 dias, eram aplicados 30 mL por vaso de solução nutritiva completa de Hoagland's (Hoagland & Arnon, 1950).

População de *M. exigua*

A população de *M. exigua* foi coletada em cafeeiro no município de Canaã, MG, e cultivada em mudas de cafeeiro 'Catuaí Vermelho IAC 44' por aproximadamente um ano. Foi caracterizada como raça 1 e fenótipo de esterase (EST) E1 (Rm 1,60) (Ornstein, 1964; Davis, 1964; Silva *et al.*, 2007).

Cultivares de cafeeiro e inoculação das plantas

Foram utilizadas as cultivares ‘Catuaí Vermelho IAC 44’, que a partir desse ponto será designada ‘Catuaí’, e ‘IAPAR 59’, suscetível e resistente ao nematóide, respectivamente. Para a obtenção das mudas, sementes foram colocadas para germinar em bandejas contendo areia lavada previamente esterilizada. Quando as plântulas atingiram o estágio de “palito de fósforo”, elas foram transplantadas para vasos plásticos de 1 L de capacidade, contendo uma mistura de solo mais as respectivas doses de volastonita ou carbonato de cálcio. Quando as mudas de cafeeiro encontravam-se no estágio de três pares de folhas completamente desenvolvidas, as mesmas foram inoculadas com 5000 ovos de *M. exigua*, extraídos segundo o método de Boneti & Ferraz (1981).

Análise da reprodução de *M. exigua*

Aos 120 dias após a inoculação, quantificaram-se o número de galhas e ovos de *M. exigua* por planta, em seis repetições. Após a contagem das galhas, as raízes foram submetidas à extração dos ovos, e a seguir, os mesmos foram quantificados em câmara de contagem de Peters em microscópio de luz.

Determinação da massa da matéria seca e o teor de Si e Ca nas raízes

Ao término dos ensaios, o sistema radicular das seis plantas de cada tratamento foi coletado para a determinação do teor de Si e Ca. A seguir as raízes foram secas em estufa de circulação forçada à temperatura de 65 °C por 72 horas e determinada a massa da matéria seca. Após a trituração das raízes em moinho tipo Wiley, o material finamente moído foi acondicionado em sacos de papel. O teor de Ca foi determinado por digestão nitroperclórica (Johnson & Ulrich, 1959) e o teor de Si segundo a metodologia proposta por Korndörfer *et al.* (2004).

Análise da penetração e desenvolvimento de *M. exigua*

Após a extração dos ovos conforme Boneti & Ferraz (1981), os juvenis de segundo estágio (J2) foram obtidos segundo o método do funil de Baermann (Baermann, 1917) modificado, utilizando uma tigela ao invés de funil. Os nematóides eclodidos até 24 horas foram descartados com o objetivo de padronizar a

idade dos J2, e por quatro dias, eles foram coletados diariamente (armazenados na geladeira) e a suspensão calibrada para 500 J2 por mL de água. Quando as mudas atingiram o estágio de três a quatro pares de folhas completamente desenvolvidas procedeu-se a inoculação com 2000 J2 por planta, distribuídos em três orifícios, equidistantes situados a 1 cm do caule, a uma profundidade de aproximadamente 3 cm. Após 48 h da inoculação, as plantas foram removidas dos copos plásticos e suas raízes lavadas para eliminar os J2 que ainda não haviam penetrado, para padronizar a idade de infecção em dois dias.

Aos 5, 10 e 15 dias após a inoculação (DAI), quantificou-se o número e o estágio de desenvolvimento dos juvenis por planta, em seis repetições. A localização dos diferentes estágios de desenvolvimento do nematóide nas raízes de cafeeiro foi realizada pela coloração com fucsina ácida (Byrd *et al.*, 1983) com algumas modificações (vide cap. 1).

Delineamento experimental e análise estatística

Os ensaios foram instalados em delineamento inteiramente casualizado, num esquema fatorial 2 x 2, com seis repetições por tratamento. Os fatores estudados foram: duas doses de volastonita e duas cultivares de cafeeiro. Cada unidade experimental foi composta de um vaso plástico contendo 1 kg de material de solo e uma planta. O ensaio foi realizado duas vezes, sendo selecionados para a análise os dados do segundo ensaio. A análise estatística foi processada utilizando-se o programa SAEG (SAEG, 2007).

RESULTADOS

Massa da matéria seca das raízes (MSR) e da parte aérea (MSPA)

Houve interação significativa entre os fatores doses de Si e cultivares de cafeeiro, bem como diferença estatística ($P \leq 0,05$) para os fatores isolados.

O desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea das plantas de ‘Catuaí’ foi maior ($P \leq 0,05$) do que as das plantas de ‘IAPAR 59’, independente da adição do Si no solo (Tabela 3), mas na presença de Si houve um aumento significativo ($P \leq 0,05$) na MSR e MSPA, de 22,58 e 20,68%, respectivamente. Em plantas de ‘IAPAR 59’, embora em menor proporção ($P \leq 0,05$) do que em plantas

de Catuaí, houve um incremento ($P \leq 0,05$) de 12,19 e 14,15%, respectivamente, para a MRS e MSPA na presença do Si.

Tabela 3. Matéria seca das raízes (MSR) e da parte aérea (MSPA) de mudas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ (susceptível) e ‘IAPAR 59’ (resistente), supridas (+Si) ou não (-Si) com silício, aos 120 dias após a inoculação com *Meloidogyne exigua*

Cultivares	MSR (g) ¹		MSPA (g)	
	-Si	+Si	-Si	+Si
Catuaí	1,24 bA	1,52 aA	3,24 bA	3,91 aA
IAPAR	1,06 bB	1,21 aB	2,79 bB	3,13 aB
CV (%)	12,55		14,22	

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

Teor de Si e Ca nas raízes

Houve interação significativa entre os fatores doses de Si e cultivares de cafeeiro, e diferença estatística ($P \leq 0,05$) apenas para o fator doses de Si.

O teor de Si nas raízes foi influenciado pelas cultivares de cafeeiro e pela presença de Si no solo (Tabela 4). Houve um aumento ($P \leq 0,05$) de 152 e 94%, respectivamente, no teor de Si nas raízes de plantas de ‘Catuaí’ e ‘IAPAR 59’ com a adição desse elemento no solo. Na cultivar Catuaí, o teor de Si nas raízes foi superior a 1% da massa da matéria seca nas plantas supridas com o Si.

A absorção de Ca foi influenciada apenas pela cultivar de cafeeiro, onde o maior teor foi encontrado ($P \leq 0,05$) em raízes das plantas da cultivar Catuaí (Tabela 5).

Tabela 4. Teor de silício (Si) em raízes de mudas de cafeeiro das cultivares Catuaí Vermelho IAC 44 e IAPAR 59, supridas (+Si) ou não (-Si) com silício, aos 120 dias após a inoculação com *Meloidogyne exigua*

Cultivares	Si (%) ¹	
	-Si	+Si
Catuaí	0,42 bA	1,06 aA
IAPAR	0,33 bB	0,66 aB
CV (%)	9,31	

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

Tabela 5. Teor de cálcio (Ca) em raízes de mudas de cafeeiro das cultivares Catuaí Vermelho IAC 44 e IAPAR 59, supridas (+Si) ou não (-Si) com silício, aos 120 dias após a inoculação com *Meloidogyne exigua*

Fatores	Ca (%)
Cultivares	
Catuaí	0,89
IAPAR	0,81
Valor de T	2,08*
Silício	
-Si	0,83
+Si	0,88
Valor de T	1,19 ^{ns}
CV (%)	5,81

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade. ^{ns} = não significativo.
CV: coeficiente de variação.

Efeito do Si na indução de galhas e produção de ovos de *M. exigua*

Houve interação significativa entre os fatores doses de Si e cultivares de cafeeiro, bem como diferença estatística ($P \leq 0,05$) para os fatores isolados.

A população de *M. exigua* induziu a formação de muitas galhas e a produção de grande quantidade de ovos em raízes da cultivar suscetível Catuaí, enquanto que na cultivar resistente ocorreu a formação de poucas galhas, média de três, e reduzido número de ovos, pouco mais de 1% do valor observado em raízes de ‘Catuaí’ (Tabela 6).

A adição de Si no solo não afetou a formação de galhas e produção de ovos de *M. exigua* em plantas da cultivar resistente IAPAR 59 ($P > 0,05$). Houve uma redução de 24,5 e 28,1% no número de galhas e de ovos, respectivamente para a cultivar suscetível na presença de Si.

Tabela 6. Número de galhas (NG) e de ovos (NO) por sistema radicular de mudas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ (suscetível) e ‘IAPAR 59’ (resistente), supridas (+Si) ou não (-Si) com silício, aos 120 dias após a inoculação com *Meloidogyne exigua*

Cultivares	NG ¹		NO	
	-Si	+Si	-Si	+Si
Catuaí	149 aA	124 bA	13390 aA	9632 bA
IAPAR	4 aB	2 aB	135 aB	64 aB
CV (%)	24,23		28,56	

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

Efeito do Si na penetração e no desenvolvimento de *M. exigua*

Houve interação significativa entre os fatores doses de Si e cultivares de cafeeiro, bem como diferença estatística ($P \leq 0,05$) para os fatores isolados.

Um maior número ($P \leq 0,05$) de J2 de *M. exigua* penetraram em raízes de ‘Catuaí’ em relação às de ‘IAPAR’ (Tabela 7). A adição de Si reduziu ($P \leq 0,05$) a quantidade de indivíduos que penetraram, tanto no cafeeiro suscetível quanto no resistente. Aos 10 DAI, apenas em raízes de ‘Catuaí’ foram observados indivíduos de *M. exigua* em estágio posterior a J2. Nessa época, ocorreu drástica redução da quantidade de J2 dentro das raízes da cultivar IAPAR 59, indicando que houve a emigração dos nematóides para o solo. Aos 15 DAI, cerca de 80% do número de J2 que haviam penetrado em raízes do cafeeiro suscetível encontravam-se nos estádios J3 ou J4, enquanto que na cultivar resistente menos de 10% atingiram essas fases de desenvolvimento.

Tabela 7. População de *Meloidogyne exigua* em diferentes estádios de desenvolvimento em raízes de cafeeiro das cultivares Catuaí Vermelho IAC 44 (suscetível) e IAPAR 59 (resistente), supridas (+Si) ou não (-Si) com silício, aos 5, 10 e 15 dias após a inoculação (DAI)

Cultivares	Estádios	5 DAI ¹		10 DAI		15 DAI	
		-Si	+Si	-Si	+Si	-Si	+Si
Catuaí	J2	146	108	139	86	21	24
	J3 e J4	0	0	17	12	113	77
	Total	146 aA	108 bA	156 aA	99 bA	134 aA	101 bA
IAPAR	J2	102	81	28	23	13	10
	J3 e J4	0	0	0	0	16	12
	Total	102 aB	81 bB	28 aB	23 aB	29 aB	22 aB

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. J2, J3 e J4 = juvenis de 2°, 3° e 4° estágio, respectivamente.

²O número de J2, J3 e J4 foram somados para se obter o total de indivíduos no interior das raízes.

DISCUSSÃO

Foram obtidas as primeiras evidências científicas do efeito positivo do Si no controle de *M. exigua* em cafeeiro. Apesar de não ser considerado um nutriente essencial para as plantas, o Si atingiu teor superior a 1% da massa raízes (MSR) das plantas da cultivar ‘Catuaí Vermelho IAC 44’. Este constitui-se o primeiro registro

do teor de Si em raízes de cafeeiro. Vale ressaltar que o Ca, um macronutriente essencial ao cafeeiro, apresentou teor médio de 0,93% na MSR. As plantas supridas com Si exibiram maior desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea, quantificados pela MSPA e MSR. O Si também teve influência na taxa de penetração dos J2 de *M. exigua* em raízes de ‘Catuaí’ e ‘IAPAR’, suscetível e resistente, respectivamente. Entretanto, apenas em plantas da cultivar suscetível a presença desse elemento reduziu o número de galhas e de ovos. O fato do Si não ter interferido na reprodução do nematóide em raízes de plantas da cultivar IAPAR 59 deve-se provavelmente ao elevado nível de resistência genética natural da mesma, conferida pelo gene *Mex 1*, procedente de *C. canephora*. Entretanto, nesta cultivar houve a produção de ovos de aproximadamente 1% em relação à suscetível. Assim, não apresentou resposta de imunidade a *M. exigua*, como observado para a cv. Apoatã IAC 2258 (Silva *et al.*, 2007).

A redução nos número de galhas e de ovos nas plantas de ‘Catuaí’ supridas com Si udo ocorreu, provavelmente, devido à atuação de mecanismos de resistência de natureza mecânica e ou bioquímicos potencializados pelo Si, que atuam principalmente na fase de penetração, uma vez que maior quantidade de J2 de *M. exigua* estava presente nas plantas não supridas com esse elemento. Este fato foi mais evidente na cultivar suscetível. Provavelmente a adição do Si acarretou mudanças na constituição química e, ou, física da parede celular da raiz, de maneira que a mesma dificultasse a penetração dos J2. Entretanto, estudos bioquímicos fazem-se necessários para comprovar essa hipótese. Pozza *et al.* (2004) ao estudar a interação *Cercospora coffeicola*-cafeeiro, observaram menor severidade da doença em plantas supridas com Si em relação às cultivadas na ausência desse elemento. Os autores atribuíram esse efeito ao aumento na espessura da parede celular da face inferior da folha, em consequência da deposição de sílica, o que dificultaria a penetração do patógeno. Recentemente, em estudo envolvendo o mesmo patossistema, foi verificado também aumento na concentração de lignina nas folhas de cafeeiro supridas com silicato de cálcio (Botelho, *et al.*, 2005).

Em plantas da cultivar resistente, apesar de ter ocorrido redução na taxa de penetração, ficou evidente que o principal mecanismo de resistência está relacionado com resposta de defesa da planta pós-infecção, que impede o estabelecimento do sítio de alimentação (HR) e acarreta emigração dos nematóides para o solo, atraso e inibição do desenvolvimento e da reprodução. Oliveira (2006) ao estudar a interação

incompatível entre *M. incognita* e o cafeeiro Apatã, observou também uma drástica taxa de emigração, porém sem a ocorrência de HR.

