

**ACIBENZOLAR-S-METIL NO MANEJO
INTEGRADO DA FERRUGEM E
CERCOSPORIOSE DO CAFEIRO**

LUIZ HENRIQUE MONTEIRO FERNANDES

2009

LUIZ HENRIQUE MONTEIRO FERNANDES

**ACIBENZOLAR-S-METIL NO MANEJO INTEGRADO DA
FERRUGEM E CERCOSPORIOSE DO CAFEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, área de concentração em Fisiologia do Parasitismo, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Mário Lúcio Vilela de Resende

LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL
2009

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

Fernandes, Luiz Henrique Monteiro.

Acibenzolar-S-metil no manejo integrado da ferrugem e cercosporiose do cafeeiro / Luiz Henrique Monteiro Fernandes. –
Lavras : UFLA, 2009.

73 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.

Orientador: Mário Lúcio Vilela de Resende.

Bibliografia.

1. Acibenzolar-S-metil. 2. Cafeeiro. 3. Ferrugem. 4.
Cercosporiose. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 633.739952

LUIZ HENRIQUE MONTEIRO FERNANDES

**ACIBENZOLAR-S-METIL NO MANEJO INTEGRADO DA
FERRUGEM E CERCOSPORIOSE DO CAFEIEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, área de concentração em Fisiologia do Parasitismo, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 29 de julho de 2009

Prof. Mario Sobral de Abreu

UFLA

Pesq. Sára Maria Chalfoun de Souza

Epamig/CTSM



Prof. Mário Lúcio Vilela de Resende
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL

Aos meus pais, Luiz e Ariete, pelo apoio, carinho, incentivo e amor incondicional

Ao irmão Luciano, meu exemplo de força e integridade

A minha amada Tatiana, razão do meu viver

Ao meu avô Joaquim (in memoriam)

Dedico!

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, socorro bem presente nas minhas tribulações.

Aos meus pais, os grandes incentivadores, que vibram com minhas vitórias, me acodem em meus tropeços e abdicam de seus próprios sonhos para darem lugar aos meus.

Ao meu sogro, José Augusto e minha sogra, Joyce, que tenho como meus pais, pelo carinho.

A minha cunhada Samila, a irmã que não tive.

Ao Sr. Áureo e Dona Bernadete, proprietários da Fazenda Cascavel, que gentilmente cederam a área para instalação e condução dos experimentos de campo em sua propriedade.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Fitopatologia, que me acolheu desde a graduação, e me deu a oportunidade de cursar o mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende, pela amizade, orientação e por um dia ter apostado em mim, me confiando à direção deste trabalho.

Ao professor Dr. Mário Sobral de Abreu e Dra. Sára Maria Chalfoun de Souza, pela participação na banca e pelas críticas e sugestões, fundamentais para meu crescimento intelectual.

Aos demais professores do Departamento de Fitopatologia, pelos valiosos ensinamentos repassados.

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

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia do Parasitismo: Pedro, Daniel, Jadir, Vanessa, Márcia, Fernanda, Fabrício, Moisés, Ana Cristina, Renato, Bruno, Espeto, Henrique, Rodrigo, Manoel, Turco e Gláucia, pela convivência e auxílio nos ensaios.

À equipe deste trabalho: Bruno, Henrique, Renato e Gláucia, pelo importante apoio oferecido.

Ao amigo e também orientador Pedro, pela disposição em me auxiliar.

Aos amigos do Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutura: Heloísa, Cláudia, Ricardo e Douglas, pelo companheirismo e auxílio nos ensaios.

Aos colegas do Departamento: Glauco, Eudes, Fabiano, Esdras, Cláudio, Stélio, Felipe, Henrique, Cleílson, Roberto, Ana Beatriz, Amanda, Eduardo, André, Érika, Gilvaine, João Eduardo, Juliano, Luciana, Ricardo, Sarah, Rodrigo, Vívian e Natália, pelo companheirismo.

Aos amigos de república, Lúcio e Roberto, pelos momentos de descontração e boa convivência.

A todos aqueles que, mesmo que não tenham seus nomes aqui citados, mas que fizeram parte de mais essa conquista em minha vida.

Muito obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
CAPÍTULO 1.....	1
1 Introdução Geral	2
2 Referencial Teórico.....	4
2.1 Ferrugem do cafeeiro	4
2.2 Cercosporiose do cafeeiro.....	6
2.3 O fenômeno da indução de resistência.....	8
2.4 ASM como indutor de resistência.....	12
2.5 Estudo histopatológico das ferrugens por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	15
3 Referências Bibliográficas	17
CAPÍTULO 2: Acibenzolar-S-metil no controle da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro em condições de campo	24
1 Introdução	25
2 Material e Métodos	27
2.1 Descrição da área experimental	27
2.2 Delineamento experimental	27
2.3 Produtos utilizados e época de aplicação.....	27
2.4 Avaliação da intensidade da ferrugem e cercosporiose	29
2.5 Avaliação da produtividade e enfolhamento.....	30
2.6 Análise dos dados	30
3 Resultados e Discussão	30
3.1 Intensidade da ferrugem e cercosporiose do cafeeiro	30

3.2 Enfolhamento e produção do cafeeiro	45
4 Conclusão	49
5 Referências Bibliográficas	50
CAPÍTULO 3: Efeito direto de fungicida e indutores abióticos na germinação de urediniósporos de <i>hemileia vastatrix</i>	53
1 Introdução	54
2 Material e Métodos	55
2.1 Obtenção do inóculo de <i>Hemileia vastatrix</i>	55
2.2 Efeito direto <i>in vitro</i> de fosfitos, fungicida e ASM sobre a germinação de urediniósporos de <i>Hemileia vastatrix</i>	56
2.2.1 Instalação do experimento e delineamento experimental	56
2.3 Estudo histopatológico de folhas destacadas de cafeeiro inoculadas com <i>Hemileia vastatrix</i>	57
2.3.1 Instalação do experimento e inoculação	57
2.3.2 Coleta das amostras para microscopia	57
2.3.3 Preparo das amostras para microscopia eletrônica de varredura	58
3 Resultados e Discussão	59
3.1 Efeito direto <i>in vitro</i> de fosfitos, fungicida e ASM sobre a germinação de urediniósporos de <i>Hemileia vastatrix</i>	59
3.2 Estudo histopatológico do efeito da aplicação de fosfito, fungicida e ASM em folhas de cafeeiro inoculadas com <i>Hemileia vastatrix</i>	62
4 Conclusão	69
5 Referências Bibliográficas	70
Considerações Finais	72

RESUMO

FERNANDES, Luiz Henrique Monteiro. **Acibenzolar-S-metil no manejo integrado da ferrugem e cercosporiose do cafeeiro**. 2009. 73 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras; Lavras¹

