

EFEITO DO ÁCIDO SILÍCICO EM ASPECTOS FISIOLÓGICOS E ANATÔMICOS DE MUDAS DE CAFEIEIRO INOCULADAS COM *Cercospora coffeicola*

Deila Magna dos Santos Botelho¹; Edson Ampélio Pozza²; Antônio Eduardo Furtini Neto³; Daniel de Melo Castro⁴; João Paulo Rodrigues Alves Delfino Barbosa⁵; Walter Marchiori Júnior⁶

¹ Dr. Fitopatologia- Bolsista CBP&D/Café-UFLA, deilamagna@hotmail.com

² Prof. Adjunto- Departamento de Fitopatologia-UFLA, epozza@ufla.br

³ Prof. - Departamento de Ciência do Solo, afurtini@ufla.br

⁴ Prof. Departamento de Biologia-UFLA, danielmec@hotmail.com

⁵ Dr. Fisiologia Vegetal-UFLA, delfinojp@gmail.com

⁶ Graduando curso Biologia-UNILAVRAS, marchiori@hotmail.com,

RESUMO: O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da adição de ácido silícico ao solo em características fisiológicas e anatômicas de mudas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) inoculadas com *Cercospora coffeicola*. Foram aplicadas seis doses de ácido silícico no solo (0; 0,5; 1; 2; 4 e 6 g kg⁻¹), utilizando como delineamento experimental blocos casualizados com quatro repetições. A parcela experimental foi constituída por 12 mudas de cafeeiro cultivar Catuaí Vermelho IAC 99. Com três pares de folhas definitivos, as mudas foram inoculadas com o fungo *C. coffeicola*. Foram quantificados os teores de clorofila *a*, clorofila *b*, carotenóides, além do acúmulo de lignina em cada dose de ácido silícico. Foram realizados cortes transversais no caule para medição da espessura da epiderme, do câmbio vascular, do xilema, do floema e do parênquima esponjoso. Na maior dose de ácido silícico (6,0 g kg⁻¹ de solo) e na menor (0 g kg⁻¹ de solo), foi avaliada a fotossíntese potencial, em folhas saudáveis e com sintomas da cercosporiose. O conteúdo da clorofila *a*, *b*, carotenóides e lignina não foi influenciado pelas doses crescentes de ácido silícico aplicadas no solo. A maior dose de ácido silícico (6 g kg⁻¹ de solo) em folhas saudáveis apresentou a menor fotossíntese potencial. A adição de doses de ácido silícico ao solo de cultivo de mudas de cafeeiro não alterou as características anatômicas do caule.

Palavras-chave: silício, cercosporiose, fotossíntese potencial; clorofila

EFFECT OF SILICIC ACID ON THE PHYSIOLOGICAL AND ANATOMICAL CHARACTERISTICS OF COFFEE SEEDLINGS INOCULATED WITH *Cercospora coffeicola*.

ABSTRACT: The work aimed to evaluate the effect of soil amendments of silicic acid on physiological and anatomical characteristics of coffee seedlings (*Coffea arabica* L.) inoculated with *Cercospora coffeicola*. Six doses were studied (0; 0.5, 1, 2, 4 and 6 g kg⁻¹ of soil) using a complete randomized experimental design with block with four replicates. The experimental unit was composed by 12 seedlings of the cultivar Catuaí Vermelho IAC 99. When the seedlings completed three fully expanded pair of leaves the *C. coffeicola* was inoculated. The contents of chlorophyll *a*, *b*, carotenoids and lignin buildups were quantified for each silicic acid dose. Transversal stem cuts from coffee seedlings submitted to different treatments were obtained and assessed for epidermal, cambium, xylem, phloem and spongy parenchyma widths. For the higher (6,0 g kg⁻¹ of soil) and lower (0 g kg⁻¹ of soil) silicic acid dose, the maximum photosynthesis was assessed, in healthy and brown-eye spot symptomatic leaves. Chlorophyll *a*, *b*, carotenoid and lignin were not influenced by the increasing silicic acid amendment to the soil. The higher silicic acid dose (6 g kg⁻¹ of soil) in healthy leaves displayed the lower maximum photosynthesis. None modifications were observed in the stem anatomy of the studied coffee seedlings.