Na literatura, existem diversos relatos do efeito do Si no controle de várias doenças de planta, principalmente envolvendo fungos fitopatogênicos e monocotiledôneas (Epstein, 1999; Rodrigues & Datnoff, 2005). Todavia, nos últimos anos houve crescente aumento na quantidade de trabalhos com Si em dicotiledôneas, exibindo também efeitos positivos. Dentre estes, destaca-se o controle do oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepino (Fawe *et al.*, 1998), o cancro da haste (*Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis*) em soja (Lima, 1998), antracnose no feijoeiro (Moraes *et al.*, 2006) e a cercosporiose (*Cercospora coffeicola*) do cafeeiro (Pozza *et al.*, 2004). Porém, pouco é conhecido a respeito dos mecanismos relacionados com a resposta de defesa da planta potencializados pelo Si.

Nos patossistemas onde o papel do Si nas plantas foi mais bem estudado, foi demonstrado que esse elemento deposita-se e polimeriza na forma de ácido monossilícico abaixo da cutícula, o qual dá origem a uma dupla camada cutícula-sílica (Yoshida, 1962). Essa dupla camada de cutícula funciona como uma barreira física, conferindo maior resistência à penetração dos patógenos. Nos últimos anos, outros mecanismos foram propostos, nos quais o Si potencializaria a resistência das plantas a patógenos. Neste caso, a resposta de defesa da planta é ativada posteriormente à invasão do patógenos, e está associada com o aumento da habilidade da produção de compostos fenólicos, lignina, fitoalexinas e enzimas relacionadas à defesa da planta (Fawer *et al.*, 1998; Rodrigues *et al.*, 2003, 2005; Fauteux *et al.*, 2005). Contudo, a natureza da resistência mediada pelo Si, em hospedeiro suscetível, é um fenômeno complexo, que necessita de análises mais detalhadas a nível bioquímico e molecular (Rodrigues *et al.*, 2005).

O silicato de cálcio demonstrou eficiência semelhante à do calcário na correção da acidez do solo, ou seja, elevou o pH, e aumentou os teores de Ca e saturação por bases, com a vantagem adicional de fornecer o Si. Associadas aos benefícios à planta, já mencionados, o Silicato de cálcio apresenta-se como uma boa alternativa, economicamente viável, em substituição ao calcário para a correção do solo na cultura do cafeeiro. É importante ressaltar que neste caso, faz-se necessário a adição na adubação inicial, junto com o NPK, de uma fonte de Mg.

Estudos anteriores relatam teor foliar de Si em cafeeiro de 0,33 a 0,51% (Pereira, 2007), enquanto que no caule esse teor variou de 0,44 a 0,65% (Botelho *et*

al., 2005). Considerando apenas esses dois trabalhos, o cafeeiro seria classificado como uma espécie não acumuladora de Si (Takahashi *et al.*, 1990). No presente estudo, foi demonstrado que o Si está presente preferencialmente nas raízes, cujo teor médio de Si nas raízes do cafeeiro ‘Catuaí’, quando supridas com esse elemento, foi de mais de 1%. Segundo a classificação de Jones & Handreck (1967), o cafeeiro com esse teor de Si nas raízes seria considerado uma espécie intermediária quanto ao acúmulo Si, tal como algumas espécies pertencentes às Cucurbitaceae, Urticales e Commelinaceae (Mitani & Ma, 2005), além de membros das Fabaceae. Ao utilizar o critério da concentração molar Si:Ca, em que valores menores que 0,5 são consideradas para as espécies não acumuladoras; entre 0,5 e 1,0 para intermediárias; e maior do que 1,0 para as realmente acumuladoras (Miyake & Takahashi, 1983; Ma *et al.*, 2001); o cafeeiro seria classificado como uma planta acumuladora de Si com relação Si:Ca de 1,13. O teor de Si na raiz do cafeeiro pode ser considerado elevado por tratar-se de uma dicotiledônea e demonstra o efeito promissor desse elemento em controlar *M. exigua*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAERMANN, G. Eine einfache methode zur auffindung von ankvlostomum (nematoden) larven in erdproben. Tijdschr. Ned-Indie 57: 131-137. 1917.

BARBOSA, D.H.S.G., VIEIRA, H.D., SOUZA, R.M., VIANA, A.P. & SILVA, C.P. Field estimates of coffee yield losses and damage threshold by *Meloidogyne exigua*. Nematologia Brasileira 28: 49-54. 2004.

BARNETTE, R.M. Synthetic calcium silicate as a source of agricultural lime: III a comparasion of the influence of synthetic calcium silicate with other forms of lime on the soil reaction. Soil Science 73: 75-82. 1952.

BONETI, J.I.S., FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira 6: 553. 1981. (Resumo)

BOTELHO, D.M.S., POZZA, E.A., POZZA, A.A.A., CARVALHO, J.G., BOTELHO, C.E. & SOUZA, P.E. Intensidade da cercosporiose em mudas de

cafeeiro em função de fontes e doses de silício. *Fitopatologia Brasileira* 30: 582-588. 2005.

BYRD, J.D.W., KIRKPATRICK, J., BARKER, K.R. An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. *Journal of Nematology* 15:142-143. 1983.

CAMPOS, V. P. & VILLAIN, L. Nematode parasites of coffee and cocoa. In: LUC, M., SIKORA, R. A. & BRIDGE, J. (Eds.) *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. Wallingford UK. CAB. Internacional. 2005. pp. 529-579.

CASTRO, J.M.C., CAMPOS, V.P., POZZA, E.A., NAVES, R.L., ANDRADE JUNIOR, W.C., DUTRA, M.R., COIMBRA, J.L., MAXIMINIANO, C., SILVA, J.R.C. Levantamento de fitonematóides em cafezais do Sul de Minas Gerais. *Nematologia Brasileira* 32: 56-64. 2008.

CFSEMG - Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais. *Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5º Aproximação*. Viçosa, MG. 1999.

DAVIS, B.J.B. Disk electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Annals of the New York Academy of Sciences* 121: 404-427. 1964.

DROPKIN, V.H. The necrotic reaction of tomatoes and other host resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature. *Phytopathology* 59: 1632-1637. 1969.

DUTRA, M.R., GARCIA, A.L.A., PAIVA, B.R.T.L., SILVA, R.V.B. & CAMPOS, V.P. Controle do nematóide *Meloidogyne exigua* em cafeeiro com produtos alternativos no município de Varginha-MG. *Fitopatologia Brasileira* 29: 174. 2004. (Resumo)

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. *Sistema brasileiro de classificação de solos*. Brasília. 1999. 412p.

EPSTEIN, E. Silicon. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 641-664. 1999.

FAUTEUX, F., REMUS-BOREL, W., MENZIES, J.G. & BELANGER, R.R. Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. *FEMS Microbiology Letters* 249: 1-6. 2005.

FAWE, A., ABOU-ZAID, M., MENZIES, J.G. & BÉLANGER, R.R. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. *Phytopathology* 88: 396-401. 1998.

GONÇALVES, W. & SILVAROLLA, M.B. 2001. Nematóides parasitos do cafeeiro. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) *Tecnologias de produção de café com qualidade*. Viçosa: Editora UFV, p.199-267.

HOAGLAND D.R. & ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soils. *California Agricultural Experiment Station Circular* 347, 1-32. 1950.

JOHNSON, C.M., ULRICH, A. Analytical methods for use in plants analyses. Los Angeles: University of California, 1959. 247p.

JONES, L.H.P. & HANDRECK, K.A. Silica in soils, plants and animals. *Advances in Agronomy* 19: 107-149. 1967.

KIRKPATRICK, T.L., OOSTERHUIS, D.M. & WULLSCHLEGER, S.D. Interaction of *Meloidogyne incognita* and water stress in two cotton cultivars. *Journal Nematology* 23: 462-467. 1991.

KORNDÖRFER, G.H., PEREIRA, H.S. & NOLA, A. Análise de silício: solo, planta e fertilizante. GPSi-ICIAG-UFU. 2004.

LIMA, M.T.G. Interrelação Cancro da haste (*Diaporthe phaseolorum* f. sp. *meridionalis*), nodulação (*Bradyrhizobium japonicum*) e silício em soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. Tese de Doutorado. Piracicaba SP. Centro de Energia Nuclear na Agricultura, ESALQ/USP. 1998.

LIMA, R.D. & FERRAZ, S. Biologia de *Meloidogyne exigua* II. Desenvolvimento pos-embriogênico em cafeeiro 'Mundo Novo'. *Revista Ceres* 32: 349-61. 1985.

MA, J.F., MIYAKE, Y., TAKAHASHI, E. Silicon as a beneficial element for crop plants. In: DATNOFF, L.E., SNYDER, G.H., KORNDÖRFER, G.H (Eds.). Silicon in Agriculture. The Netherlands: Elsevier Science 2001. pp. 17-39.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed. New York. Academic Press. 1995.

MENDES, B.V., FERRAZ, S. & SHIMOYA, C. Observaciones histopatológicas de raízes de cafeeiro parasitadas por *Meloidogyne exigua* Goeldi, 1887. Nematologia Brasileira 2: 208-229. 1977.

MITANI, N. & MA J.F. Uptake system of silicon in different plant species. Journal of Experimental Botany 56: 1255-1261. 2005.

MIYAKE, Y. & TAKAHASHI, E. Effect of silicon on the growth of solution-cultured cucumber plant. Soil Science and Plant Nutrition 29: 71-83. 1983.

MORAES, S.R.G., POZZA, E.A., ALVES, E., POZZA, A.A.A., CARVALHO, J.G., LIMA, P.H. & BOTELHO, A.O. Efeito de fontes de silício na incidência e na severidade da antracnose do feijoeiro. Fitopatologia Brasileira 31: 69-75. 2006.

OLIVEIRA, D.S. Patogenicidade de populações de *Meloidogyne incognita*, proveniente de Minas Gerais e São Paulo, ao cafeeiro. Tese de Doutorado. Viçosa MG. Universidade Federal de Viçosa. 2006.

PEREIRA, S.C. Silício como potencializador da atividade de enzimas de defesa à ferrugem em plantas de café e soja. Dissertação de Mestrado. Viçosa, MG. Universidade Federal de Viçosa. 2007.

POZZA, A.A., ALVES, E., POZZA, E.A., CARVALHO, J.G., MONTANARI, M., GUIMARÃES, P.T.G. & SANTOS, D.M. Efeito do silício no controle da cercosporiose em três variedades de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira 29: 185-188. 2004.

RODRIGUES, F.A., BENHAMOU, N., DATNOFF, L.E., JONES, J.B. & BÉLANGER, R.R. Ultrastructural and cytochemical aspects of silicon-mediated rice blast resistance. Phytopathology 93: 535-546. 2003a.

RODRIGUES, F.A. & DATNOFF, L.E. Silicon and rice disease management. *Fitopatologia Brasileira* 30: 457-469. 2005.

SAEG - Sistema para Análises Estatísticas. Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, MG. 2007.

SILVA, F.C. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. EMBRAPA. 1999.

SILVA, R.V., OLIVEIRA, R.D.L., PEREIRA, A.A. & SÊNI, D.J. Respostas de genótipos de *Coffea* spp. a diferentes populações de *Meloidogyne exigua*. *Fitopatologia Brasileira* 32: 205-212. 2007b.

SWAIN, B.N. & PRASAD, J.S. Influence of silica content in the roots of rice varieties on the resistance to root-knot nematodes. *Indian Journal of Nematology* 18: 360-361. 1988.

WILLIAMSON, V.M. & HUSSEY, R.S. Nematode pathogenesis and resistance in plants. *Plant Cell* 8:1735-1745. 1996.

YOSHIDA, S., OHINISHI, Y. & KITAGISHI, K. Chemical forms, mobility, and deposition of silicon in the rice plant. *Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 8: 107-111. 1962.

CAPÍTULO 3

Silício na absorção de nutrientes em mudas de cafeeiro infectadas por *Meloidogyne exigua*

RESUMO

Ainda não é conhecido o efeito do Silício em relação ao equilíbrio nutricional de cafeeiro infectado pelo nematóide *Meloidogyne exigua*. Assim, objetivou-se avaliar o efeito do Si na absorção de nutrientes em mudas de cafeeiro inoculadas ou não com *M. exigua*. Foram utilizadas as cultivares Catuaí Vermelho IAC 44 e IAPAR 59, suscetível e resistente, respectivamente, e uma população de *M. exigua* coletada em cafeeiro no município de Canaã, MG. Inocularam-se 5000 ovos de *M. exigua* por muda de cafeeiro com 3-4 pares de folhas. Aos 180 dias após a inoculação, quantificaram-se o número de galhas e ovos do nematóide por sistema radicular, a massa da matéria seca das raízes (MSR) e da parte aérea (MSPA), e o teor de macro e micronutrientes. Plantas da cultivar suscetível supridas com Si apresentaram um maior desenvolvimento, além da redução em 20,9 e 25,6% no número de galhas e de ovos por sistema radicular, respectivamente. A absorção de Si não foi afetada pela infecção da planta pelo nematóide, mas houve diferença entre os cultivares. Maior teor desse elemento foi encontrado em raízes das plantas de ‘Catuaí’. O teor de N, P, K, Ca, Zn e Fe diminuíram nas raízes das plantas de ‘Catuaí’ infectadas por *M. exigua*, além do teor foliar de N, P, B, Mn e Zn. Não houve influência da inoculação das plantas da cultivar IAPAR 59 quanto ao teor de nutrientes nas raízes e folhas, mas a adição do Si influenciou positivamente o teor de N, Si e Mn. Na presença do Si, ocorreu um maior acúmulo de Zn nas raízes e nas folhas das plantas de ‘Catuaí’, principalmente quando infectadas pelo nematóide, comportamento também semelhante ao observado para o Cu e o Fe. Com base nesses resultados, verificou-se que o Si apresentou efeito positivo no controle de *M. exigua* e na dinâmica de alguns nutrientes nas raízes e folhas de cafeeiro. Assim, associada a uma adubação equilibrada, recomenda-se a adição de Si no solo para o manejo de *M. exigua* em cafeeiro.