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) no controle da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro em condições de campo. Avaliou-se também efeito direto sobre urediniósporos de *Hemileia vastatrix* em teste *in vitro*, usando microscopia eletrônica de varredura (MEV). O experimento de campo foi conduzido na Fazenda Cascavel, município de Carmo da Cachoeira, Minas Gérias, com a cultivar Mundo Novo, durante dois anos de avaliação, 2008 e 2009. O tratamento ASM teve comportamento diferente, dependendo do ano de avaliação. O tratamento ASM promoveu o eficiente controle das doenças como o tratamento fungicida apenas em anos de baixa carga pendente, quando a incidência das mesmas não foi tão elevada. Em teste *in vitro*, ASM não mostrou efeito direto sobre urediniósporos de *H. vastatrix*, diferente dos tratamentos fosfitos e fungicida. Estudos feitos com MEV confirmaram os resultados do teste *in vitro*. O tratamento ASM não interferiu na germinação e no desenvolvimento do tubo germinativo de urediniósporos de *H. vastatrix*, inoculados em folhas de cafeeiro. O efeito direto contra o patógeno foi demonstrado tanto pelo fosfíto de manganês quanto pelo fungicida.

¹Orientador: Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA

ABSTRACT

FERNANDES, Luiz Henrique Monteiro. **Acibenzolar-S-methyl for the integrated management of coffee rust and brown eye spot**. 2009. 73 p. Dissertation (Master in Phytopathology) – Federal University of Lavras; Lavras¹

The current work was aimed at evaluating the resistance inducer Acibenzolar-S-methyl (ASM) for the control of coffee rust and brown eye spot at field conditions. Its direct effect against *Hemileia vastatrix* was also assessed *in vitro* and by using scanning electron microscopy, SEM. In the field experiment carried out at the Cascavel Farm, Carmo da Cachoeira country, Minas Gerais, with the Mundo Novo cultivar during two years of evaluation, 2008 and 2009. ASM had different behavior, depending on evaluation year. Disease control with ASM was as effective as the systemic fungicide treatment, only during the low yield year, where disease incidence was not so high. On the *in vitro* test, ASM did not show direct toxic effect against urediniospores of *H. vastatrix*, different from the phosphites and the fungicide treatment. SEM studies confirmed *in vitro* results, where ASM treatment did not interfere on the germination and development of the germinative tube of *H. vastatrix* urediniospores, inoculated on coffee leaves. The direct toxic effect against the pathogen was demonstrated when either manganese phosphite or systemic fungicide was used.

¹Advisor: Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA

CAPÍTULO 1

ACIBENZOLAR-S-METIL NO MANEJO INTEGRADO DA FERRUGEM E DA CERCOSPORIOSE DO CAFEEIRO

1 INTRODUÇÃO GERAL

Uma das culturas de maior destaque no país, o café desponta mais uma vez no cenário agrícola mundial, sustentando o país no topo da produção desta importante *rubiaceae*. O Brasil é responsável pela produção de cerca de 39,073 milhões de sacas (Companhia Nacional de Abastecimento - Conab, 2009), queda de 15 % da estimativa prevista para a safra anterior, isso devido à bienalidade que a cultura sofre. Mesmo assim, o país continua na liderança mundial na produção de café, com destaque para Minas Gerais, que detém cerca de 49,02% de todo este montante (Conab, 2009).

Sabe-se que um dos principais gargalos para a produção satisfatória da cultura cafeeira está no controle de suas principais doenças, que são a ferrugem e a cercosporiose, as quais provocam perdas consideráveis quando não existe um controle satisfatório e eficaz.

A ferrugem alaranjada, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix*, é, sem dúvida, a principal doença do cafeeiro. Constatada no Brasil em janeiro de 1970, logo se disseminou por todo o país, sendo, atualmente, encontrada em todas as regiões produtoras de café do mundo.

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

Outra doença de considerável importância na cafeicultura é a cercosporiose, conhecida também por mancha-de-olho-pardo ou olho-de-pomba, causada por *Cercospora coffeicola*. É uma das doenças mais antigas do cafeeiro, tanto na América do Sul como América Central e está disseminada por todas as

regiões produtoras. Nas regiões altas do estado do Espírito Santo e em Minas Gerais, a partir de 1971, ocorreram ataques intensos do patógeno no campo, com perdas na produção de, aproximadamente, 30% (Carvalho & Chalfoun, 2001). Os prejuízos com a cercosporiose ganharam maior importância econômica com a implantação de lavouras nos cerrados ou em áreas de baixa fertilidade natural, pois existe grande relação entre o ataque de *Cercospora* e a nutrição mineral das plantas (Pozza et al., 2000; Talamini, 2001).

Vários fatores, quando correlacionados, contribuem para que ocorra o favorável desenvolvimento de tais patógenos na cultura, acarretando grandes prejuízos. Mas, sabe-se também que o manejo adequado do cafeeiro se faz necessário, a fim de minimizar perdas. Dessa maneira, a boa nutrição e a utilização de produtos que promovam o controle das doenças do cafeeiro são indispensáveis.

O controle químico ainda tem sido o mais utilizado e de maior eficácia contra a ferrugem e a cercosporiose. Porém, sabe-se que tais moléculas, utilizadas como ingredientes ativos desses produtos, atuam em apenas alguns sítios específicos nos patógenos, o que aumenta grandemente as chances de se selecionar raças que venham a ser tolerantes a essas moléculas, diminuindo, assim, a vida útil do produto.

A agricultura moderna prioriza o uso de produtos que sejam menos tóxicos ao homem e animais, que não poluam o ambiente, que sejam utilizados a baixas dosagens e que, além disso, sejam economicamente viáveis. Atendendo a essas premissas, encontra-se o acibenzolar-S-metil, comercialmente conhecido por Bion® (Syngenta Proteção de Cultivos), o único produto classificado como “ativador de plantas”, pelo Ministério da Agricultura, no país.

Dessa forma, como uma das medidas alternativas de controle de doenças, tem-se a indução de resistência em plantas, que envolve a ativação de mecanismos de defesa latentes existentes nas mesmas, representados por

barreiras bioquímicas ou estruturais, que aumentam a resistência geral da planta em resposta a tratamentos com agentes bióticos e abióticos (Uknes et al., 1996). A utilização de produtos diferenciados e altamente técnicos no atual contexto da agricultura, como o ASM, ganhou importância no controle de doenças de plantas nos últimos anos, uma vez que podem ativar a defesa natural das plantas contra uma série de patógenos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Ferrugem do cafeeiro

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

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

Os sintomas da ferrugem são, inicialmente, manchas cloróticas translúcidas, com diâmetro em torno de 5 mm nas folhas, que podem crescer e chegar a 1-2 cm, com o desenvolvimento de massas pulverulentas de cor amarelo-alaranjada na face abaxial do limbo foliar, formadas por urediniosporos. Áreas cloróticas na superfície adaxial da folha correspondem às regiões infectadas na face abaxial. Uma folha pode conter centenas de pústulas que podem coalescer e recobrir completamente a superfície foliar. As lesões, com o

progresso da doença, aumentam de tamanho e formam uma área necrótica central, com reduzida produção de urediniósporos (Godoy et al., 1997).