Key-words: silicon, brown eye spot, maximum photosynthesis, chlorophyll.

INTRODUÇÃO

A cafeicultura é uma importante atividade para nosso país, sendo o café o segundo produto na pauta das exportações agrícolas, constituindo-se em uma das mais importantes fontes de renda para a economia brasileira (Guimarães et al., 2006). Opções de manejo acessíveis que possam reduzir a intensidade de pragas e doenças e também melhorar características agrônomicas da cultura são importantes para a redução no custo de produção e do aumento de produtividade.

O silício é um elemento classificado como benéfico ou útil para plantas (Marschner, 1995) e, de acordo com Epstein (1999), plantas em ambiente enriquecido com silício diferem das cultivadas na deficiência do elemento, principalmente quanto à composição química, à resistência mecânica das células, às características de superfície foliar, à tolerância ao estresse abiótico e à ocorrência de pragas e doenças.

Adatia & Besford (1986) observaram que a adição de silicato de potássio em solução nutritiva proporcionou aumento de aproximadamente 50% na clorofila total (clorofila *a+b*), além de maior matéria seca em plantas de pepino.

Mudas de cafeeiro cultivadas em substrato com 1 g de silicato de cálcio apresentaram camada de cera epicuticular bem desenvolvida, observada com uso de microscopia eletrônica de varredura (Pozza et al., 2004).

Além dos benefícios descritos, alguns autores atribuem a adição de fontes de silício ao substrato de plantio ao maior conteúdo de lignina encontrado tanto em mudas de cafeeiro (Amaral, 2005; Botelho, 2005) como em plantas de soja (Lima, 2006). De acordo com Raven (1983), a adubação com fontes de silício tem, como benefício para as plantas, a melhoria na interceptação da luz solar, aumentando, dessa forma, a fotossíntese, devido à melhor arquitetura das plantas adubadas com silício. No entanto, Korndörfer & Pereira (2006) citam a possibilidade dos sintomas do declínio do citrus ser resultado da acumulação e polimerização de Si ao longo dos anos, tendo com consequência a obstrução do sistema vascular de plantas de citrus.

Com base nessas informações, esse trabalho teve por objetivos: verificar o efeito de doses de ácido silícico e conteúdo de clorofila *a* e *b* e carotenóides, lignina, em mudas de cafeeiro cultivar Catuaí Vermelho IAC 99 inoculadas com *C. coffeicola*; comparar a fotossíntese potencial de mudas de cafeeiro cultivadas na maior dose de ácido silícico (6 g kg⁻¹) e na menor (0 g kg⁻¹), em folhas sadias e com sintomas da cercosporiose; realizar cortes transversais em caules de mudas de cafeeiro cultivadas em diferentes doses de ácido silícico e fazer medições da espessura da epiderme, câmbio vascular, xilema, floema e parênquima esponjoso.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido em casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia (DFP), na Universidade Federal de Lavras (UFLA), no período de setembro de 2005 a maio de 2006.

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados com 4 repetições. Foram aplicadas ao solo 6 doses de ácido silícico (Carlo Erba®): 0; 0,5; 1; 2; 4 e 6 g kg⁻¹ de solo. A parcela experimental foi constituída por 12 plantas.