INTRODUÇÃO

Atualmente, *Meloidogyne exigua* constitui-se num dos principais patógenos do cafeeiro. Essa consideração advém de ser a espécie de nematóides das galhas mais disseminada e com maior distribuição geográfica em áreas de cultivo de café do tipo arábica na América Latina, principalmente no Brasil (Gonçalves & Silvarolla, 2001; Campos & Villain, 2005; Castro *et al.*, 2008). Por ser um patógeno biotrófico, *M. exigua* alimenta-se exclusivamente do citoplasma de células vegetais vivas. Essa espécie chegou a reduzir o desenvolvimento vegetativo do cafeeiro em 58% (Rodrigues & Crozzoli, 1985) e causar perdas na produtividade da ordem de 45% (Barbosa *et al.*, 2004).

Plantas infectadas pelos nematóides das galhas, de uma maneira geral, demonstram sintomas típicos de deficiência nutricional, principalmente de nitrogênio e nutrientes que apresentam uma baixa mobilidade nos tecidos da planta (Vaast *et al.*, 1998). Isto ocorre, principalmente, devido às mudanças anatômicas nas raízes, decorrentes do parasitismo do nematóide. Com o desenvolvimento de células gigantes e, ou, a formação de galhas, resultantes da hipertrofia e hiperplasia de células do cilindro central, há compressão dos vasos do xilema, o que reduz a absorção e o transporte de água e nutrientes (Kirkpatrick *et al.*, 1991). Além disso, as células gigantes funcionam como um dreno de fotoassimilados, minerais e outros metabólitos (Williamson & Hussey, 1996). Como consequência ocorre redução no teor de nutrientes nos tecidos das plantas (Sijmons *et al.*, 1991), além de desequilíbrio nutricional.

A influência do parasitismo dos nematóides das galhas no equilíbrio nutricional do cafeeiro já foi demonstrada por alguns pesquisadores. No entanto, os resultados disponíveis são inconsistentes e até mesmo contraditórios. A interação de *M. incognita* com o cafeeiro acarretou redução do teor de P, Mg, Fe, Mn e B, mas houve aumento no teor de K e Zn (Gonçalves *et al.*, 1995). Em estudo preliminar, Macedo *et al.* (1974) observaram que a infecção da cv. Mundo Novo (*Coffea arabica*) por *M. exigua*, provocou deficiência, no conteúdo de B e Zn. Boneti *et al.* (1982) ao analisar o mesmo patossistema, observaram uma diminuição na absorção pelas raízes de B, Cu, Fe, Mn e Zn, mas sem alteração na translocação para a parte aérea. Recentemente, no Hawaii, Hurchanik *et al.* (2004) verificaram que o parasitismo de *M. konaensis* sobre o cafeeiro ‘Típica’ (*C. arabica*) ocasionou uma

redução no teor de Ca, Mg, P e B nas raízes, enquanto que os teores de Mn, Cu e Zn aumentaram.

Nos últimos anos, o manejo nutricional das plantas é utilizado com o objetivo de aumentar a resistência e, ou, a tolerância às doenças (Marschner, 1995). Nesse contexto, a utilização do Si pode ser uma estratégia de controle interessante a ser utilizada no manejo integrado de fitonematóides.

Plantas em ambiente enriquecido com Si diferem das cultivadas em locais com deficiência do elemento, principalmente, quanto à composição química, resistência mecânica das células, características de superfície foliar, tolerância aos estresses abióticos, e o ataque por patógenos e insetos (Epstein, 1999).

Conforme observado no capítulo 2, o Si apresentou efeito positivo no controle de *M. exigua* em cafeeiro, além de atingir o teor nas raízes superior a 1%. No entanto, ainda não é conhecido o papel desse elemento em relação ao equilíbrio nutricional do cafeeiro. Assim, o presente estudo objetivou avaliar o efeito do Si na absorção de nutrientes em mudas de cafeeiro infectadas por *M. exigua*.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido em casa-de-vegetação do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, localizado na região da Zona da Mata de Minas Gerais, com latitude 20° 45' 14" S e longitude 42° 52' 53" W. Durante o período experimental as médias das temperaturas mínimas e máximas do ar foram de 18,5 e 28,7 °C, respectivamente.

Material de Solo

Foram utilizados os primeiros 20 cm do perfil de um solo pertencente à classe Latossolo Amarelo ácrico típico (Embrapa, 1999), de textura argilosa, coletado no município de Uberlândia, Minas Gerais. Essa classe de solo foi escolhida, dentre outras características, por apresentar baixos teores de Si disponível (11,8 mg/Kg), natureza ácrica e elevado índice de intemperismo, características específicas de solos deficientes em Si (Tabelas 1). As análises físicas e químicas do solo foram realizadas conforme Silva (1999).

Tabela 1. Características físicas e químicas, da camada de 0 a 20 cm superficiais do Latossolo Amarelo ácrico típico, coletado no município de Uberlândia, MG.

Análise Física														
Areia Grossa		Areia Fina		Silte				Argila		Classe Textural				
dag/Kg														
34		6		7				53		Argiloso				
Análise Química														
pH	Si	P	K	Al	Ca	Mg	H+Al ⁺³	SB	t	T	V	m	M.O.	
KCl	mg/Kg	--mg.dm ⁻³ --	-----cmol _c .dm ⁻³ -----											dag/Kg
4,8	11,8	0,5	13	0,1	0,0	0,0	3,8	0,1	0,2	3,9	2,0	40,5	2,3	

Fonte, doses de silício e adubação das mudas de cafeeiro

Utilizou-se como fonte de silício o produto comercial Vansil W-10 (Volastonita, CaSiO₃), livre de contaminantes como o ferro e fósforo, adquirido da Empresa Ipiranga Comercial Química (São Paulo). As características químicas desse produto são: poder relativo de neutralização (PRNT) de 77%, teor total em SiO₂ de 51,9% (correspondendo a 24,2% de Si) e teor total em CaO de 43,4% (correspondendo a 31% de Ca).

As doses de Volastonita utilizadas foram 0 e 1,25 g/Kg de solo, correspondendo, respectivamente a 0 e 0,30 g Si/Kg de solo. Com a finalidade de padronizar o teor de cálcio (Ca) presente nos vasos com Volastonita na dose de 1,25 g/Kg, foram utilizados 0,967g de carbonato de cálcio (PRNT 100%, Ca 40%), nos vasos que não receberam Volastonita. Com este procedimento, os teores de cálcio oriundos da Volastonita e do carbonato de cálcio ficaram padronizados em 0,387 g/vaso. Assim, apenas o teor de Si variou entre os tratamentos. A acidez do solo foi corrigida com volastonita ou carbonato de cálcio, visando elevar a saturação de bases (V) para 50%. Em seguida, o solo foi incubado em sacos plásticos a temperatura de 30 °C, por um período de 30 dias e a umidade foi mantida constante. Após o período de incubação, foram coletadas amostras de material de solo desses vasos para análise química.

Os solos incubados com volastonita ou carbonato de cálcio apresentaram o mesmo valor de pH (6,2) aos 30 dias após a incubação (Tabela 2).

Tabela 2. Características químicas do solo determinadas após o período de incubação com as doses de volastonita e carbonato de cálcio.

Volastonita	CaCO ₃	pH	P	K	Análise Química								V	m
					Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	CTC (t)	CTC (T)	-- % --		
-----g/vaso-----		H ₂ O	mg.dm ⁻³		-----cmol _c .dm ⁻³ -----									
0,00	0,967	6,2	1,0	13	1,5	0,0	0,0	1,80	1,53	1,50	3,33	46	0	
1,25	0,000	6,2	1,0	14	1,5	0,0	0,0	1,85	1,54	1,54	3,29	47	0	

No transplântio das mudas de cafeeiro, realizou-se a adubação inicial do solo, com a adição de 3 g de superfosfato simples, 500 mg de cloreto de potássio e 220 mg de sulfato de amônia por vaso (CFSEMG, 1999). A cada 15 dias, foram aplicados 30 mL por vaso de solução nutritiva completa de Hoagland (Hoagland & Arnon, 1950).

População de *M. exigua*

A população de *M. exigua* foi coletada em cafeeiro no município de Canaã, MG, e cultivada em mudas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ por aproximadamente um ano. Foi caracterizada como raça 1 e fenótipo de esterase (EST) E1 (Rm 1,60) (Ornstein, 1964; Davis, 1964; Silva *et al.*, 2007).

Cultivares de cafeeiro e inoculação das plantas

Foram utilizadas as cultivares ‘Catuaí Vermelho IAC 44’, que a partir daqui será designada como ‘Catuaí’, e ‘IAPAR 59’, suscetível e resistente ao nematóide, respectivamente. Para a obtenção das mudas, sementes foram colocadas para germinar em bandejas contendo areia lavada, previamente esterilizada. Quando as plântulas atingiram o estágio de “palito de fósforo”, elas foram transplantadas para vasos plásticos de 1 L de capacidade, contendo uma mistura do solo mais as respectivas doses de volastonita ou carbonato de cálcio. Quando as mudas de cafeeiro encontravam-se no estágio de três a quatro pares de folhas completamente desenvolvidas, as mesmas foram inoculadas com 5000 ovos de *M. exigua*, extraído segundo o método de Boneti & Ferraz (1981).

Análise da reprodução de *M. exigua*

Aos 180 dias após a inoculação, foi quantificado o número de galhas e ovos de *M. exigua* por sistema radicular, nas seis plantas por tratamento. Após a contagem das galhas, as raízes foram submetidas à extração dos ovos, e a seguir, os mesmos foram quantificados em câmara de contagem de Peters em microscópio de luz.

Determinação da massa da matéria seca das raízes (MSR) e da parte aérea (MSPA), o teor de Si, macro e micronutrientes

Aos 180 dias após a inoculação, o sistema radicular das seis plantas de cada tratamento foi coletado para a determinação do teor de Si e os nutrientes. As raízes e a parte aérea foram secas em estufa de circulação forçada à temperatura de 65°C por 72 horas e determinada a massa da matéria seca. Após a trituração das raízes em moinho tipo Wiley, o material finamente moído foi acondicionado em sacos de papel. O teor de cálcio foi determinado por digestão nitroperclórica (Johnson & Ulrich, 1959) e o teor de Si segundo a metodologia proposta por Korndörfer *et al.* (2004). Os demais nutrientes foram analisados conforme Malavolta *et al.*, 1997.

Delineamento experimental e análise estatística

Os ensaios foram instalados em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2, com seis repetições por tratamento. Para o ensaio dos nutrientes, os fatores foram duas doses de volastonita e inoculados, ou não, com *M. exigua*. No ensaio da reprodução, os fatores foram duas cultivares de cafeeiro e duas doses de Si. Cada unidade experimental foi composta de um vaso plástico contendo 1 kg de material de solo e uma planta. A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa SAEG (SAEG, 2007). Devido às diferentes respostas apresentadas pelos nutrientes individualmente aos tratamentos utilizados, optou-se por não apresentar, nas tabelas, a análise estatística para os mesmos.

RESULTADOS

Efeito do Si na formação de galhas e produção de ovos de *M. exigua*

Houve interação significativa entre os fatores doses de Si e inoculação ou não com *M. exigua*, bem como diferença estatística ($P \leq 0,05$) desses fatores isolados no número de galhas e número de ovos, em plantas de ‘Catuaí’.

A população de *M. exigua* induziu a formação de muitas galhas e alta produção de ovos em raízes de Catuaí, enquanto que em raízes de ‘IAPAR 59’, ocorreu a formação de poucas galhas, média de 4 por planta, e reduzido número de ovos, observando-se menos de 1% do valor encontrado em plantas da cultivar suscetível (Tabela 3).

Tabela 3. Número de galhas (NG) e de ovos (NO) por sistema radicular de mudas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ (suscetível) e ‘IAPAR 59’ (resistente), supridas (+Si) ou não (-Si) com silício, aos 180 dias após a inoculação com *Meloidogyne exigua*

Cultivares	NG ¹		NO	
	-Si	+Si	-Si	+Si
Catuaí	258 aA	214 bA	18976 aA	15122 bA
IAPAR	4 aB	3 aB	156 aB	122 aB
CV (%)	22,88		26,44	

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, e minúscula na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

Não houve efeito ($P > 0,05$) do Si na formação de galhas e produção de ovos de *M. exigua* nas raízes das plantas da cultivar IAPAR 59. Por outro lado, houve efeito ($P \leq 0,05$) na redução desse nematóide no hospedeiro suscetível, com queda de 20,9 e 25,6% no número de galhas e de ovos por sistema radicular, respectivamente.

Efeito do Si MSR e MSPA

Houve interação significativa entre os fatores doses de Si e inoculação ou não com *M. exigua*, bem como diferença estatística ($P \leq 0,05$) para os fatores isolados.

O desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea de plantas da cultivar IAPAR 59 não foi influenciado ($P > 0,05$) pela inoculação com *M. exigua*, mas houve efeito ($P \leq 0,05$) positivo do Si nas variáveis MSR e MSPA (Tabela 4).

Tabela 4. Massa da matéria seca das raízes (MSR) e da parte aérea (MSPA) de mudas de cafeeiro da cultivar resistente IAPAR 59, aos 180 dias após a inoculação (PI) ou não (PNI) com *Meloidogyne exigua* e supridas (+Si) ou não (-Si) com silício

Silício	MSR ¹		MSPA	
	PNI	PI	PNI	PI
- Si	1,78 a A	1,67 aB	3,26 aB	3,18 aB
+ Si	1,87 aA	1,87 aA	3,42 aA	3,51 aA
CV (%)	9,74		8,98	

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

O parasitismo do nematóide provocou um efeito negativo no desenvolvimento do cafeeiro suscetível na presença do Si, houve aumento significativo ($P \leq 0,05$) na MSR e MSPA, especialmente em plantas não inoculadas com o nematóide (Tabela 5).