Ocasionalmente, observam-se os sintomas em frutos verdes e extremidades de ramos das brotações novas. Nas plantações, o sintoma mais notável é a desfolha, que prejudica o desenvolvimento de plantas jovens, causando definhamento, o que compromete a produção. A desfolha antes do florescimento interfere no desenvolvimento dos botões florais e na frutificação e, durante o desenvolvimento dos frutos, leva à formação de grãos anormais e defeituosos, afetando sensivelmente a produção (Godoy et al., 1997). A disseminação da ferrugem ocorre com maior eficiência pela ação do vento, gotas da chuva, escorrimento da água pelas margens do limbo foliar para a superfície inferior e pela ação do homem durante os tratos culturais (Godoy et al., 1997). A fonte de inóculo é constituída de lesões em folhas infectadas, nas quais são produzidos os urediniósporos. Como o período de produção dos urediniósporos numa mesma lesão pode ser superior a três meses, uma lesão produzida em uma estação vegetativa pode servir como fonte de inóculo para a estação seguinte (Chalfoun & Zambolim, 1985).

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

resistência das cultivares melhoradas, além do baixo nível de aceitação por parte do próprio produtor rural em utilizar tais cultivares, pelo fato de elas terem uma produção menor que das cultivares tradicionais.

2.2 Cercosporiose do cafeeiro

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

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

Nas regiões altas do estado do Espírito Santo e em Minas Gerais, a partir de 1971, ocorreram ataques intensos deste patógeno no campo, com perdas, na produção, de 30% (Carvalho & Chalfoun, 2001). Os prejuízos com a

cercosporiose ganharam maior importância econômica com a implantação de lavouras nos cerrados ou em áreas de baixa fertilidade natural, pois existe grande relação entre o ataque de cercospora e a nutrição mineral das plantas (Pozza et al., 2000; Talamini, 2001). Assim, solos de baixa fertilidade ou com desequilíbrio nutricional, principalmente em cálcio, potássio e nitrogênio, predisõem à planta ao ataque mais intenso do patógeno.

O fato de a cercosporiose ser um problema desde as mudas no viveiro até os plantios novos no campo torna esta doença ainda mais importante na cafeicultura (Chalfoun, 1997; Zambolim et al., 2005). Nos viveiros, ela provoca desfolha e afeta o crescimento das mudas, tornando-as raquíticas e inadequadas para o plantio. Já em plantios novos, é comum ocorrerem intensos ataques com desfolha acentuada e redução do crescimento das mudas, principalmente em lavouras implantadas em terrenos de baixa fertilidade e ou com adubações desequilibradas. Além disso, podem ocorrer ataques severos desse patógeno, com queda de folhas e frutos após as primeiras produções. Em lavouras adultas, além da queda de folhas, a doença provoca a queda prematura e o chochamento dos frutos atacados e também pode funcionar como porta de entrada para outros fungos que interferem na qualidade do café. Isso implica na redução da produção e do rendimento e na depreciação do tipo e da bebida do café (Chalfoun, 1997).

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

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

2.3 O fenômeno da indução de resistência

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

A indução de resistência consiste no aumento da capacidade de defesa da planta contra amplo espectro de organismos fitopatogênicos, incluindo fungos, bactérias e vírus (Loon, 1998). A resistência resultante é proporcionada

por um agente indutor, biótico ou abiótico, que aciona mecanismos de defesa na planta, os quais se encontram na forma latente (Hammerschmidt & Kúc, 1982). Essa ativação pode ser obtida pelo tratamento com agentes bióticos, ou seja, formas avirulentas de patógenos, raças incompatíveis e, em determinadas circunstâncias, por formas virulentas de patógenos, extratos vegetais e extratos de fungos (Stangarlin & Pascholati, 1994) ou por ativadores químicos, como ácido aminobutírico (Cohen, 1996), ácido 2,6-dicloroisonicotínico e acibenzolar-S-metil (Loon, 1998).

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

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

jasmônico e o etileno, sem envolver a expressão de PR proteínas (Loon et al., 1998).

Dentre as PR proteínas, as quitinases (CHI; EC 3.2.1.14) são monômeros com massa molecular entre 25 e 35 kDa, com atividade de lisozima e podem hidrolisar ligações β -1,4 entre ácido N-acetilmurâmico e N-acetilglucosamina no peptideoglicano bacteriano. Certas quitinases podem agir como quitosanases, além de existir também quitosanases específicas induzidas em plantas, em resposta a fitopatógenos. Embora as quitinases hidrolisem eficientemente a quitina, que é o principal componente da parede celular de muitos fungos, estas enzimas também são encontradas em plantas de fumo, em resposta à inoculação com o *Tobacco mosaic virus* (TMV) (Ponstein et al., 1994). Outras PR proteínas importantes, as β -1,3-glucanases (GLU; EC 3.2.1.6), são enzimas que hidrolisam polímeros de β -1,3-glucana, compostos que, juntamente com a quitina, são os principais componentes que conferem resistência à parede celular dos fungos (Cornelissen & Melchers, 1993).

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

As peroxidases (POX; EC 1.11.1.7) não só oxidam os compostos fenólicos como também aumentam a sua velocidade de polimerização em substâncias similares à lignina, que se depositam na parede celular e interferem

no posterior crescimento e desenvolvimento do patógeno (Agrios, 2005). Elas representam um conjunto de dezenas de isoenzimas capazes de catalisar a oxidação de vários substratos, como substâncias aromáticas, ácido ascórbico e compostos fenólicos, na presença de peróxido de hidrogênio, com formação de quinonas e água. Os produtos gerados pela ação das peroxidases estão envolvidos na formação da parede celular vegetal, na suberização e na lignificação. Em plantas infectadas por patógenos, ou em plantas induzidas, as respostas de defesa estão também ligadas à oxidação de compostos fenólicos, que são tóxicos a patógenos (Sutic & Sinclair, 1991). Estas enzimas estão também envolvidas na geração de H_2O_2 que, por sua vez, podem gerar outros radicais ativos de oxigênio, além de apresentar atividade antimicrobiana direta (Peng & Kúc, 1992).