Sementes de cafeeiro cultivar Catuaí Vermelho IAC 99 foram colocadas para germinar em bandejas de plástico com areia autoclavada e diariamente irrigadas até atingirem o estágio orelha-de-onça. Posteriormente, foram repicadas para sacos de polietileno (15 x 20cm) contendo Latossolo Vermelho Escuro com 13,6 mg dm⁻³ de Si. Então, foram adicionadas ao solo doses de ácido silícico: 0; 0,5; 1, 2, 4 e 6 g do produto por quilo de solo. O solo foi irrigado com água destilada até atingir a capacidade de campo e permaneceu reagindo por 20 dias. Após o período de incubação, os teores de Si no solo foram novamente quantificados. O solo apresentou os teores de 32,9; 38,1; 70,7; 94,9 e 117,8 mg dm⁻³ de Si para as doses de 0,5; 1, 2, 4 e 6 g de ácido silícico por quilo de solo, respectivamente.

Foi realizada adubação com: 300 mg.dm⁻³ de nitrogênio (N), 300 mg.dm⁻³ de potássio (K), 200 mg.dm⁻³ de fósforo (P), 30 mg.dm⁻³ de magnésio (Mg), 50 mg.dm⁻³ de enxofre (S), 0,5 mg.dm⁻³ de boro (B), 1,5 mg.dm⁻³ de cobre (Cu), 3,0 mg.dm⁻³ de manganês (Mn), 0,1 mg.dm⁻³ de molibdênio (Mo) e 5,0 mg.dm⁻³ de zinco (Zn).

O cálculo da necessidade de calagem (NC) baseou-se na análise química prévia (Tabela 1), visando atingir saturação por base de 50%, conforme Comissão de Fertilidade do Solo do Estado de Minas Gerais (CFSEMG, 1999).

Durante todo período de condução do experimento, a irrigação das mudas foi realizada somente com água destilada, visando evitar adição de silício à testemunha.

Ao atingirem três pares de folhas definitivas, as mudas de cafeeiro foram inoculadas com suspensão de 1,4 x 10⁴ conídios mL⁻¹, segundo metodologia utilizada por Pozza (1999).

Quando as plantas estavam com cinco pares de folhas, aproximadamente 40 dias após a inoculação, foram coletadas 8 folhas de cada tratamento e estas foram armazenadas em freezer a -20°C até a realização das análises de determinação dos teores de clorofila *a*, *b* e carotenóides e o teor de lignina.

Extração e determinação de pigmentos

A partir do material vegetal armazenado, foram pesados 0,2g de tecido foliar de cada tratamento, com quatro repetições. Os tecidos foliares foram macerados em nitrogênio líquido e colocados em acetona 85%, por 24 horas. Em seguida, o material foi centrifugado a 8.000 x g, por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado para a determinação em espectrofotômetro dos conteúdos de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides, de acordo com as seguintes fórmulas:

$$\text{Clorofila } a = (13,7 \times \text{Abs}_{664\text{nm}}) - (5,76 \times \text{Abs}_{647\text{nm}})$$

$$\text{Clorofila } b = (25,80 \times \text{Abs}_{647\text{nm}}) - (7,60 \times \text{Abs}_{664\text{nm}})$$

$$\text{Carotenóides} = (4,75 \times \text{Abs}_{455\text{nm}}) - (\text{Chl } a + \text{Chl } b) \times 0,226$$

Determinação de lignina

A concentração de lignina foi determinada pela metodologia descrita por Monties (1989).

Determinação da fotossíntese potencial

A fotossíntese potencial foi determinada pelo método de evolução do oxigênio utilizando uma câmara de Clark de fase gasosa (Hansatech) e um eletrodo de oxigênio acoplado a uma caixa de controle de fluxo elétrico CB1 (Hansatech) que amplifica as correntes vindas do eletrodo seguindo a metodologia utilizada por Delieu & Walker (1983). A avaliação foi realizada em folhas sadias e em folhas com sintomas da cercosporiose tanto na maior dose de ácido silícico (6 g kg⁻¹ de solo) quanto na menor (0g kg⁻¹ de solo). Na coleta das folhas doentes, foram padronizadas folhas com a mesma porcentagem de severidade (16%), de acordo com escala determinada por Fernandes (1988).