Tabela 5. Massa da matéria seca das raízes (MSR) e da parte aérea (MSPA) de mudas de cafeeiro da cultivar Catuaí Vermelho IAC 44, aos 180 dias após a inoculação (PI) ou não (PNI) com *Meloidogyne exigua* e supridas (+Si) ou não (-Si) com silício

Silício	MSR ¹		MSPA	
	PNI	PI	PNI	PI
- Si	3,86 aB	3,24 bB	2,14 aB	1,86 bB
+ Si	4,09 aA	3,78 bA	2,28 aA	2,06 bA
CV (%)	12,97		11,85	

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

Efeito do Si na absorção e translocação de nutrientes

A infecção por *M. exigua* não interferiu na absorção e translocação do Si em ambas as cultivares de cafeeiro. O teor de Si nas raízes foi influenciado apenas pela adição do elemento no solo, comportamento semelhante foi observado para o teor foliar desse elemento. Isto ocorreu tanto em plantas da cultivar Catuaí (Tabela 6)

quanto nas plantas da cultivar IAPAR 59 (Tabela 7). Os maiores teores de Si foram encontrados nas raízes de cafeeiro, e a cultivar Catuaí demonstrou ser mais eficiente em concentrar esse elemento. Houve um aumento de 162 e 94%, respectivamente, no teor de Si em raízes de plantas da cultivar ‘Catuaí’ e ‘IAPAR 59’ com a adição desse elemento no solo. Em ‘Catuaí’, o teor de Si nas raízes foi superior a 1% da massa da matéria seca.

Na cultivar resistente, a infecção por *M. exigua* não interferiu na absorção e translocação de nutrientes, já a adição do Si no solo influenciou a absorção de N, Fe e Mn. O N apresentou maior teor nas plantas supridas com o Si, enquanto que para o Fe e Mn, houve redução na absorção e, ou, translocação. Para a cultivar suscetível a infecção pelo nematóide afetou o teor de vários nutrientes tanto no sistema radicular quanto nas folhas. Em raízes infectadas houve diminuição dos teores dos macronutrientes N, P, K e Ca, enquanto que nas folhas apenas o N e o P foram afetados. O teor de Mg e S não foram alterados tanto nas raízes quanto nas folhas, independente da inoculação ou não com o nematóide e da adição do Si no solo. O mesmo foi observado com a concentração foliar de K e do Ca.

Com relação aos micronutrientes, a absorção de Zn pelas raízes foi afetada negativamente em mudas infectadas por *M. exigua*. No entanto, na presença do Si, ocorreu um aumento no teor de Cu, Fe e de Zn nas raízes, principalmente nas plantas infectadas. Quanto ao teor foliar, houve redução para o B, Mn e Zn. Nas plantas supridas com Si, ocorreu um aumento no teor foliar de Zn e Fe nas plantas da cultivar ‘Catuaí’ infectadas por *M. exigua*.

Tabela 6. Teor de nutrientes e de silício (Si) em raízes e folhas de mudas de cafeeiro da cultivar suscetível Catuaí Vermelho IAC 44, supridas ou não com silício, aos 180 dias após a inoculação (PI) ou não (PNI) com *Meloidogyne exigua*

Teor (%)	Silício	Raízes		Folhas	
		PNI	PI	PNI	PI
N	-Si	2,38	1,93	4,24	3,23
	+Si	2,40	2,31	4,37	3,43
P	-Si	0,16	0,11	0,16	0,12
	+Si	0,16	0,15	0,17	0,16
K	-Si	2,42	1,98	3,52	3,63
	+Si	2,27	2,03	3,73	3,82
Ca	-Si	1,05	0,84	1,18	1,21
	+Si	1,10	0,78	1,21	1,25
Mg	-Si	0,16	0,19	0,12	0,11
	+Si	0,17	0,15	0,14	0,13
S	-Si	0,26	0,29	0,15	0,12
	+Si	0,27	0,28	0,14	0,16
Zn	-Si	29,08	23,41	15,78	12,98
	+Si	30,51	38,12	12,42	19,24
Fe	-Si	2663	2383	136,26	127,66
	+Si	2216	4838	104,76	166,74
Mn	-Si	28,02	27,86	212,82	189,58
	+Si	24,18	26,00	222,30	200,70
Cu	-Si	9,84	10,92	14,52	16,02
	+Si	12,91	15,96	12,24	11,62
B	-Si	26,61	32,24	66,38	53,90
	+Si	30,36	27,90	62,98	54,24
Si	-Si	0,46	0,44	0,25	0,23
	+Si	1,10	0,98	0,51	0,48

Tabela 7. Teor de nutrientes e de silício (Si) em raízes e folhas de mudas de cafeeiro da cultivar resistente IAPAR 59, supridas (+Si) ou não (-Si) com silício, aos 180 dias após a inoculação (PI) ou não (PNI) com *Meloidogyne exigua*

Teor (%)	Silício	Raízes		Folhas	
		PNI	PI	PNI	PI
N	-Si	2,08	1,96	3,47	3,33
	+Si	2,14	2,08	3,77	3,71
P	-Si	0,13	0,12	0,16	0,15
	+Si	0,14	0,13	0,15	0,15
K	-Si	2,14	2,10	3,28	3,36
	+Si	2,20	2,02	3,31	3,60
Ca	-Si	0,96	0,93	1,15	1,17
	+Si	0,98	0,84	1,20	1,14
Mg	-Si	0,21	0,17	0,13	0,11
	+Si	0,18	0,16	0,13	0,11
S	-Si	0,26	0,26	0,15	0,14
	+Si	0,28	0,25	0,15	0,15
Zn	-Si	19,26	19,34	12,62	13,32
	+Si	22,23	24,28	10,66	11,46
Fe	-Si	2215	1674	117,76	119,76
	+Si	1004	1124	97,56	100,20
Mn	-Si	29,18	26,04	182,34	186,24
	+Si	30,41	32,10	168,80	169,82
Cu	-Si	9,34	8,83	13,21	12,54
	+Si	11,08	9,54	12,16	12,72
B	-Si	30,26	28,92	47,82	52,33
	+Si	32,13	32,82	49,14	51,86
Si	-Si	0,33	0,29	0,13	0,11
	+Si	0,64	0,66	0,31	0,36

DISCUSSÃO

A resistência de plantas a doenças pode sofrer a interferência de diversos fatores ambientais, sendo os nutrientes disponíveis para a planta um desses. O Si apresentou efeito positivo no controle de *M. exigua* no cafeeiro suscetível ‘Catuaí’. Essa característica foi evidenciada tanto na diminuição do número de galhas quanto no de ovos. Em plantas da cultivar resistente a ausência do efeito desse elemento se deve principalmente ao elevado nível de resistência exibido por esse genótipo, que permitiu a produção de menos de 1% de ovos em relação ao genótipo suscetível.

De uma maneira geral, o papel do Si na redução de severidades de doenças, é mais evidente em plantas suscetíveis em relação àquelas que possuem algum nível de resistência. (Seebold *et al.*, 2001; Rodrigues *et al.*, 2001) observaram também menor efeito do Si no controle da queima das bainhas do arroz (*Rhizoctonia solani*) em cultivares resistentes. Semelhantemente, Pozza *et al* (2004) observaram maior nível de resposta da adição do Si no solo para o controle da cercosporiose do cafeeiro (*Cercospora coffeicola*) em plantas da cultivar suscetível em relação as de Icatú que possuía certo grau de resistência.

O parasitismo de *M. exigua* afetou negativamente o desenvolvimento vegetativo do cafeeiro suscetível com redução da MSR e da MSPA. Esse efeito depressivo já foi relatado por outros autores (Macedo *et al.*, 1974; Santos *et al.*, 1981; Boneti *et al.*, 1982; Rodrigues & Crozzoli 1995; Silva *et al.*, 2006). Estes verificaram redução no crescimento das mudas da ordem de 18 a 58%, de acordo com o nível inicial de inóculo e o período de multiplicação. No entanto, vale ressaltar que neste trabalho, quando adicionou-se Si ao solo, a redução no desenvolvimento do cafeeiro foi menor, uma clara relação entre o maior desenvolvimento do sistema radicular e a menor reprodução do nematóide nas plantas supridas com esse elemento.

Diversos pesquisadores encontraram diferenças entre plantas infectadas em relação as não infectadas por nematóides do gênero *Meloidogyne*, no que se refere à absorção e translocação de macronutrientes e micronutrientes. Análises histológicas de seções finas de raízes atacadas evidenciaram desorganização, rompimento e, ou, obstrução das células do xilema no local das galhas, induzidas por *Meloidogyne* spp, o que prejudicou o transporte de água e nutrientes (Kirkpatrick *et al.*, 1991). Além disso, as raízes infectadas foram normalmente menores, apresentaram menos

ramificações secundárias e número reduzido de pelos absorventes. No presente estudo, o parasitismo de *M. exigua* causou redução na absorção de N, P, K e Ca, e na translocação para a parte aérea de N e P, o que explicaria também a redução na MSR e da MSPA. Resultado semelhante foi obtido por Santos *et al.* (1981) para o N e Ca na associação de *M. exigua* e o cafeeiro ‘Mundo Novo’. Segundo Ribeiro (2002), o cafeeiro é uma cultura muito exigente em nutrientes, com destaque para o N, essencial para a síntese de proteínas. A deficiência desse nutriente tem como consequência redução no desenvolvimento da planta e queda na produtividade. O P, por sua vez, é necessário para a síntese de ATP, um componente responsável pelo fornecimento de energia durante a respiração para o metabolismo de carboidratos. O K está envolvido no processo de abertura e fechamento dos estômatos e participa como ativador em mais de 50 reações vitais, enquanto o Ca participa na constituição da parede celular e é importante no crescimento das raízes (Franco & Mendes, 1949). Além disso, em cafeeiro, a deficiência de Ca está associada com a redução de clorofila total (Ramalho *et al.*, 1995).

Dentre os estudos realizados para verificar o efeito do parasitismo de *M. exigua* sobre o cafeeiro, este constitui-se no primeiro trabalho em que o comportamento do elemento enxofre (S) foi analisado. No entanto, o teor do mesmo, tanto no sistema radicular quanto na parte aérea, não foi alterado pelos fatores cultivar, doses de Si e a infecção por *M. exigua*, comportamento semelhante ao observado para o Mg.

Com relação aos micronutrientes, verificou-se redução na absorção apenas do elemento Zn em consequência da infecção por *M. exigua*. Por outro lado, foram afetados o teor foliar de B, Mn e Zn. O B tem envolvimento no transporte de açúcares na planta, enquanto o Mn é co-fator enzimático de enzimas necessárias ao metabolismo normal das plantas. O Zn é essencial para síntese do triptofano que é precursor do ácido indol-acético. Macedo *et al.* (1974) verificaram em cafeeiro ‘Mundo Novo’ infectado por *M. exigua*, diminuição no teor foliar de Zn de aproximadamente 400%. Entretanto, vale salientar, que a avaliação realizada por esses autores ocorreu aos 420 dias após a inoculação, ou seja, 240 dias a mais que no atual estudo. É possível que a redução desse nutriente esteja relacionada com o período de infecção do cafeeiro pelo nematóide. Na região cafeeira de Kona no Havaí verificou-se que a deficiência de Zn nos cafeeiros foi devido à infecção por *M. konaensis* (Hurchanik *et al.*, 2004). Os autores também constataram que a adição de

Zn no solo, além de elevar o teor deste elemento, aumentou a absorção de vários outros nutrientes pelas raízes do cafeeiro.

Nos tratamentos com a presença do Si, a infecção por *M. exigua* não alterou o teor de N e P tanto nas raízes de ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ quanto nas folhas. Outro fato interessante foi o aumento na absorção e translocação de Cu, Fe e Zn. Semelhantemente, Pozza *et al.* (2004) observaram o mesmo aumento quando da adição do silicato de cálcio no solo para o controle da cercosporiose do cafeeiro. Esses micronutrientes podem atuar como co-fatores na síntese de enzimas, inclusive naquelas relacionadas à resposta de defesa da planta a patógenos. (Bélanger *et al.*, 2003).

Em mudas de ‘Catuaí’, o teor de Si nas raízes foi superior a 1%. O teor de Si na raiz pode ser considerado elevado por tratar-se de uma dicotiledônea e demonstra o efeito promissor desse elemento em controlar *M. exigua* em cafeeiro. Em termos comparativos, esse valor foi semelhante ao do Ca e mais de cinco vezes superior ao teor de P, ambos macronutrientes essenciais ao cafeeiro.

Com base nos resultados, verificou-se que o Si apresentou efeito positivo no controle de *M. exigua* e na dinâmica de alguns nutrientes na planta. Assim, associada a uma adubação equilibrada é recomendado o fornecimento de Si ao cafeeiro para o manejo de *M. exigua*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARBOSA, D.H.S.G., VIEIRA, H.D., SOUZA, R.M., VIANA, A.P. & SILVA, C.P. Field estimates of coffee yield losses and damage threshold by *Meloidogyne exigua*. Nematologia Brasileira 28: 49-54. 2004.

BÉLANGER, R.R. & MENZIES, J.G. Use of silicon to control diseases in vegetable crops. In: XXXVI CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, Uberlândia, MG. Fitopatologia Brasileira 28: 42-45. 2003.

BONETI, J.I.S., FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira 6: 553. 1981. (Resumo)

BONETI, J.I.S., FERRAZ S., BRAGA, J.M. & OLIVEIRA, L.M. Influência do parasitismo de *Meloidogyne exigua* sobre a absorção de micronutrientes (Zn, Cu, Fe, Mn e B) e sobre o vigor de mudas de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira* 6: 197-207. 1982.

CAMPOS, V.P. & VILLAIN, L. Nematode parasites of coffee and cocoa. In: LUC, M., SIKORA, R.A. & BRIDGE, J. (Eds.) *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. Wallingford UK. CAB. Internacional. 2005. pp. 529-579.