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

2.4 ASM como indutor de resistência

Por se tratar de um produto classificado como ativador de plantas, encontra-se, na literatura, uma série de trabalhos nos quais o ASM se mostra eficiente no controle de várias fitodoenças, independente da natureza do patógeno, seja este vírus, bactérias ou fungos, comprovando o amplo espectro de ação do indutor de resistência.

O composto sintético acibenzolar-S-metil conferiu proteção a plantas de fumo (70% a 97%, para uma concentração de 1200 µM) contra o vírus TMV, os fungos *Cercospora nicotianae*, *P. tabacina*, *Phytophthora parasitica* e as bactérias *Erwinia carotovora* e *P. syringae* pv. *tabaci* (Friedrich et al., 1996) e em plantas de trigo (87% para uma concentração de 300 µM) contra o fungo *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici* (Görlach et al., 1996). O ASM, quando aplicado em *A. thaliana*, 72 horas antes da inoculação com patógenos, promoveu redução nos sintomas das doenças causadas pelo fungo *P. parasitica*, pela bactéria *P. syringae* pv. *tomato* e pelo vírus TCV (“turnip crinkle virus”) (Lawton et al., 1996). Plântulas de tomate pré-tratadas com o ASM mostraram redução na severidade do cancro bacteriano causado por *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. A proteção observada foi correlacionada com uma redução de cerca de 68% no crescimento da bactéria durante a patogênese (Baysal et al., 2003).

Tally et al. (1999) observaram que, em plantas de tomate, a resistência foi ativada pelo ASM contra *P. infestans*, mas nenhum efeito protetor significativo foi verificado em batata em relação ao mesmo patógeno. Estes autores concluíram que, por se tratar de um fungo extremamente agressivo, a SAR, que é o tipo de resistência ativada pelo produto, não é tão eficaz em casos como estes. A SAR foi ativada, também, em outras culturas após a aplicação do ASM, como, por exemplo, batata (Bokshi et al., 2003), pepino (Narusaka et al., 1999), roseira (Suo & Leung, 2002), feijoeiro (Iriti & Faoro, 2003), cacauero

(Resende et al., 2002) e cafeeiro (Guzzo et al., 2001; Marchi et al., 2002). O ASM, na maioria dos casos estudados, não apresenta atividade antimicrobiana direta sobre os patógenos, sendo um produto de baixa toxicidade e sistêmico, que é rapidamente absorvido e translocado através das plantas (Oostendorp et al., 2001; Ruess et al., 1996). Experimentos realizados *in vitro* demonstraram que o ASM e seus metabólitos, na concentração de 1,4 mM, não afetam significativamente o desenvolvimento de 18 fungos (Friedrich et al., 1996). O produto também não inibiu o desenvolvimento do fungo *H. vastatrix*, nas fases de pré-penetração (germinação e formação de apressórios), em cafeeiro (Guzzo et al., 2001).

Não foi constatado efeito biocida *in vitro* do ASM sobre a germinação de uredíniosporos de *H. vastatrix* (Marchi et al., 2002). Por outro lado, foi verificado, por alguns pesquisadores, que o tratamento de plantas com ASM pode induzir resistência contra fitopatógenos, mas aumentar, simultaneamente, a suscetibilidade ao ataque por insetos herbívoros. Em experimentos realizados em tomateiro, a aplicação foliar prévia de ácido jasmônico, mas não a de ASM ou ácido salicílico, protegeu as plantas contra as larvas da lagarta *Spodoptera exigua* e da broca *Helicoverpa zea*, refletida pelas taxas de crescimento reduzidas e menor sobrevivência das larvas nas folhas induzidas, tratadas com esse regulador vegetal (Thaler et al., 1999; Thaler et al., 2001; Bostock et al., 2001). As plantas induzidas com ácido jasmônico apresentaram redução de 60% nos danos foliares provocados pelo ataque dos insetos herbívoros, em relação às plantas controle (Thaler et al., 2001).

O tratamento de folhas de tomateiro com o ASM (1,2 mM) induziu resistência contra *P. syringae* pv. *tomato*, manifestada pela redução do número e do tamanho de lesões nas folhas protegidas sistemicamente. Entretanto, as larvas de insetos da família *Noctuidae* se desenvolveram melhor nas plantas tratadas

com ASM expressando a SAR do que no controle, não tratado (Bostock et al., 2001).

Plantas de tomate tratadas com ASM comprometeram a resistência do hospedeiro às larvas de *S. exigua*, em experimentos realizados em condições de campo (Thaler et al., 1999). Os autores concluíram que a SAR induzida por alguns tratamentos químicos pode trazer um risco potencial, aumentando a vulnerabilidade das plantas a determinados insetos herbívoros (Bostock et al., 2001).

Entretanto, experimentos conduzidos por outros pesquisadores indicam que a ativação de mecanismos de defesa em plantas por meio da aplicação exógena de indutores abióticos de resistência pode resultar em uma redução simultânea dos danos causados por vários patógenos e insetos herbívoros. Inbar et al. (1998) aplicaram os indutores abióticos de respostas de defesa, ASM, probenazole, quitosana, ácido salicílico, em tomateiro em condições de campo e avaliaram a habilidade desses compostos em promover, simultaneamente, resistência contra diferentes patógenos e insetos herbívoros. Somente o ASM induziu resistência simultânea contra diferentes fitopatógenos e contra a larva minadora *Liriomyza* spp. O composto ASM reduziu significativamente a incidência da mancha-bacteriana, da pinta-preta e da mancha-de-cladosporium causadas, respectivamente, por *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, *Alternaria solani* e *Cladosporium fuvum* e a densidade das larvas de *Liriomyza* spp. Os efeitos sobre as densidades das larvas de *Liriomyza* spp foram mais pronunciados durante os primeiros estádios de desenvolvimento da planta. Alguns dos indutores avaliados, embora tenham controlado determinados fitopatógenos, não apresentaram efeito significativo sobre a população de insetos.

O efeito do ASM sobre a larva minadora foi confirmado por ensaios em laboratório, tendo sido constatado que as larvas apresentaram melhor

desempenho nas plantas não tratadas com esse indutor de resistência. Pascual et al. (2003) observaram, também, que a aplicação foliar de ASM (0,2 g/L) em plantas de tomate induziu resistência contra a mosca branca *Bemisia tabaci*, vetor do geminivírus, “tomato leaf curl virus”.

2.5 Estudo histopatológico das ferrugens por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Com o surgimento da microscopia eletrônica, na década de 1950, as interações envolvendo planta e patógeno passaram a se mais bem elucidadas. Sabe-se que há uma série de fatos – formação de apressórios, haustórios e papila, entre outros – que contribuem tanto para o estabelecimento e a colonização do patógeno, até barreiras que o próprio hospedeiro impõe como uma alternativa para a sua proteção, que puderam ser detalhadas e estudadas com o uso da microscopia eletrônica de maneira mais detalhada.