Anatomia do caule de mudas de café cultivadas em diferentes doses de ácido silícico

Ao término das avaliações de pigmentos, lignina, fotossíntese potencial e microscopia, os caules das mudas de café do experimento foram coletados e colocados em vidros contendo álcool etílico 70%, para fixação. Foram escolhidos três caules por tratamento, nos quais foram realizados cortes transversais utilizando micrótomo de mesa. Os cortes foram realizados na inserção do primeiro nó. As seções transversais foram clarificadas em hipoclorito de sódio 1%, durante 1 minuto e enxaguadas em água destilada por 5 minutos. Posteriormente, as seções foram coradas com azul de astra e safranina, seguindo metodologia descrita por Kraus & Ardium (1997). As lâminas com duas seções coradas foram montadas em água glicerínada; foi montada uma lâmina por caule, totalizando 6 seções transversais para medição por tratamento. Foram mensurados a epiderme, o parênquima esponjoso, o floema, o câmbio vascular e o xilema em Microscópio Leica DME.

Análise dos dados

A análise estatística do experimento foi realizada no programa Sisvar, versão 4.6 (Build 6.1). As variáveis quantitativas significativas no teste F foram submetidas à análise de regressão e as qualitativas ao teste de médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve efeito significativo das doses crescentes de ácido silícico no solo para os teores de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides. Resultados semelhantes foram encontrados por Amaral (2005) em mudas de café inoculadas com *C. coffeicola* e pulverizadas com silicato de potássio, onde os teores de clorofila *a* e carotenóides não foram influenciados pela pulverização com silicato.

O teor de lignina nas mudas de café também não diferiu entre os tratamentos estudados. Este resultado está de acordo com o encontrado por Nojosa (2003), que quantificou o teor de lignina em mudas de café pulverizadas com silicato de potássio, acibenzolar S metil ester e ácido salicílico e verificou que os tratamentos não diferiram da testemunha para a característica avaliada. O autor relata a possibilidade de esses indutores não favorecerem o acúmulo de lignina em cafés.

Com relação a taxa fotossintética potencial observou-se que folhas de plantas tratadas com 6g de ácido silícico sem sintomas da cercosporiose apresentaram menor taxa fotossintética potencial (Figura 1).

Nojosa (2003) também observou redução na taxa fotossintética em plantas de café pulverizadas com silicato de potássio. A fotossíntese potencial foi significativamente maior nas folhas de plantas pulverizadas com silicato de potássio e inoculadas com *Hemileia vastatrix* Berk & Br. quando comparadas com folhas somente com pulverização de silicato de potássio.

Uma possível explicação para a menor fotossíntese potencial observada nas mudas de café adubadas com a maior dose de ácido silícico (6 g kg^{-1} de solo) é o espessamento da camada de cera que, cobrindo os estômatos, influenciou negativamente a fotossíntese potencial. Essa camada de cera mais espessa em mudas de café tratadas com silicato foi observada tanto na aplicação de silicato via solo (Pozza et al., 2004) quanto via foliar (Amaral, 2005). Em ambos os trabalhos, cita-se a cobertura parcial dos estômatos pela camada de cera epicuticular. Embora o aumento da camada de cera em plantas adubadas com silicato de cálcio tenha resultado em menor número de lesões de *C. coffeicola* em mudas de café das cultivares Catuaí e Mundo Novo (Pozza et al., 2004), o efeito benéfico na redução da doença parece ser antagônico à fotossíntese potencial. Provavelmente, a menor densidade estomática devido ao espessamento da camada de cera resultou em menor assimilação de CO_2 , interferindo negativamente na taxa fotossintética potencial.