CASTRO, J.M.C., CAMPOS, V.P., POZZA, E.A., NAVES, R.L., ANDRADE JUNIOR, W.C., DUTRA, M.R., COIMBRA, J.L., MAXIMINIANO, C. & SILVA, J.R.C. Levantamento de fitonematóides em cafezais do Sul de Minas Gerais. *Nematologia Brasileira* 32: 56-64. 2008.

CFSEMG - Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais. *Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5º Aproximação*. Viçosa, MG. 1999.

DAVIS, B.J.B. Disk electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Annals of the New York Academy of Sciences* 121: 404. 1964.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. *Sistema brasileiro de classificação de solos*. Brasília. 1999. 412p.

EPSTEIN, E. Silicon. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 641-664. 1999.

FRANCO, C.M. & MENDES, H.C. Sintomas de deficiências minerais no cafeeiro. *Bragantia* 9: 165-173. 1949.

HOAGLAND D.R. & ARNON, D.I (1950). The water culture method for growing plants without soils. *California Agricultural Experiment Station Circular* 347, 1-32.

HURCHANIK, D., SCHMITT, D.P., HUE, N.V. & SIPES, B.S. Plant nutrient partitioning in coffee infected with *Meloidogyne konaensis*. *Journal of Nematology* 36: 76-84. 2004.

GONÇALVES, W. & SILVAROLLA, M.B. 2001. Nematóides parasitos do cafeeiro. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) Tecnologias de produção de café com qualidade. Viçosa: Editora UFV, p.199-267.

KIRKPATRICK, T.L., OOSTERHUIS, D.M. & WULLSCHLEGER, S.D. Interaction of *Meloidogyne incognita* and water stress in two cotton cultivars. Journal Nematology 23: 462-467. 1991.

JOHNSON, C.M., ULRICH, A. Analytical methods for use in plants analyses. Los Angeles: University of California, 1959. 247p.

KORNDÖRFER, G.H., PEREIRA, H.S. & NOLA, A. Análise de silício: solo, planta e fertilizante. GPSi-ICIAG-UFU. 2004.

MACEDO, M.C.M., HAAG, H.P. & LORDELLO, L.G.E. Influência do nematóide *Meloidogyne exigua* na absorção de nutrientes em plantas jovens de cafeeiro - Resultados preliminares. Sociedade Brasileira de Nematologia 1: 54-73. 1974.

MALAVOLTA, E., VITTI, G.C., OLIVEIRA, S.A. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. 2º ed. Piracicaba: POTAFOS, 1997. 319p.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed. New York. Academic Press. 1995.

ORNSTEIN, L. Disc electrophoreses. I. Background and Theory. Annals of the New York Academy of Sciences 121: 321-349. 1964.

POZZA, A.A., ALVES, E., POZZA, E.A., CARVALHO, J.G., MONTANARI, M., GUIMARÃES, P.T.G. & SANTOS, D.M. Efeito do silício no controle da cercosporiose em três variedades de cafeeiro. Fitopatologia Brasileira 29: 185-188. 2004.

RAMALHO, J.C., REBELO, M.C., SANTOS, M.E., ANTUNES, M.L. & NUNES, M.A. 1995. Effects of calcium deficiency on *Coffea arabica*. Nutrient changes and correlation of calcium levels with some photosynthetic parameters. Plant and Soil 172: 87-96. 1995.

RIBEIRO, A.C. Nutrição do Cafeeiro. In: ZAMBOLIM, L (Ed.). O estado da arte de tecnologias na produção de café. Viçosa: Editora UFV, p.499-520. 2002.

RODRIGUES, I.F.D. & CROZZOLI, P.R. Efectos del nematodo agallador *Meloidogyne exigua* sobre el crecimiento de plantas de cafe en vivero. Nematologia Mediterranea 23: 325-328. 1995.

RODRIGUES, F.A., DATNOFF, L.E., KORNDÖRFER, G.H., SEEBOLD, K.W. & RUSH, M.C. Effect of silicon and host resistance on sheath blight development in rice. Plant Disease 85: 827-832. 2001.

SAEG - Sistema para Análises Estatísticas. Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, MG. 2007.

SANTOS, J.M., FERRAZ, S. & OLIVEIRA, L.M. 1981. Efeitos do parasitismo de *Meloidogyne exigua* sobre a absorção e translocação de nutrientes em mudas de cafeeiros. Fitopatologia Brasileira 6: 333-340. 1981.

SEEBOLD, K.W., KUCHARÉK, T.A., DATNOFF, L.E., CORREA-VICTORIA, F.J. & MARCHETTI, M.A. The influence of silicon on components of resistance to blast in susceptible, partially resistant, and resistant cultivars of rice. Phytopathology 91: 63-9. 2001.

SILVA, F.C. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. EMBRAPA. 1999.

SILVA, R.V., OLIVEIRA, R.D.L., PEREIRA, A.A. & SÊNI, D.J. Otimização da produção de inóculo de *Meloidogyne exigua* em mudas de cafeeiro. Nematologia Brasileira 30: 229-238. 2006.

SILVA, R.V., OLIVEIRA, R.D.L., PEREIRA, A.A. & SÊNI, D.J. Respostas de genótipos de *Coffea* spp. a diferentes populações de *Meloidogyne exigua*. Fitopatologia Brasileira 32: 205-212. 2007.

SIJMONS, P.C., GRUNDLER, F.M.W., VON MENDE, N., BURROWS, P.R. & WYSS, U. *Arabidopsis thaliana* as a new model host for plant-parasitic nematodes. The Plant Journal 1: 245-254. 1991.

VAAST, Ph., CASWELL-CHEN, E.P.E. & ZASOSKI, R.J. Effects of two endoparasitic nematodes (*Pratylenchus coffeae* and *Meloidogyne konaensis*) on ammonium and nitrate uptake by Arabica coffee (*Coffea arabica* L.). *Applied Soil Ecol.* 10: 171-178. 1998.

WILLIAMSON, V.M. & HUSSEY, R.S. Nematode pathogenesis and resistance in plants. *Plant Cell* 8: 1735-1745. 1996.

CAPÍTULO 4

Respostas bioquímicas de defesa de cafeeiros a *Meloidogyne exigua* potencializadas pelo silício

RESUMO

No presente estudo foi analisado o papel do Silício (Si) nas atividades das enzimas peroxidases (POX), polifenoloxidase (PFO) e fenilalanina amônia-liase (FAL), além de compostos fenólicos solúveis totais (CFST) e dos derivados da lignina-ácido tioglicólico (DLATG) em cafeeiro infectado por *Meloidogyne exigua*. Foram utilizadas uma população de *M. exigua* coletada em cafeeiro no município de Canaã, MG, e as cultivares Catuaí Vermelho IAC 44 e IAPAR 59, suscetível e resistente, respectivamente. Inocularam-se 5000 ovos de *M. exigua* por muda de cafeeiro com 3-4 pares de folhas. Aos 5 e 10 dias após a inoculação (DAI), foram avaliadas as atividades das enzimas POX, PFO e FAL, bem como a concentração de CFST e de DLATG em raízes de cafeeiro. A quantificação do número de galhas e ovos do nematóide por sistema radicular foi realizada aos 120 DAI. Não foi observada diferença significativa na concentração de CFST para as duas cultivares, independente da presença do Si e da inoculação com o nematóide. Entretanto, maior concentração de DLATG e nas atividades das enzimas foram observadas nas raízes das plantas da cultivar resistente e nas das plantas supridas com Si (suscetíveis e resistentes). Menor reprodução de *M. exigua* foi observada nas raízes da cultivar IAPAR 59, com e sem Si, e nas plantas de Catuaí supridas com Si. As elevadas atividades da POX, PFO e FAL, além de maior concentração de lignina nas raízes de plantas resistentes, e nas das plantas suscetíveis, supridas com Si, sugere que os mesmos, estão diretamente relacionados com a resistência do cafeeiro a *M. exigua*, tanto a genética quanto a potencializada pelo Si.

INTRODUÇÃO

O café constitui um dos principais produtos agrícolas do mercado internacional, sendo o complexo agroindustrial do produto, um negócio que movimentava bilhões de dólares anualmente. O Brasil detém a posição de maior produtor e exportador mundial, com participação média de 25 a 30% da oferta global de café (Conab, 2008).

Atualmente, *Meloidogyne exigua* é a espécie dos nematóides das galhas mais disseminada e com maior distribuição geográfica em áreas de cultivo de café do tipo arábica na América Latina, principalmente no Brasil (Campos & Villain, 2005). Vale ressaltar, que no Brasil predomina o cultivo do cafeeiro do tipo arábica, constituído quase que exclusivamente de cultivares suscetíveis a esse nematóide.

O uso de cultivares de cafeeiros resistentes apresenta-se como a forma mais econômica e eficiente para substituir lavouras infectadas e improdutivas. O desenvolvimento de cultivares resistentes é possível graças à variabilidade genética existente no gênero *Coffea*, a qual se encontra disponível nos centros de pesquisa do Brasil, da Colômbia, Costa Rica, Portugal, dentre outros. Em vista disso, alguns cultivares foram selecionados quanto à resistência a *M. exigua* no Brasil, com destaque para 'IAPAR 59' (Sera, 2001), Paraíso MG H 419-1 (Saraiva *et al.*, 2006) e Catiguá MG 3 (Silva *et al.*, 2007a).

Explorar a resistência isoladamente constitui-se num passo importante para manter a população do nematóide abaixo do nível de dano econômico. No entanto, o uso contínuo e por longos períodos de cultivares com um único gene de resistência, como em cafeeiro, a *M. exigua*, pode favorecer a suplantação da mesma pelo patógeno. Portanto, explorar outras estratégias que permitam minimizar ainda mais a ação do patógeno, faz com que a efetividade e a durabilidade da resistência sejam maiores. Sabe-se que é possível manejar a nutrição mineral das plantas com o objetivo de aumentar a resistência e, ou, a tolerância às doenças (Marschner, 1995). Nesse contexto, a utilização do silício (Si) pode ser uma estratégia de controle a ser explorada no manejo integrado de nematóides.

Apesar do Si não ser ainda considerado um elemento essencial às plantas, o mesmo pode, em determinadas espécies, acumular-se em quantidade superior a de alguns macronutrientes, tal como o nitrogênio, o fósforo e o potássio (Epstein, 1999). O efeito benéfico do Si é observado no desenvolvimento, na produtividade e na

maior tolerância a estresses abióticos de determinadas culturas, principalmente das famílias Poaceae, Gramineae e Cyperaceae, e também participa como potencializador da resistência das plantas às diversas doenças e pragas (Epstein, 1999; Rodrigues & Datnoff, 2005). Mesmo em dicotiledôneas, consideradas não acumuladoras, o Si mostra efeito positivo no controle de algumas doenças, tais como o oídio (*Podosphaera fuliginea*) em plantas de pepino (Fawe *et al.*, 1998) e a cercosporiose (*Cercospora coffeicola*) do cafeeiro (Pozza *et al.*, 2004), dentre outras.

O papel do Si no controle de doenças de plantas, em diversas interações planta-patógeno, ainda não foi completamente elucidado. Estudos demonstram dois principais mecanismos de resistência em plantas potencializados pelo Si. O primeiro seria a proteção física, neste caso, o ácido monossilícico deposita-se e polimeriza abaixo da cutícula, o qual dá origem a uma dupla camada cutícula-sílica (Yoshida, 1962). Essa dupla camada de cutícula funciona como uma barreira física, conferindo maior resistência à penetração dos patógenos. No segundo mecanismo, o Si potencializaria a resistência da planta. Neste caso, a resposta de defesa da planta é ativada posteriormente à invasão do patógeno e está associada com o aumento na produção de compostos fenólicos, lignina, fitoalexinas e enzimas relacionadas à defesa (Fawe *et al.*, 1998; Rodrigues *et al.*, 2005; Fauteux *et al.*, 2005).

Conforme observado no capítulo 2, o Si apresentou efeito positivo no controle de *M. exigua* em cafeeiro, além de atingir o teor nas raízes superior a 1%. No entanto, ainda não se sabe quais seriam as respostas de defesa da planta potencializadas por esse elemento. Assim, o presente estudo objetivou avaliar as possíveis respostas bioquímicas de raízes de cafeeiro a infecção por *M. exigua* potencializadas pelo silício.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido em casa-de-vegetação do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, localizada na região da Zona da Mata de Minas Gerais, com latitude 20° 45' 14" S e longitude 42° 52' 53" W. Durante o período experimental as médias das temperaturas mínimas e máximas do ar foram de 20,9 e 29,8 °C, respectivamente.

Material de Solo

Foram utilizados os primeiros 20 cm do perfil de um solo pertencente à classe Latossolo Amarelo ácrico típico (Embrapa, 1999), de textura argilosa, coletado no município de Uberlândia, Minas Gerais. Essa classe de solo foi escolhida, dentre outras características, por apresentar baixos teores estimados de Si disponível (11,8 mg/Kg), natureza ácrica e elevado índice de intemperismo, características específicas de solos deficientes em Si (Tabelas 1). As análises físicas e químicas do solo foram realizadas conforme Silva (1999).

Tabela 1. Características físicas e químicas, da camada de 0 a 20 cm superficiais do Latossolo Amarelo ácrico típico, coletado no município de Uberlândia, MG.

Análise Física														
Areia Grossa	Areia Fina		Silte			Argila			Classe Textural					
-----		-----		dag/Kg-----			-----							
34	6		7			53			Argiloso					
Análise Química														
pH	Si	P	K	Al	Ca	Mg	H+Al ⁺³	SB	t	T	V	m	M.O.	
KCl	mg/Kg	--mg.dm ⁻³ --	-----cmol _c .dm ⁻³ -----										---- % ---	dag/Kg
4,8	11,8	0,5	13	0,1	0,0	0,0	3,8	0,1	0,2	3,9	2,0	40,5	2,3	

Fonte, doses de silício e adubação das mudas de cafeeiro

Utilizou-se como fonte de silício o produto comercial Vansil W-10 (Volastonita, CaSiO₃), livre de contaminantes como o ferro e fósforo, adquirido da Empresa Ipiranga Comercial Química (São Paulo). As características químicas desse produto são: poder relativo de neutralização (PRNT) de 77%, teor total em SiO₂ de 51,9% (correspondendo a 24,2% de Si) e teor total em CaO de 43,4% (correspondendo a 31% de Ca).