Na interação dos fungos causadores de ferrugem em plantas, a microscopia eletrônica de varredura (MEV) tem se mostrado extremamente útil. Os eventos iniciais da infecção por urediniosporos de *Puccinia sorghi* Schwein. em milho foram revelados por Hughes & Rijkenberg (1985). Mims et al. (2001) também empregaram a MEV para estudar a forma dos haustórios de *Frommeela mexicana* var. *indicae* McClain & Hennen em *Duchesnea indica* (Anb.)Focke. Hu & Rijkenbeng observaram, por meio da MEV, diferenças na morfologia do *peg* de penetração de *Puccinia recondita* Rob ex Desm.f.sp. *tritici* Eriks em linhagens de trigo suscetíveis e resistentes, inoculadas com urediniósporos do referido fungo.

McLean & Byth (1980) estudaram os eventos de pré-penetração e penetração de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi* em cultivares altamente resistentes (Tainung-3, Tainung-4 e PI- 200492) de soja. Em todas as cultivares, não foi encontrada nenhuma diferença em relação ao desenvolvimento do tubo

germinativo, mas houve diferença na percentagem de urediniósporos germinados, formação de apressório e penetração. As cultivares Tainung-3 e Tainung-4 apresentaram-se resistentes à germinação dos urediniósporos, portanto, a resistência dessas cultivares é de pré-penetração e penetração. Já a cultivar PI-200492 não apresentou resistência à germinação dos urediniósporos, pois eles germinavam e penetravam no tecido do hospedeiro, mas não conseguiam desenvolver. Portanto, essa resistência ocorre na fase de pós-penetração.

Existem vários trabalhos ultraestruturais envolvendo diversos tipos de ferrugens para uma gama de hospedeiros, mas pouco se tem sobre a interação histopatológica entre *Hemileia vastatrix* e *Coffea arabica*. Sabe-se que a utilização de produtos tidos como indutores de resistência leva as plantas a ativarem mecanismos de defesas naturais que perfazem barreiras físicas ou químicas, porém, tais produtos podem atuar na fase de pré ou pós-penetração dos patógenos. Para isso, é necessária a utilização da microscopia eletrônica de varredura, com o objetivo de elucidar tal fato.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5^a ed. New York: Academic, 2005. 922 p.

BAYSAL, O.; SOYLU, E. M.; SOYLU, S. Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis*. **Plant Pathology: a record of current work on plant diseases and pest in British Isles**, Oxford, v. 52, n. 6, p. 747-753, Dec. 2003.

BOKSHI, A. I.; MORRIS, S. C.; DEVERALL, B. J. Effects of benzothiadiazole and acetylsalicylic acid on β -1,3-glucanase activity and disease resistance in potato. **Plant Pathology: a record of current work on plant diseases and pest in British Isles**, Oxford, v. 52, n. 1, p. 22-27, Jan./Mar. 2003.

BOSTOCK, R. M.; KARBAN, R.; THALER, J. S.; WEYMAN, P. D.; GILCHRIST, D. Signal interactions in induced resistance to pathogens and insect herbivores. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, n. 1, p. 103-111, Jan. 2001.

CARVALHO, V. L.; CHALFOUN, S. M. **Cercospora: doença do cafeeiro** também chamada de "olho pardo" ou "olho de pomba. Belo Horizonte: EPAMIG, 2001. (Informe tecnológico, 26).

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

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

CHALFOUN, S. M.; ZAMBOLIM, L. Ferrugem do cafeeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 11, n. 121, p. 42-46, jun. 1985.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira: café safra 2009: segunda estimativa, maio/2009**. Brasília: CONAB, 2009. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/2_levantamento_2009.pdf>. Acesso em: 18 jun. 2009.

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

DIXON, R. A.; LAMB, C. J. Molecular communication in interactions between plant and microbial pathogens. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 41, n. 1, p. 339-367, Dec. 1990.

FRIEDRICH, L.; LAWTON, K.; RUESS, W.; MASNER, P.; SPECKER, N.; GUTRELLA, M.; MEIER, B.; DINCHER, S.; STAUB, T.; UKNES, S.; MÉTRAUX, J. P.; KESSMANN, H.; RYALS, J. A benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco. **Plant Journal: for cell and molecular biology**, Oxford, v.10, n. 1, p. 61-70, Jan. 1996.

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

GÖRLACH, J.; VOLRATH, S.; KNAUF-BEITER, G.; HENGY, G.; BECKHOVE, U.; KOGEL, K.H.; OOSTENDORP, M.; STAUB, T.; WARD, E.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. **The Plant Cell**, Rockville, v. 8, n. 4, p. 629-643, Apr. 1996.

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

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

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

HUGHES, F. L.; RIJKENBERG, F. H. J. Scanning electron microscopy of early infection in the uredial stage of *Puccinia sorghi* in *Zea mays*. **Plant Pathology: a record of current work on plant diseases and pest in British Isles**, Oxford, London, v. 34, n. 1, p. 61-68, Jan./Mar. 1985.

INBAR, M.; DOOSTDAR, H.; SONODA, R. M.; LEIBEE, G. L.; MAYER, R. T. Elicitors of plant defensive systems reduce insect densities and disease incidence. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 24, n. 1, p. 135-149, Jan. 1998.

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

LAWTON, K.; FRIEDRICH, L.; HUNT, M.; WEYMANN, K.; DELANEY, T.; KESSMANN, H.; STAUB, T.; RYALS, J. Benzothiadiazole induces disease resistance in *Arabidopsis* by activation of the systemic acquired resistance signal transduction pathway. **Plant Journal: for cell and molecular biology**, Oxford, v. 10, n. 1, p. 71-82, Jan. 1996.

LOON, L. C. van; BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE, C. M. J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 36, n. 1, p. 453-483, Dec. 1998.

MARCHI, C. E.; BORGES, M. de F.; RESENDE, M. L.V. Proteção induzida por benzotiadiazole contra a ferrugem-alaranjada (*Hemileia vastatrix*) em cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 5, p. 1103-1106, set./out. 2002.

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

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

MCLEAN, R. J.; BYTH, D. E. Inheritance of resistance to rust (*Phakopsora pachyrhizi*) in soybeans. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 31, n. 5, p. 951-956, Sept./Oct. 1980.

MIMS, C. W.; RODRIGUEZ-LOTHER, C.; RICHARDSON, E. A. Ultrastructure of the host-parasite interaction in leaves of *Duchesnea indica* infected by the rust fungus *Frommeela mexicana* var. *indica* as revealed by high pressure freezing. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 79, n. 1, p. 49-57, Jan. 2001.