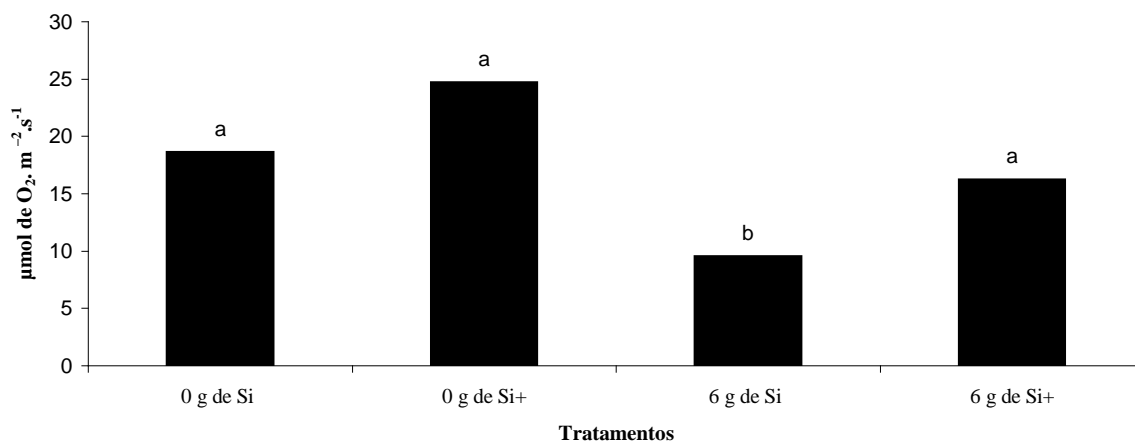


FIGURA 1. Fotossíntese potencial em tecidos foliares de folhas de café cv. Catuaí. 0g de Si = 0 g de ácido silícico por quilo de solo, 6 g de Si = 6 g de ácido silícico por quilo de solo. + = folhas com sintomas de *C. coffeicola*. Tratamentos com as mesmas letras não diferem, pelo teste de Scott - Knott, a 5%.

A maior taxa fotossintética observada em plantas inoculadas pode ser explicada pelo estímulo inicial que a doença causa na planta. Esse estímulo foi de, aproximadamente, $5 \mu\text{mol O}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$, nas plantas com sintomas da cercosporiose, independente da adição de ácido silícico ao solo de plantio das mudas (Figura 1). A severidade das folhas escolhidas para a avaliação (16%) apresentava áreas necrosadas de extensão reduzida e as áreas cloróticas, nas quais ocorreu a destruição de moléculas de clorofila, não eram extensas. Possivelmente, com a evolução do processo da doença, esse resultado inverteria, pois, de acordo com Pascholati & Leite (1995), pode-se verificar um aumento da atividade fotossintética no início do processo da doença, por um período reduzido, seguido, invariavelmente, pela redução da taxa de fotossíntese, devido ao aumento do surgimento de áreas cloróticas e necrosadas.

A espessura da epiderme, do câmbio vascular, do parênquima esponjoso, do floema e do xilema (μm) do caule de mudas de café não diferiu entre os tratamentos estudados. Possivelmente, as obstruções dos vasos condutores de plantas de citrus ocasionadas pela polimerização de Si observada por Korndorfer & Pereira (2006) ocorreram após um longo tempo de adubação com silicatos e, provavelmente, a ocorrência dessas obstruções varia entre espécies de plantas.

CONCLUSÕES

A dose de 6 g de ácido silícico por quilo de solo apresentou efeito negativo na fotossíntese potencial de mudas de café.

Não ocorreu alteração na anatomia do caule de mudas de café adubadas com ácido silícico.

A adubação com ácido silícico ao solo não modificou a concentração de lignina, clorofila *a*, *b* e carotenóides nas mudas de café.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADATIA, M. H.; BESFORD, R. T. The effects of silicon in cucumber plants grown in recirculation nutrient solution. **Annals Botany**, London, v. 58, n. 3, p. 343-357, Sept. 1986.

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5. ed. Amsterdam : Elsevier, 2005. 922 p.

AMARAL, D. R. **Indução de resistência em café contra Cercospora coffeicola por eliciadores abióticos e extratos vegetais**. 2005. 96 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BOTELHO, D. M. S.; POZZA, E. A.; POZZA, A. A. A.; CARVALHO, J. G. de.; BOTELHO, C. E.; SOUZA, P. E. Intensidade da cercosporiose em mudas de café em função de fontes e doses de silício. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 6, p. 582-588, nov./dez. 2005.