As doses de Volastonita utilizadas foram 0 e 1,25 g/Kg de solo, correspondendo, respectivamente a 0 e 0,30 g Si/Kg de solo. Com a finalidade de padronizar o teor de cálcio (Ca) presente nos vasos com Volastonita na dose de 1,25 g/Kg, foram utilizados 0,967g de carbonato de cálcio (PRNT 100%, Ca 40%), nos vasos que não receberam Volastonita. Com este procedimento, os teores de cálcio oriundos da Volastonita e do carbonato de cálcio ficaram padronizados em 0,387 g/vaso. Assim, apenas o teor de Si variou entre os tratamentos. A acidez do solo foi corrigida com volastonita ou carbonato de cálcio, visando elevar a saturação de bases

(V) para 50%. Em seguida, o solo foi incubado em sacos plásticos a temperatura de 30 °C, por um período de 30 dias e a umidade foi mantida constante. Após o período de incubação, foram coletadas amostras de material de solo desses vasos para análise química.

Os solos incubados com volastonita ou carbonato de cálcio apresentaram o mesmo valor de pH (6,2) aos 30 dias após a incubação (Tabela 2).

Tabela 2. Características químicas do solo determinadas após o período de incubação com as doses de volastonita e carbonato de cálcio.

Volastonita	CaCO ₃	pH	P	K	Análise Química							V	m
					Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	SB	CTC (t)	CTC (T)		
-----g/vaso-----		H ₂ O	mg.dm ³									-- % --	
0,00	0,967	6,2	1,0	13	1,5	0,0	0,0	1,80	1,53	1,50	3,33	46	0
1,25	0,000	6,2	1,0	14	1,5	0,0	0,0	1,85	1,54	1,54	3,29	47	0

No transplântio das mudas de cafeeiro, realizou-se a adubação inicial do solo, com a adição de 3 g de superfosfato simples, 500 mg de cloreto de potássio e 220 mg de sulfato de amônia por vaso (CFSEMG, 1999). A cada 15 dias, eram aplicados 30 mL por vaso de solução nutritiva completa de Hoagland's (Hoagland & Arnon, 1950).

População de *M. exigua*

A população de *M. exigua* foi coletada em cafeeiro no município de Canaã, MG, e cultivada em mudas de cafeeiro 'Catuaí Vermelho IAC 44' por aproximadamente um ano. Foi caracterizada como raça 1 e fenótipo de esterese (EST) E1 (Rm 1,60) (Ornstein, 1964; Davis, 1964; Silva *et al.*, 2007b).

Cultivares de cafeeiro e inoculação das plantas

Foram utilizadas as cultivares Catuaí Vermelho IAC 44, doravante designada 'Catuaí', e IAPAR 59, suscetível e resistente ao nematóide, respectivamente. Para a obtenção das mudas, sementes foram colocadas para germinar em bandejas contendo areia lavada previamente esterilizada. Quando as plântulas atingiram o estágio de "palito de fósforo", as mesmas foram transplantadas para vasos plásticos de 1 L de

capacidade, contendo uma mistura do solo mais as respectivas doses volastonita ou carbonato de cálcio. Quando as mudas de cafeeiro encontravam-se no estágio de três a quatro pares de folhas completamente desenvolvidas, as mesmas foram inoculadas com 5000 ovos de *M. exigua*, extraídos segundo o método de Boneti & Ferraz (1981).

Análise da reprodução de *M. exigua*

Aos 120 dias após a inoculação, quantificou o número de galhas e ovos do nematóide por sistema radicular, nas seis plantas por tratamento. Após a contagem das galhas, as raízes foram submetidas à extração dos ovos Boneti & Ferraz (1981), a seguir, os mesmos foram quantificados em câmara de contagem de Peters, em microscópio de luz (Carl Zeiss Axio Imager A1).

Determinação da atividade de enzimas relacionadas à resposta de defesa do cafeeiro à *M. exigua*

Amostras de raízes de 1 g foram utilizadas para a determinação da atividade das enzimas peroxidases, polifenoloxidasas e fenilalanina-amônia-liases. Imediatamente após a coleta, as raízes foram lavadas em água corrente para a retirada dos resíduos de solo. As radicelas foram separadas da raiz principal e acondicionadas em pequenos envelopes de papel alumínio e imersas em nitrogênio líquido. A seguir, as mesmas foram armazenadas em freezer, a -80 °C, até análise. As raízes foram coletadas aos 5 e 10 dias após a inoculação.

Peroxidasas (POX) (EC 1.11.1.7): o extrato enzimático bruto foi obtido conforme metodologia descrita por Peixoto (1998). Foi macerado 1,0 g da amostra homogênea de raiz em N líquido dentro de almofariz de porcelana com pistilo, seguido de homogeneização com 1% (p/v) de polivinilpolipirrolidona (PVPP), em 10 mL de solução de extração constituída de ácido fenil-metil-sulfonil-fluorídrico (PMSF, 1 mM), ácido etileno diamino tetra-acético (EDTA, 0,1 mM) e tampão fosfato de potássio (100 mM), em pH 6,8. O homogeneizado foi filtrado em gaze e, então, centrifugado por 15 minutos, a 12000 g. O sobrenadante foi utilizado no teste enzimático. Todas as etapas do processo foram executadas a 4 °C. A atividade da POX nas raízes foi determinada pelo método de Kar & Mishra (1976). Aliquotas de 100 µL do sobrenadante foram adicionadas a uma mistura de reação composta de

950 µL de água destilada, 750 µL de tampão fosfato de potássio (100 mM), pH 6,8, 600 µL de pirogalol (100 mM) e 600 µL de peróxido de hidrogênio (100 mM), à temperatura de 25 °C. O início da reação ocorreu com a adição do sobrenadante à mistura de reação. As leituras do acréscimo na absorbância foram realizadas em espectrofotômetro digital (Spectrophotometer SP 2000UV – BEL Photonics), a 420 nm, a cada 10 segundos durante um minuto, totalizando seis leituras. A atividade da POX foi determinada pela medição da quantidade de purpurogalina formada durante um minuto de reação, utilizando-se, para o cálculo, o coeficiente de extinção molar de 2,47 mM⁻¹ cm⁻¹ (Chance & Maehley, 1955). Durante todas as etapas, os tubos foram envolvidos com papel alumínio e tampados.

Polifenoloxidasas (PFO) (EC 1.10.3.1): o extrato enzimático bruto foi obtido conforme metodologia descrita por Peixoto (1998). Foi macerado 1,0 g da amostra homogênea de raiz em N líquido dentro de almofariz de porcelana com pistilo, seguido de homogeneização com 1% (p/v) de PVPP em 5 mL solução de extração constituída de PMSF (1 mM), EDTA (0,1 mM) e tampão fosfato de potássio (100 mM), em pH 6,8. O homogeneizado foi filtrado em gaze e depois centrifugado por 15 minutos, a 12000 g. O sobrenadante foi utilizado no teste enzimático. Todas as etapas do processo foram executadas a 4 °C. A atividade da PFO nas raízes foi determinada conforme descrito para a POX, à exceção de utilização do peróxido de hidrogênio.

Fenilalanina-amônia-liases (FAL) (EC. 4. 3.1.5) Amostras homogêneas de 1 g de massa fresca de raízes foram maceradas em N líquido, seguida da adição de 10 mL de meio de homogeneização, filtração das amostras através de quatro camadas de gazes e de centrifugação a 7.000 g por 15 minutos (duas vezes), a 4 °C. Os sobrenadantes constituíram os extratos enzimáticos brutos utilizados na determinação das atividades das enzimas. O meio de homogeneização foi constituído de tampão borato de sódio 0,05 M, pH 8,3, β- mercaptoetanol 5,0 mM, ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) 1,0 mM e polivinilpolipirrolidona (PVPP) 3% (p/v) (Guo *et al.*, 2007; Shi-ze *et al.*, 2008).

A atividade da FAL foi determinada pela adição de 0,5 mL do extrato enzimático a 2 mL de meio de reação constituído de tampão borato de sódio 0,1 M, pH 8,8 e 1 mL L- fenilalanina 0,02 M. As amostras foram incubadas a 30 °C por uma hora e a reação foi paralisada pela adição de 0,1 mL de HCl 6 N. Nos tubos controles as amostras foram substituídas pelo tampão borato de sódio, pH 8,3. A atividade

enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de $10^4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Zucker, 1965) e o resultado foi expresso em $\text{M h}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína.

Determinação da concentração total de proteínas

Foi determinada a concentração de proteínas pelo método de Warburg & Christian, (1941) de todas as amostras utilizadas para as determinações enzimáticas diluindo-se 20 μL do sobrenadante em 980 μL de água destilada com leituras de absorbância em 260 e 280 nm.

Determinação de compostos fenólicos solúveis totais e lignina

Determinação de compostos fenólicos solúveis totais (CFST): amostras de 50 mg de raiz liofilizada foram maceradas em almofariz de porcelana com pistilo com N líquido e homogeneizada com 2,0 mL de metanol 80%. O extrato metanólico foi centrifugado por 30 minutos, a 17000 g, sendo o sobrenadante usado para determinação da concentração de CFST. O pellet foi armazenado a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ para quantificação da lignina. O método desenvolvido por Zieslin & Bem-Zaken (1993) foi usado para determinação dos CFST, com algumas modificações. Um volume de 150 μL do reagente Fenol Folin-Ciocalteau (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) (0,25 N) foi adicionado a 50 μL do extrato metanólico, misturado e mantido em temperatura ambiente por cinco minutos. Logo após, 150 μL de carbonato de sódio (1,0 M) foram adicionados à mistura, seguido de agitação e mantido em temperatura ambiente por dez minutos. A essa mistura, adicionaram-se 1,65 mL de água destilada. Após 60 minutos, foi realizada a leitura da solução de coloração azul a 725 nm em espectrofotômetro (Spectrophotometer SP 2000UV – BEL Photonics). A concentração de CFST foi expressa em mg de CFST (expressos em termos de catecol) g^{-1} de matéria fresca liofilizada (MFL). Durante todo o processo, os microtubos plásticos foram protegidos contra a luz, utilizando-se papel alumínio para minimizar a oxidação dos compostos fenólicos.

Determinação da concentração dos derivados da lignina-ácido tioglicólico (DLATG): um volume de 1,5 mL de água estéril destilada foi adicionado ao resíduo obtido após a extração dos CFST. Após a homogeneização, a mistura foi centrifugada a 17000 g, por 15 minutos, sendo descartado o sobrenadante. Essa etapa

foi repetida três vezes. Em seguida, o resíduo foi seco a 65 °C por, aproximadamente, 36 horas. O resíduo alcoólico-insolúvel seco, contendo lignina e ácidos fenólicos associados à parede celular, foi usado para determinação da concentração de lignina, de acordo com o método de Barber & Ride (1988). Um volume de 1,5 mL da solução de ácido tioglicólico (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) e HCl 2 N 1:10 foi adicionado ao resíduo seco seguido de incubação em banho-maria, a 100 °C, por quatro horas. Após esse período, os microtubos plásticos foram colocados no gelo, por dez minutos. Logo após, a solução foi centrifugada a 12000 g por 10 min e o sobrenadante foi descartado. O precipitado foi lavado com 1,5 mL de água destilada estéril e centrifugado a 12000 g por 15 min, sendo descartado o sobrenadante, enquanto o pellet foi ressuscitado em 1,5 mL de NaOH 0,5 N. Após agitação por 12 horas, em mesa agitadora a 150 rpm, à temperatura ambiente, foi realizada centrifugação a 12000 g, por 15 minutos. O sobrenadante foi transferido para um novo microtubo. Nesse, foram adicionados 200 µL de HCl concentrado e a solução mantida a 4 °C por quatro horas. A precipitação dos derivados da lignina-ácido tioglicólico foi obtida após centrifugação a 12000 g por 15 minutos, em que o sobrenadante foi descartado e o pellet dissolvido em 2 mL de NaOH 0,5 N. A leitura da absorbância foi feita em espectrofotômetro (Spectrophotometer SP 2000UV – BEL Photonics), a 290 nm. A concentração dos DLATG foi expressa em mg de DLATG kg⁻¹ de matéria fresca, utilizando-se de uma curva-padrão obtida com diferentes concentrações de lignina alcalina, éter 2-hidroxipropil (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO).

Delineamento experimental e análise estatística

Os ensaios foram instalados em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 2, com seis repetições por tratamento, para cada um dos cultivares de cafeeiro. Os fatores estudados foram: duas doses de volastonita e inoculados ou não com *M. exigua*. No ensaio da reprodução, os fatores estudados foram duas cultivares de cafeeiro e duas doses de volastonita. Cada unidade experimental foi composta de um vaso plástico contendo 1 kg de material de solo e uma planta. A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa SAEG (SAEG, 2007).

RESULTADOS

Efeito do Si na formação de galhas e produção de ovos de *M. exigua*

Houve interação significativa entre os fatores doses de Si e cultivares de cafeeiro, bem como efeito ($P \leq 0,05$) desses fatores isoladamente no número de galhas e no número de ovos.

A população de *M. exigua* induziu a formação de muitas galhas e a produção de elevada quantidade de ovos em sistema radicular de plantas da cultivar suscetível Catuaí, enquanto em plantas da cultivar resistente IAPAR 59 ocorreu a formação de poucas galhas, média de 3, e reduzido número de ovos, pouco mais de 1% do valor observado na suscetível (Tabela 3).