NARUSAKA, Y.; NARUSAKA, M.; HORIO, T.; ISHII, H. Comparison of local and systemic induction of acquired disease resistance in cucumber plants treated with benzothiadiazoles or salicylic acid. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 40, n. 4, p. 388- 395, Oct. 1999.

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

OOSTENDORP, M.; KUNZ, W.; DIETRICH, B.; STAUB, T. Induced disease resistance in plants by chemicals. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, n. 1, p. 19-28, Jan. 2001.

PASCHOLATI, S. F. **Potencial de *Saccharomyces cerevisiae* e outros agentes bióticos na proteção de plantas contra patógenos**. 1998. 123 p. Tese (Livre-Docência) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

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

PASCUAL, S.; NOMBELA, G.; AVILES, M.; MUÑIZ, M. Induced resistance in tomato to whitefly *Bemisia tabaci* by Bion. **International Organization for Biological and Integrated Control of Noxious Animals and Plants**, Zurich, v. 26, n. 10, p. 61-64, Nov. 2003.

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

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

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

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

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

RUESS, W.; MÜLLER, K.; KNAUF-BEITER, G.; KUNZ, W.; STAUB, T. Plant activator CGA 245704: an innovative approach for disease control in cereals and tobacco. In: BRIGHTON CROP PROTECTION CONFERENCE/PEST & DISEASES, 1996, Brighton. **Anais...** Brighton: BCPC, 1996. p. 9-17.

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

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

STICHER, L.; MAUCH MANI, B.; METRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 35, n. 1, p. 235-270, Dec. 1997.

SUO, Y.; LEUNG, D. W. M. ASM-induced accumulation of extracellular proteins and blackspot disease in rose. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 45, n. 2, p. 273-279, Mar./Apr. 2002.

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

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

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

TALLY, A.; OOSTENDORP, M.; LAWTON, K.; STAUB, T.; BASSI, B. Commercial development of elicitors of induced resistance to pathogens. In: AGRAWAL, A. A.; TUZUN, S.; BENT, E. (Ed.). **Induced plant defenses against pathogens and herbivores**. Saint Paul: APS, 1999. p. 357-369.

THALER, J. S.; FIDANTSEF, A. L.; DUFFEY, S. S.; BOSTOCK, R. M. Tradeoffs in plant defense against pathogens and herbivores: a field demonstration using chemical elicitors of induced resistance. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 25, n. 7, p. 1597-1609, July 1999.

THALER, J. S.; STOUT, M. J.; KARBAN, R.; DUFFEY, S. S. Jasmonate-mediated induced plant resistance affects a community of herbivores. **Ecological Entomology**, London, v. 26, n. 3, p. 312-324, May/June 2001.

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

VANCE, C. P.; KIRK, T. K.; SHERWOOD, R. T. Lignification as a mechanism of disease resistance. **Annual Review of Plant Pathology**, Palo Alto, v. 18, n. 1, p. 259-288, Dec. 1980.

ZAMBOLIM, L.; MARTINS, M. C. Del P.; CHAVES, G. M. Café. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 11, n. 121, p. 64-75, jan. 1985.

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

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

CAPÍTULO 2

ACIBENZOLAR-S-METIL NO CONTROLE DA FERRUGEM E DA CERCOSPORIOSE DO CAFEIRO EM CONDIÇÕES DE CAMPO

1 INTRODUÇÃO

Por mais que o café seja uma das culturas mais bem estudadas, devido a toda sua importância, o controle de suas doenças ainda é um desafio a ser vencido pelos fitopatologistas. Novas moléculas são criadas no intuito de sustentar a boa eficiência que o controle químico pode promover, mas, em contrapartida, aumentam os gastos com tais produtos (Vegro & Ferreira, 2000), além de causar desequilíbrios ambientais quando mal utilizados. É nesse contexto que a indução de resistência encontra o seu espaço.

A resistência induzida é uma forma promissora de controle das doenças, pois ela aumenta a capacidade de defesa da planta contra fungos, bactérias e vírus, e pode ser acionada por agente indutor, biótico ou abiótico. Entre esses mecanismos de defesa podem ser citados a ativação de genes de proteínas relacionadas à patogênese (PR proteínas), os genes de enzimas que regulam rotas do metabolismo secundário de substâncias do tipo fitoalexinas ou outros compostos de defesa estruturais, como lignina (Pascholati & Leite, 1995). Essa ferramenta representa uma alternativa para a utilização de genótipos de plantas suscetíveis, mas com características agronômicas desejáveis (Kúc, 2001).

Único produto comercial registrado no Ministério da Agricultura como ativador de plantas, o ASM, comercialmente conhecido por Bion® (Syngenta Proteção de Cultivos), foi desenvolvido a fim de promover a ativação de todo aparato metabólico acima citado. Derivado da molécula do ácido salicílico, o acibenzolar-S-metil, diferentemente de fosfitos, que também têm comprovada ação como indutor de resistência, não tem efeito tóxico direto significativo sobre patógenos (Ruess et al., 1995).

Diversos ensaios já comprovam o efeito de proteção que o ASM promove às plantas de cafeeiro contra uma ampla gama de patógenos.

Trabalhando com mudas de cafeeiro, Guzzo et al. (2001) observaram a ação do ASM como indutor contra a ferrugem, constatando proteção local (controle de 97%) e sistêmica (controle de 94%). Este fato evidencia a capacidade de difusão equitativa do produto a partir do ponto de aplicação e/ou pela ativação de mecanismos de resistência da plantas (resistência sistêmica adquirida ou RSA), que impedem ou dificultam o estabelecimento e/ou desenvolvimento do patógeno, mesmo não tendo constatado efeito algum na fase de pré-penetração (germinação e formação do apressório). Esse efeito indutor do ASM contra a ferrugem do cafeeiro foi confirmado por Nojosa (2003), relatando controles de 56,82% e 52%, em folhas destacadas e em mudas de café, respectivamente. Em outro trabalho, Guzzo et al. (2004) observaram incremento nas atividades de quitinase e β -1,3-glucanase, um dia após a aplicação foliar do ASM, as quais mantiveram-se altas até 35 dias após a aplicação, proporcionando redução na severidade da ferrugem em 60%-80% em condições controladas.

Assim sendo, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a ação do ativador de plantas ASM, associado ou não ao fungicida padrão utilizado (ciproconazol + azoxystrobin) no controle da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro cv. Mundo Novo, em condições de campo, nos anos agrícolas de 2008 e 2009.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Descrição da área experimental

O ensaio de campo foi conduzido na Fazenda Cascavel, município de Carmo da Cachoeira, Sul de Minas Gerais, nos anos de 2008 e 2009. A cultivar utilizada no experimento foi a Mundo Novo, recepada há 6 anos, em produção, implantada no espaçamento de 3,5 x 0,8 m, suscetível à ferrugem e à cercosporiose, instaladas sob o sistema convencional de produção.