DATNOFF, L. E.; DEREN, C. W.; SNYDER, G. H. Silicon fertilization for disease management of rice in Florida. **Crop Protection**, Oxford, v. 16, n. 6, p. 525-531, Sept. 1997.

DELIEU, T.; WALKER, D. A. Polarographic measurement of photosynthesis oxygen evolution by leaf discs. **New Phytologist**, Cambridge, v. 89, n. 2, p. 165-178, 1981.

DELIEU, T.; WALKER, D. A. Simultaneous measurement of oxygen evolution and chlorophyll fluorescence from leaf pieces. **Plant Physiology**, Rockville, v. 73, n. 3, p. 534-541, 1983.

EPSTEIN, E. Silicon. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 641-664, 1999.

FERNANDES, C. D. **Efeito de fatores do ambiente e da concentração de inoculo sobre a Cercosporiose do café**. 1988 73 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

GUIMARÃES, P. T. G.; GARCIA, A. W. R.; VENEGAS, V. H. A.; PREZOTTI, L. C.; VIANA, A. S.; MIGUEL, A. S.; MALAVOLTA, E.; CORREA, J. B.; LOPES, A. S.; NOGUEIRA, F. D.; MONTEIRO, A. V. C.; OLIVEIRA, J. A. Café. In: COMISSÃO DE FERTILIDADE DO SOLO DO ESTADO DE MINAS GERAIS. **Recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação**. Viçosa, 1999. p. 289-302.

GUIMARÃES, P. T. G.; POZZA, A. A. A.; FERREIRA, G.; LEITE, E. **Transmissão de tecnologia para diferentes zonas produtoras**. Disponível em: <<http://www.coffeebreak.com.br/oafezal.asp?SE=8&ID=470>>. Acesso em: 12 jun. 2006.

KRAUS, J. E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: Seropédica. 1997. 198 p.

KORNDÖRFER, G. H.; PEREIRA, H. S. **Possíveis interações entre o silício e o Declínio**. Disponível em: <[http://www.dpv24.iciag.ufu.br/Silicio/Arquivos%20Papers/Rev.Citric.Atual%202002%20-%20Interacoes%20Si%20x%20Declinio%204\(27\)12-13.pdf](http://www.dpv24.iciag.ufu.br/Silicio/Arquivos%20Papers/Rev.Citric.Atual%202002%20-%20Interacoes%20Si%20x%20Declinio%204(27)12-13.pdf)>. Acesso em: 10 fev. 2006.

LIMA, L. M. de. **Manejo da ferrugem da soja (*Phakopsora pachyrhizi* Sydow & P. Sydow) com fungicidas e silício**. 2006. 81 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. .

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

MONTIES, B. Lignins. In: DEY, P. M.; HARBONE, J. B. (Ed.). **Methods in Plant Biochemistry**. New York: Academic Press, 1989. p. 113-158.

NOJOSA, G. B. A. **Efeito de indutores na resistência de *Coffea arabica* L. a *Hemileia vastatrix* Berk & Br. e *Phoma costaricensis* Echandi**. 2003. 102p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro:mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de Fitopatologia: princípios e Conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 417-453.

POZZA, A. A. A. **Influência da nutrição nitrogenada e potássica na intensidade da mancha de olho pardo (*Cercospora coffeicola* Berk. & Cook.) em mudas de cafeeiro**. 1999. 70 p. Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

POZZA, A. A. A.; ALVES, E.; POZZA, E. A.; CARVALHO, J. G. de; MONTANARI, M.; GUIMARÃES, P. T. G.; SANTOS, D. M. Efeito do silício no controle da cercosporiose em três variedades de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p185-188, mar./abr. 2004.

RAVEN, J. A. The transport and function of silicon in plants. **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, Cambridge, v. 58, n. 2, p. 179-207, 1983.