Tabela 3. Número de galhas (NG) e de ovos (NO) por sistema radicular de mudas de cafeeiro ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ (suscetível) e ‘IAPAR 59’ (resistente), supridas (+Si) ou não (-Si) com silício, aos 120 dias após a inoculação com *Meloidogyne exigua*

Cultivares	NG ¹		NO	
	-Si	+Si	-Si	+Si
Catuaí	149 aA	124 bA	13390 aA	9632 bA
IAPAR	4 aB	2 aB	135 aB	64 aB
CV (%)	24,23		28,56	

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula, na coluna, e minúscula, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

A adição de Si no solo não apresentou efeito na formação de galhas e produção de ovos de *M. exigua* em plantas de ‘IAPAR 59’ ($P > 0,05$). Por outro lado, a presença de Si teve efeito positivo no controle desse nematóide em raízes de plantas de ‘Catuaí’. Houve uma redução de 24,49 e 28,07% no número de galhas e de ovos, respectivamente.

Atividade de enzimas relacionadas com a defesa da planta

Houve interação significativa entre os fatores doses de Si e inoculação ou não com *M. exigua*, bem como diferença estatística ($P \leq 0,05$) para os fatores isoladamente nas atividades das três enzimas analisadas, em raízes das plantas de ‘Catuaí’ e ‘IAPAR 59’.

A atividade da POX foi sempre significativamente superior ($P \leq 0,05$) nas raízes das plantas inoculadas (PI) e supridas com Si, tanto aos 5 quanto aos 10 dias após a inoculação (DAI) com *M. exigua* e nas duas cultivares de cafeeiro (Tabela 4).

Tabela 4. Atividades de peroxidases ($\mu\text{M}/100$ mg de proteína) em raízes de mudas de cafeeiro suscetível ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ e resistente ‘IAPAR 59’, supridas (+Si) ou não (- Si) com silício, aos 5 e 10 dias após a inoculação (PI) ou não (PNI) com *Meloidogyne exigua*

Silício	5 DAI ¹				10 DAI			
	Catuaí		IAPAR		Catuaí		IAPAR	
	PNI	PI	PNI	PI	PNI	PI	PNI	PI
- Si	36,5 bB	46,1 aB	44,9 bB	79,1 aB	38,3 bB	47,4 aB	45,6 bB	77,4 aB
+ Si	40,3 bA	54,8 aA	66,9 bA	100,2 aA	41,1 bA	66,3 aA	64,5 bA	101,6 aA

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAI = dias após a inoculação.

Ao considerar as duas épocas de avaliação, o acréscimo de atividade da POX nas PI em relação às PNI em raízes de mudas de Catuaí foi de 48,77 e 20,18%, nas plantas supridas ou não com Si, respectivamente. Em raízes de plantas de ‘IAPAR 59’, esse acréscimo na atividade da POX nas PI foi de 72,93 e 38,69% nas plantas supridas ou não com Si, respectivamente.

O comportamento da PFO foi um pouco diferente do observado para a POX (Tabela 5). Nas raízes de ‘Catuaí’ não houve diferença significativa na atividade dessa enzima entre PNI, supridas ou não com Si, aos 5 DAI. No entanto, as PI diferiram das PNI, independente da presença do Si, mas as plantas supridas com Si apresentaram maiores atividades. Em raízes de plantas da cultivar IAPAR, as PI e supridas com Si sempre apresentaram maiores níveis de atividades. Apesar de não terem sido realizadas comparações entre época, aos 10 DAI, os valores de atividade da PFO foram superiores ao observado, aos 5 DAI (Tabela 5).

Tabela 5. Atividade de polifenoloxidasas ($\mu\text{M}/100\text{ mg}$ de Proteína) em raízes de mudas de cafeeiro suscetível ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ e resistente ‘IAPAR 59’, aos 5 e 10 dias após a inoculação (PI) ou não (PNI) com *Meloidogyne exigua* e supridas (+Si) ou não (- Si) com silício

Silício	5 DAI ¹				10 DAI			
	Catuaí		IAPAR		Catuaí		IAPAR	
	PNI	PI	PNI	PI	PNI	PI	PNI	PI
- Si	3,7 bA	6,3 aB	7,2 bA	14,1 aB	9,5 bB	14,4 aB	10,6 bB	18,7 aB
+ Si	4,5 bA	8,8 aA	9,4 bA	23,7 aA	11,9 bA	22,3 aA	19,5 bA	29,2 aA

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAI = dias após a inoculação.

Dentre as enzimas analisadas, a FAL foi a que apresentou maior atividade em raízes de cafeeiro. As PI sempre apresentaram as maiores atividades para essa enzima, independente da presença do Si, da época de avaliação e da cultivar de cafeeiro. Em raízes de ‘Catuaí’ e IAPAR 59, houve um aumento significativo na atividade da FAL na presença do Si, aos 5 e 10 DAI (Tabela 6). Em geral, as raízes das plantas supridas com Si, também exibiram maiores atividades da FAL.

Tabela 6. Atividade de fenilalanina amônia-liases ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de proteína) em raízes de mudas de cafeeiro suscetível ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ e resistente ‘IAPAR 59’, aos 5 e 10 dias após a inoculação (PI) ou não (PNI) com *Meloidogyne exigua* e supridas (+Si) ou não (- Si) com silício

Silício	5 DAI ¹				10 DAI			
	Catuaí		IAPAR		Catuaí		IAPAR	
	PNI	PI	PNI	PI	PNI	PI	PNI	PI
- Si	1,71 bB	2,63 aB	2,07 bB	2,81 aB	1,95 bB	2,33 aB	1,95 bB	2,13 aB
+ Si	2,12 bA	3,24 aA	2,71 bA	3,88 aA	2,06 bA	2,95 aA	2,19 bA	3,47 aA

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. DAI = dias após a inoculação.

Concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFST)

Não houve interação significativa entre os fatores doses de Si e inoculação ou não com *M. exigua*, nem diferença estatística ($P \leq 0,05$) para os fatores isoladamente em raízes de plantas de ‘Catuaí’ e ‘IAPAR 59’.

Foi observada elevada concentração de CFST nas raízes das duas cultivares de cafeeiro na ordem de mais de 20 mg/kg de matéria fresca liofilizada, o que representa cerca de 2% da massa total (Tabela 7). Apesar de não ter sido realizada a comparação entre cultivares, raízes de plantas resistentes (‘IAPAR 59’) apresentaram a tendência de maior concentração, em média 5,3% a mais do que as de plantas suscetíveis (‘Catuaí’).

Tabela 7. Concentração dos compostos fenólicos solúveis totais (mg/g de MFL) em raízes de mudas de cafeeiro suscetível ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ e resistente ‘IAPAR 59’, supridas (+Si) ou não (- Si) com silício, aos 10 dias após a inoculação (PI) ou não (PNI) com *Meloidogyne exigua*

Fatores	Catuaí	IAPAR
Inoculação		
PI	20,37	21,14
PNI	20,66	21,29
Valor de T	0,60 ^{ns}	0,42 ^{ns}
Silício		
-Si	20,52	21,06
+Si	20,61	21,35
Valor de T	0,14 ^{ns}	0,36 ^{ns}
CV (%)	3,87	4,43

CV: coeficiente de variação. ^{ns} = não significativo.

Concentração dos derivados da lignina-ácido tioglicólico (DLATG)

Houve interação significativa entre os fatores doses de Si e inoculação ou não com *M. exigua*, bem como diferença estatística ($P \leq 0,05$) para os fatores em raízes das plantas de ‘Catuaí’ e ‘IAPAR 59’.

Nas raízes das plantas da cultivar suscetível, não supridas com Si, não houve diferença significativa entre os tratamentos ($P \leq 0,05$) na concentração de DLATG entre as PI e não inoculadas PNI com *M. exigua*, aos 5 DAI. Entretanto, nas raízes das plantas supridas com Si, a concentração de DLATG foi sempre maior nas PI. Já

nas raízes da cultivar resistente, foi observada diferença significativa ($P \leq 0,05$) na concentração de DLATG entre PI e PNI, nas plantas supridas ou não com Si, sendo as maiores concentrações encontradas nas PI supridas com Si (Tabela 8).

Tabela 8. Concentração de derivados da lignina-ácido tioglicólico (mg/g de MFL) em raízes de mudas de cafeeiro suscetível ‘Catuaí Vermelho IAC 44’ e resistente ‘IAPAR 59’, supridas (+Si) ou não (- Si) com silício, aos 10 dias após a inoculação (PI) ou não (PNI) com *Meloidogyne exigua*

Silício	Catuaí ¹		IAPAR 59	
	PNI	PI	PNI	PI
- Si	35,37 aB	37,13 aB	41,50 bA	45,53 aB
+ Si	40,46 bA	45,11 aA	43,98 bA	54,03 aA

¹Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna, e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

DISCUSSÃO

O interesse em estudar o papel do Si nas interações planta-patógeno em espécies de dicotiledôneas surgiu dos resultados positivos proporcionados pela adição desse elemento no solo para o controle de diversas doenças em monocotiledôneas, especialmente na cultura do arroz (Rodrigues & Datnoff, 2005). No Brasil, os estudos intensificaram-se a partir de 2004 com a aprovação do decreto-Lei nº 4.954, que inclui o Si na legislação de fertilizantes, que regulamenta a comercialização e a utilização desse elemento na agricultura (MAPA, 2004).

O presente estudo confirmou o efeito positivo do Si no controle de *M. exigua* em cafeeiros suscetíveis da cultivar Catuaí Vermelho IAC 44. Essa característica foi evidenciada na diminuição do número de galhas e de ovos por sistema radicular. Dutra *et al.*, 2004 observaram em estudo preliminar, sob condição de campo, que a adição de silicato de cálcio no solo contribuiu para a redução da reprodução de *M. exigua* em cafeeiro. Entretanto, os autores não quantificaram a população inicial do nematóide e também não determinaram as características físico-químicas e os teores de Si e cálcio no solo.

Em plantas da cultivar IAPAR 59, a ausência do efeito desse elemento deve-se, principalmente, ao elevado nível de resistência exibido por esse genótipo, que

permitiu a produção de menos de 1% de ovos em relação às plantas da cultivar ‘Catuaí’. No entanto, mesmo quando for utilizar cultivares resistentes para o controle desse patógeno, seria interessante a adição do Si no solo. Esta recomendação justifica-se pelo fato da resistência do cafeeiro a *M. exigua* ser conferida por um maior gene dominante, denominado de *Mex-1* (Noir *et al.*, 2003). Este tipo de resistência, teoricamente seria mais fácil de ser suplantada pela variabilidade do patógeno, principalmente no caso do cafeeiro, uma espécie perene, que permite várias gerações do nematóide ao longo do ano. Vem corroborar com essa premissa, o fato de recentemente ser detectada no Estado do Rio de Janeiro, uma população de *M. exigua* capaz de se reproduzir na cultivar resistente IAPAR 59 (Muniz *et al.*, 2008). Portanto, explorar outras estratégias que permitam minimizar ainda mais a ação do patógeno, como o fornecimento de Si ao cafeeiro, faz com que a efetividade e durabilidade da resistência sejam maiores.

A interação planta-patógeno envolve mecanismos bioquímicos onde os genes de defesa são ativados, resultando na síntese de novos compostos e no aumento na atividade de determinadas enzimas, fundamentais para a defesa da planta. Os mecanismos bioquímicos e fisiológicos de resistência do cafeeiro às principais doenças são praticamente desconhecidos e, no caso dos nematóides, os trabalhos são ainda mais raros.

Nesse estudo, os valores da atividade de peroxidases foram elevados nas duas épocas de avaliação e praticamente não houve diferença nas mesmas aos 5 e 10 dias após a inoculação com *M. exigua*. Estudos envolvendo nematóides em outros patossistemas, também relatam que os maiores níveis de atividade para a POX ocorrem nesse período em cultivares resistentes (Melillo *et al.*, 1992; Amalraj, 1995). Em linhas gerais, em raízes das plantas resistentes e supridas com Si, onde o número de galhas e de ovos do nematóide foi reduzido, constatou-se elevada atividade da POX. As peroxidases são glicoproteínas capazes de catalisar diversas reações, como aquelas que levam à síntese de lignina e suberina, que conferem rigidez a parede celular, o que dificulta a penetração de alguns patógenos. Além disso, elas são responsáveis também pela produção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e de quinonas, que são substâncias tóxicas aos microrganismos (Goodman *et al.*, 1986). Zacheo *et al.* (1995) ao estudarem a interação incompatível envolvendo tomateiro resistente e *M. incognita*, verificaram correlação positiva entre a atividade da POX e a resposta de hipersensibilidade (HR) e o nível de lignina. A cultivar IAPAR 59,

utilizada no presente estudo apresenta HR como um dos principais mecanismos de resistência a *M. exigua*, o que explicaria o alto nível da POX encontrado nessa cultivar, principalmente nas plantas inoculadas. Em relação à fertilização com o Si, foi verificado também em plantas de pepino, significativo aumento na síntese das enzimas POX, PFO e FAL após a inoculação das plantas com *Podosphaera xanthii* (Liang *et al.*, 2005).