2.2 Delineamento experimental

O experimento foi delineado em blocos casualizados, com seis tratamentos e quatro repetições. A unidade experimental constituiu de uma linha de plantio com dez plantas em cada e parcela útil representada pelas seis plantas centrais.

2.3 Produtos utilizados e época de aplicação

Tratamentos utilizados no ensaio de campo e suas respectivas épocas de aplicação e dosagens (Tabela 1).

TABELA 1 Tratamentos avaliados em ensaio de campo, nos anos de 2008 e 2009, em cafeeiro cultivar Mundo Novo e suas respectivas doses e épocas de aplicação.

Tratamentos**	Fabricante	Doses	Épocas de aplicação*				
			Dez. ¹	Jan. ²	Fev. ²	Mar. ²	Abr. ²
ciproconazol + azoxystrobin	Syngenta	500 mL/ha	X		X		X
A ciproconazol + azoxystrobin	Syngenta	500 mL/ha	X		X		X
ASM	Syngenta	25 g/ha	X		X		X
B ciproconazol + azoxystrobin	Syngenta	500 mL/ha	X		X		X
ASM	Syngenta	25 g/ha	X	X	X	X	X
C ciproconazol + azoxystrobin	Syngenta	750 mL/ha	X			X	
ASM	Syngenta	25 g/ha	X	X	X	X	X
ASM	Syngenta	25 g/ha	X	X	X	X	X
Testemunha	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

*Independente do ano, as aplicações obedeceram ao calendário pré-estabelecido acima.

**Foi utilizado óleo mineral parafínico na dose 0,5% da quantidade total de calda em mistura a todos os tratamentos.

¹ Pulverização feita em dezembro de 2007 e dezembro de 2008.

² Pulverização feita em janeiro, fevereiro, março e abril de 2008 e 2009.

Todas as pulverizações foram feitas com auxílio de atomizador costal motorizado, aplicando-se um volume de calda de 350-400 L/ha. Durante a condução do ensaio, não houve interferência nos tratos culturais de rotina utilizados na fazenda dentro da área experimental, a não ser capinas e adubações. A quantidade de adubo aplicada foi recomendada com base na análise do solo após a colheita e em critérios de interpretação dos níveis de fertilidade propostos por Guimarães et al. (1999).

2.4 Avaliação da intensidade da ferrugem e cercosporiose

As avaliações de incidência e de severidade para ferrugem e cercosporiose foram realizadas a cada 30 dias, nas seis plantas centrais de cada parcela, em seis ramos plagiotrópicos do terço médio por planta, sendo três ramos de cada um dos lados da planta. Em cada ramo foi avaliado o terceiro ou o quarto par de folhas, quantificando-se a severidade da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro de acordo com escalas diagramáticas propostas por Cunha et al. (2001) e Oliveira et al. (2001), respectivamente. A partir dos dados coletados em campo, calculou-se a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de cada tratamento, seguindo a seguinte fórmula (Shaner & Finney, 1977):

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} [(X_i + X_{i+1}) / 2] (t_{i+1} - t_i)$$

Em que:

X = intensidade da doença

t = tempo

n = número de avaliações no tempo

2.5 Avaliação da produtividade e enfolhamento

A produtividade média foi feita derrichando-se os frutos das oito plantas centrais de cada parcela, com auxílio de colhedora acoplada ao trator (derricha mecânica). Os frutos colhidos foram, então, pesados e, a partir dos valores obtidos em peso (kg), transformou-se para valores de produtividade (sc/ha).

O acompanhamento de enfolhamento dos cafeeiros ocorreu pouco antes da colheita, nos dois anos de avaliação (2008 e 2009), por meio de uma escala de notas de 1 a 5, representando 0% a 20%, 21% a 40%, 41% a 60%, 61% a 80% e 81% a 100% de enfolhamento, respectivamente (Boldini, 2001).

2.6 Análise dos dados

Utilizou-se programa Sisvar versão 5.1 (Ferreira, 2000) para a análise estatística dos tratamentos. As médias entre os tratamentos foram comparadas pelo teste de F ($P < 0,05$). Verificadas diferenças significativas, estas foram comparadas pelo teste de Tukey.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Intensidade da ferrugem e cercosporiose do cafeeiro

Observa-se, pela Figura 1, diferença significativa para área abaixo da curva de progresso na incidência da ferrugem (AACPIF) do cafeeiro, no primeiro ano de avaliação da doença (2008). O fungicida ciproconazol + azoxystrobin aplicado sozinho promoveu o controle mais eficaz da doença, com 99% de redução da mesma, porém, não foi estatisticamente diferente dos tratamentos com o ASM, independente da época de aplicação do último. O ASM, quando aplicado sozinho, reduziu a área abaixo da curva de progresso da incidência em 18%.

Para a severidade da doença, percebe-se que o mesmo padrão de controle se mantém, quando se compara a área abaixo da curva de progresso da incidência e da severidade da ferrugem (Figura 1), mostrando diferenças significativas entre os tratamentos. O fungicida padrão ciproconazol + azoxystrobin promoveu o melhor controle da doença, chegando a 99% de redução (comportamento semelhante foi encontrado quando este passou a ser aplicado em mistura com o ASM). Esse resultado evidencia o fato de que o controle da doença se dá em virtude da aplicação do fungicida. O tratamento com ASM pulverizado sozinho promoveu controle intermediário da doença, com 23% de redução da área abaixo da curva de progresso da severidade da ferrugem (AACPSF), sendo estatisticamente diferente da testemunha.

O progresso da ferrugem do cafeeiro, no ano de 2008, ocorreu entre os meses de março e outubro, com picos em junho e julho (Figura 2). O tratamento ASM sozinho atrasou em um mês o ponto de inflexão da curva, bem como o pico da doença. Os demais tratamentos promoveram o controle da doença, confinando-a próximo de 0% de incidência e severidade ao longo do período (Figura 2).