O comportamento da PFO e da FAL foi semelhante ao observado para a POX, ou seja, a cultivar resistente e as plantas supridas com Si exibiram maior atividade dessas enzimas. As PFO oxidam uma ampla gama de substâncias fenólicas sem a necessidade de H₂O₂, além disso, estão envolvidas na rota biossintética dos fenilpropanóides e têm a capacidade de produzir quinonas, por meio da oxidação de fenóis. A FAL constitui-se na principal enzima no metabolismo dos fenilpropanóides, que catalisa a desaminação do aminoácido L-fenilalanina, com a formação do ácido trans-cinâmico, o qual é precursor de uma ampla gama de compostos fenólicos, sendo a lignina o principal produto. De maneira semelhante à POX, a PFO e a FAL apresentaram maiores atividades nas raízes das plantas da cultivar suscetível supridas com o Si. Estas enzimas encontram-se presentes em níveis elevados durante a reação de HR e também no fenômeno de resistência sistêmica, o que sugere a participação do Si como um potencializador de resistência do cafeeiro a *M. exigua*. Comportamento semelhante ao observado para a quitosana na interação *M. incognita*-tomateiro, onde essa substância provocou redução na reprodução do nematóide e aumento na atividade da FAL (Vasyukova *et al.*, 2007)

Alguns compostos fenólicos, tais como o ácido clorogênico e o ácido cafeico estão envolvidos na resposta de defesa das plantas contra infecções por nematóides (Hung & Rohde, 1973; Giebel, 1982). Entretanto, no presente estudo não foi verificada relação dos compostos fenólicos solúveis totais com o nível de resistência genética ou potencializada pelo Si. O mesmo foi observado por Mazzafera *et al.* (1989), ao estudar a associação entre *M. incognita* e os cafeeiros ‘Mundo Novo’ e ‘Apoatã IAC 2258’, suscetível e resistente, respectivamente. Porém, a não detecção de diferença estatística no presente trabalho, não descarta a participação dos compostos fenólicos na resistência do cafeeiro à *M. exigua*. O cafeeiro possui elevado teor de compostos fenólicos em seus tecidos, como observado aqui e em outros trabalhos. Recentemente, Ramiro *et al.* (2007) encontraram a concentração média de fenóis em folhas de cafeeiro de 5,3% da massa da matéria fresca. Portanto,

pequenas alterações na produção de um ou mais compostos, poderia acrescentar pouco no total de fenóis. Assim, a separação e quantificação de substâncias fenólicas individualmente pelo uso da HPLC poderiam ser úteis para melhor compreender esses resultados aqui obtidos. Por meio deste equipamento, foi constatado que a quantidade de ácido clorogênico em raízes de pimentão (*Capsicum annuum*) cv. Doux Long des Landes (suscetível), inoculada com *M. arenaria*, foi apenas 20% superior a das raízes das plantas não inoculadas (Pegard *et al.*, 2005). Entretanto, na cv. resistente CM 334, a quantidade de ácido clorogênico foi 59 vezes maior em raízes infectadas do que nas raízes de plantas saudáveis. Outra possível explicação para ausência de incremento na concentração de CFST, e a mais provável, seria a rápida oxidação desses compostos promovidos pelas enzimas oxidativas POX e PFO na rota dos fenilpropanóides, culminando numa maior produção de lignina.

A lignina consiste de um complexo de polímeros de fenilpropanóides, oriundos da polimerização oxidativa (Campbell & Sederoff, 1996). O papel da lignina na parede das células das plantas é aumentar a rigidez e conferir resistência à penetração de patógenos. A maior concentração dos derivados da lignina-ácido tioglicólico (DLATG) em raízes das plantas inoculadas, independente da presença do Si foi, provavelmente, devido aos ferimentos provocados pelos juvenis de segundo estágio de *M. exigua* durante o processo de penetração. Tanto nas raízes das plantas resistentes ou suscetíveis à *M. exigua* supridas com Si, onde a reprodução do nematóide foi menor, houve um aumento significativo na concentração de DLATG. Isso sugere a participação desse polímero na resistência do cafeeiro à *M. exigua*. Nas raízes das plantas supridas com Si foi encontrado, em média, 18,1 e 12,6% de DLATG, em ‘Catuaí’ e ‘IAPAR 59’, respectivamente. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Botelho *et al.* (2005). Esses autores avaliaram o efeito da adição do Si no solo para o controle de *Cercospora coffeicola*, agente causal da cercosporiose do cafeeiro, e observaram que a redução na severidade da doença estava associada ao aumento no teor de lignina em folhas de cafeeiro infectadas pelo patógeno e supridas com Si.

As elevadas atividades da POX, PFO e FAL, além de maior concentração de lignina nas raízes de plantas resistentes e suscetíveis, supridas com Si, sugere que esses mecanismos de defesa estão diretamente relacionados com a resistência do cafeeiro a *M. exigua*, tanto geneticamente quanto potencializadas pelo elemento Si.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMALRAJ, S.F.A. Enzyme activity associated with resistance in potato to the early stages of *Globodera pallida* infection. *Nematologia Mediterranea* 23: 199-202. 1995.

BARBER M.S. & RIDE J.P. A quantitative assay for induced lignification in wounded wheat leaves and its use to survey potential elicitors of the response. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 32: 185-97. 1988.

BONETI, J.I.S. & FERRAZ, S. Modificação do método de HUSSEY & BARKER para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira* 6: 553. 1981. (Resumo)

BOTELHO, D.M.S., POZZA, E.A., POZZA, A.A.A., CARVALHO, J.G., BOTELHO, C.E. & SOUZA, P.E. Intensidade da cercosporiose em mudas de cafeeiro em função de fontes e doses de silício. *Fitopatologia Brasileira* 30: 582-588. 2005.

CAMPOS, V.P. & VILLAIN, L. Nematode parasites of coffee and cocoa. In: LUC, M., SIKORA, R. A. & BRIDGE, J. (Eds.) *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. Wallingford UK. CAB. Internacional. 2005. pp. 529-579.

CFSEMG - Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais. *Recomendações para o uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5º Aproximação*. Viçosa, MG. 1999.

CHANCE, B. & MAEHLEY, A.C. Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology* 2: 764-75. 1955.

CONAB: Convênio Ministério da Agricultura – Secretaria da produção e comercialização da safra brasileira de café 2008. Disponível na Internet via WWW. URL: <http://www.conab.gov.br>. Última atualização em 30 de dezembro de 2008.

DAVIS, B.J.B. Disk electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Annals of the New York Academy of Sciences* 121: 404. 1964.

DUANGMAL, K. & APENTEN, R.K.O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. romano). Food Chemistry 4: 351-359. 1999.

DUTRA, M.R., GARCIA, A.L.A., PAIVA, B.R.T.L., SILVA, R.V.B. & CAMPOS, V.P. Controle do nematóide *Meloidogyne exigua* em cafeeiro com produtos alternativos no município de Varginha-MG. Fitopatologia Brasileira 29: 174. 2004. (Resumo)

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. Sistema brasileiro de classificação de solos. Brasília. 1999. 412p.

EPSTEIN, E. Silicon. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 50: 641-664. 1999.

FAUTEUX, F., REMUS-BOREL, W., MENZIES, J.G. & BÉLANGER, R.R. Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. FEMS Microbiology Letters 249: 1-6. 2005.

FAWE, A., ABOU-ZAID, M., MENZIES, J.G. & BÉLANGER, R.R. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. Phytopathology 88: 396-401. 1998.

GIEBEL, J. Mechanism of resistance to plant nematodes. Annual Review Phytopathology. 20: 257-279. 1982.

GOODMAN, R.N., KIRALY, Z. & WOOD, K.R. Secondary metabolite. In: GOODMAN, R.N. (Ed.). The biochemistry and physiology of plant disease. Missouri: University of Missouri, 1986. pp.211-224.

GUO, Y., LIU, L., BI, Y. Use of silicon oxide and sodium silicate for controlling *Trichothecium roseum* postharvest rot in Chine cantaloupe (*Cucumis melo* L.). International Journal of Food Science and Technology 42: 1012-1018. 2007.

HOAGLAND D.R. & ARNON, D.I. The water culture method for growing plants without soils. California Agricultural Experiment Station Circular 347, 1-32. 1950.

HUNG, C. & ROHDE, R.A. Phenol accumulation related to resistance in tomato to infection by root-knot and lesion nematodes. *Journal of Nematology* 5: 253-257. 1973.

LIANG, Y.C., SUN, W.C., SI, J. & RÖMHELD V. Effects of foliar and root applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus*. *Plant Pathology* 54: 678-85. 2005.

MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. BRASIL Decreto nº 4954. Aprova o regulamento da lei 6894 de 16 de janeiro de 1980, que dispõe sobre a inspeção e fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes ou biofertilizantes destinados à agricultura, e dá outras providências. Normas Jurídicas (Texto Integral) - DEC 004954, 14 janeiro, 2004, 27 p.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed. New York. Academic Press. 1995.

MAZZAFERA, P., GONÇALVES, W. & FERNANDES, J.A.R. Fenóis, peroxidase e polifenoloxidase na resistência do cafeeiro a *Meloidogyne incognita*. *Bragantia* 48: 131-142. 1989.

MELILLO, M.T., BLEVE-ZACHEO, T. & ZACHEO, G. Role of peroxidases and esterase isoenzymes in pea root infected with *Heterodera goettingiana*. *Nematologia Mediterranea* 20: 171-179. 1992.

MUNIZ, M.F.S., CAMPOS, V.P., CASTAGNONE-SERENO P., CASTRO, J.M.C., ALMEIDA, M.R.A. & CARNEIRO, R.M.D.G. Diversity of *Meloidogyne exigua* (Tylenchida: Meloidogynidae) populations from coffee and rubber tree. *Nematology* 10: 897-910. 2008.

NOIR, S., ANTHONY, F., BERTRAND, B., COMBES, M.C., LASHERMES P. 2003. Identification of a major gene (*Mex-1*) from *Coffea canephora* conferring resistance to *Meloidogyne exigua* in *Coffea arabica*. *Plant Pathology* 52: 97-103.

ORNSTEIN, L. Disc electrophoresis. I. Background and Theory. *Annals of the New York Academy of Sciences* 121: 321-349. 1964.

PEGARD, A., BRIZZARD, G., FAZARI, A., SOUCAZE, O., ABAD, P. & DJIAN-CAPORALINO, C. Histological characterization of resistance to different root-knot nematode species related to phenolics accumulation in *Capsicum annuum*. *Phytopathology* 95: 158-165. 2005.

PEIXOTO, P.H.P. Peroxidação de lipídios em membranas e tecidos de dois cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) com tolerância diferencial ao alumínio. Tese de Doutorado. Viçosa MG. Universidade Federal de Viçosa. 1998.

POZZA, A.A., ALVES, E., POZZA, E.A., CARVALHO, J.G., MONTANARI, M., GUIMARÃES, P.T.G. & SANTOS, D.M. Efeito do silício no controle da cercosporiose em três variedades de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira* 29: 185-188. 2004.

RAMIRO, D.A., GUERREIRO-FILHO, O. & MAZZAFERA, P. phenol contents, oxidase activities, and the resistance of coffee to the leaf miner *Leucoptera coffeella*. *Journal of Chemical Ecology* 32: 1977-1988. 2006.

RODRIGUES, F.A. & DATNOFF, L.E. Silicon and rice disease management. *Fitopatologia Brasileira* 30: 457-469. 2005.

SAEG - Sistema para Análises Estatísticas. Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, MG. 2007.

SERA, T. Coffee genetic breeding at IAPAR 59. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 1: 179-99. 2001.

SHI-ZE, Z., FAN, Z. & BAO-ZHEN, H. Enhancement of phenylalanine ammonia lyase, polyphenoloxidase, and peroxidase in cucumber seedlings by *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae) infestation. *Agricultural Sciences in China* 7: 82-87. 2008.

SILVA, F.C. Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes. EMBRAPA. 1999.

SILVA, R.V., SARAIVA, C.D., OLIVEIRA, R.D.L., PEREIRA, A.A. & FERREIRA, P. S. Reação de progênies de cafeeiro da cultivar Catiguá MG 3 a

quatro populações de *Meloidogyne exigua*. In: V SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL. 2007a.

SILVA, R.V., OLIVEIRA, R.D.L., PEREIRA, A.A. & SÊNI, D.J. Respostas de genótipos de *Coffea* spp. a diferentes populações de *Meloidogyne exigua*. Fitopatologia Brasileira 32: 205-212. 2007b.

ZIESLIN, N. & BEN-ZAKEN, R. Peroxidase activity and presence of phenolic substances in peduncles of rose flowers. Plant Physiology and Biochemistry 31: 333-339. 1993.

ZUCKER, M. Induction of phenylalanina deaminase by light and its relation to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue. Plant Physiology 40: 779-784. 1965.

VASYUKOVA, N.I., PRIDVOROVA, S.M., GERASIMOVA, N.G., CHALENKO, G.I., OZERETSKOVSKAYA, ZH., UDALOVA V. & ZINOV'EVA S.V. The involvement of phenylalanine ammonia-lyase and salicylic acid in the induction of resistance of tomato plants infested with gall nematode *Meloidogyne incognita*. Doklady Biological Sciences 416: 382-385. 2007.

WARBURG, O. & CHRISTIAN, W. Isohering und kristallisation des gōrungs ferments enolase. Biochemistry Zoology 310: 384-421. 1941.

YOSHIDA, S., OHINISHI, Y. & KITAGISHI, K. Chemical forms, mobility, and deposition of silicon in the rice plant. Japanese Journal of Soil Science and Plant Nutrition 8: 107-111. 1962.

CONCLUSÕES GERAIS

A resistência do cafeeiro a *M. exigua* não é devida apenas a resposta de hipersensibilidade (HR), como sugerida em estudos anteriores, mas existe um conjunto de respostas de defesa, tanto constitutivas quanto induzidas após a penetração do nematóide que inibe a formação do sítio de alimentação, provoca a emigração dos J2 e atrasa ou inibe o desenvolvimento e a reprodução do nematóide. Além disso, a resposta de planta não hospedeira difere da planta resistente, uma vez que na primeira não foram observadas evidências de HR.

Foram demonstradas as primeiras evidências científicas do efeito positivo do Si em cafeeiro, tanto no desenvolvimento da planta quanto no controle de *M. exigua*. O teor de Si atingiu níveis superiores a 1% da matéria seca em raízes de cafeeiro da cultivar Catuaí Vermelho IAC 44. Esse teor de Si na raiz foi considerado alto por tratar-se de uma dicotiledônea e demonstra o efeito promissor desse elemento num sistema de manejo de *M. exigua* em cafeeiro.

Verificou-se que o Si apresentou efeito benéfico na absorção e na translocação dos nutrientes N, P, Cu, Fe e Zn, o que proporcionou maior tolerância do cafeeiro à infecção por *M. exigua*.

Pelas elevadas atividades da POX, PFO e FAL, além de maior concentração de lignina nas raízes de plantas resistentes e suscetíveis, supridas com Si, acredita-se que esses mecanismos de defesa estão diretamente relacionados com a resistência do cafeeiro a *M. exigua*, tanto geneticamente quanto potencializados pelo elemento Si.

O fornecimento de Si ao cafeeiro associado a uma adubação equilibrada poderá tornar o manejo de *M. exigua* mais eficiente.