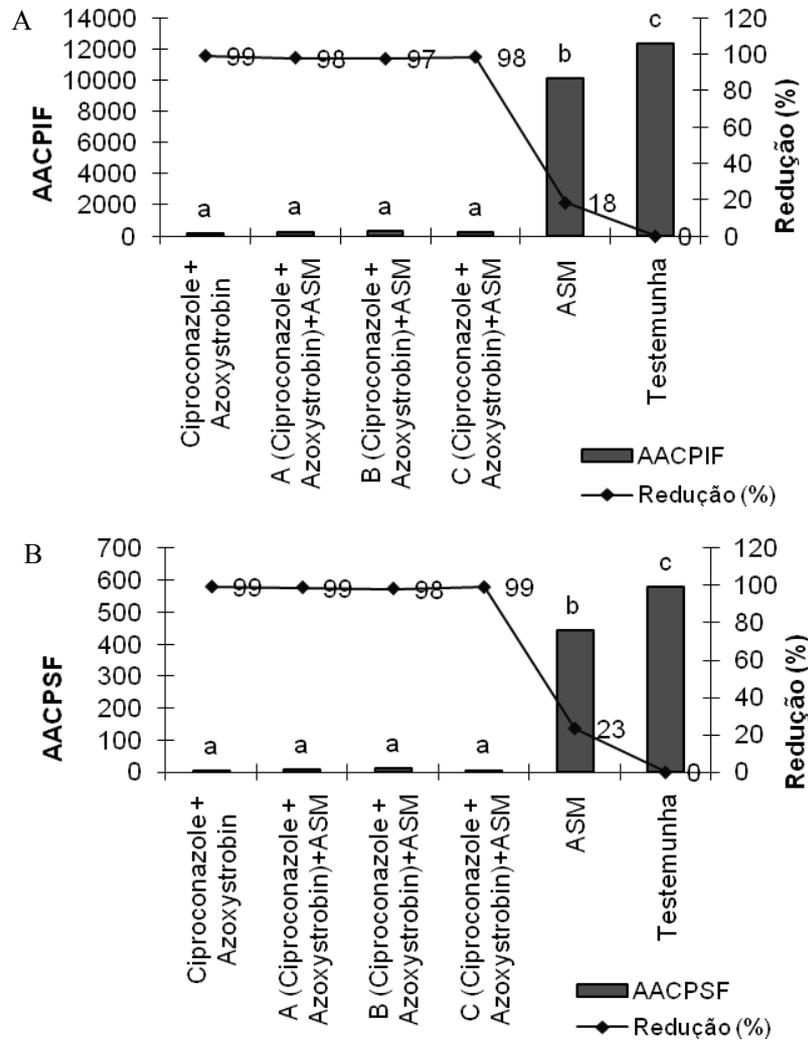


FIGURA 1 Efeito de fungicida e ASM na redução e na área abaixo da curva do progresso da incidência (AACPIF), em “A” e da severidade (AACPSF), em “B”, da ferrugem em cafeeiro cultivar Mundo Novo, no ano de 2008. Tratamentos: ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abril de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) + ASM (25g/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (750 ml/ha) – dez. 2007 e 2008 e março de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; testemunha. Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

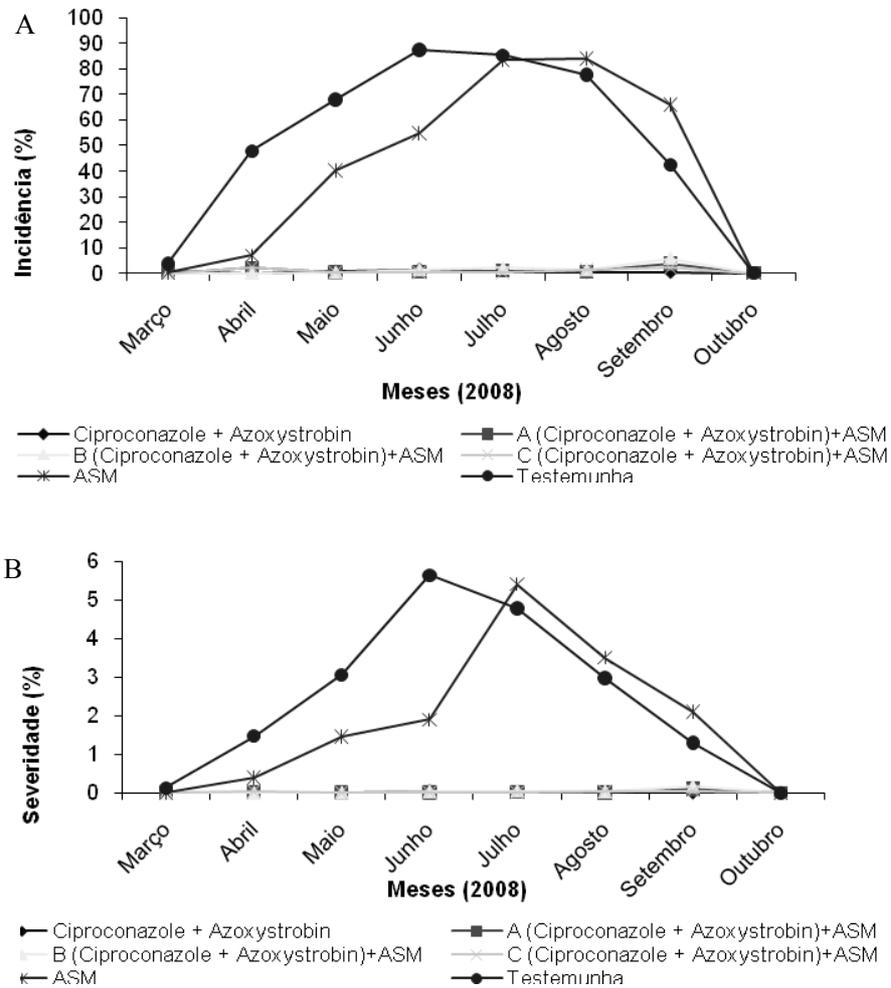


FIGURA 2 Efeito de fungicida e ASM na curva de progresso da incidência (A) e da severidade (B) da ferrugem do cafeeiro cultivar Mundo Novo, no ano de 2008. Tratamentos: ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abril de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) + ASM (25g/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (750 ml/ha) – dez. 2007 e 2008 e março de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; testemunha.

Para o ano seguinte de avaliação, observou-se diferença significativa entre os tratamentos para a área abaixo da curva de progresso de incidência da ferrugem (AACPIF) (Figura 3). O tratamento ASM promoveu redução de 84% da doença, quando se comparado à testemunha. Os demais tratamentos reduziram a incidência da doença entre 89% a 96%.

Neste mesmo ano, para severidade da ferrugem, constatou-se que existiu diferença significativa entre os tratamentos, tendo todos obtido resultados estatisticamente semelhantes, quando comparados à testemunha absoluta (Figura 3). Há de se salientar que o tratamento ASM mostrou-se tão eficiente quanto os demais, nos quais o fungicida foi utilizado, reduzindo a área abaixo da curva de progresso da severidade da doença (AACPSF) em até 85% (Figura 3).

Observa-se, na curva de progresso da incidência e da severidade da ferrugem, para o ano de 2009, que o pico máximo da doença ocorreu no mês de março (Figura 4). Esse comportamento foi seguido por todos os tratamentos.

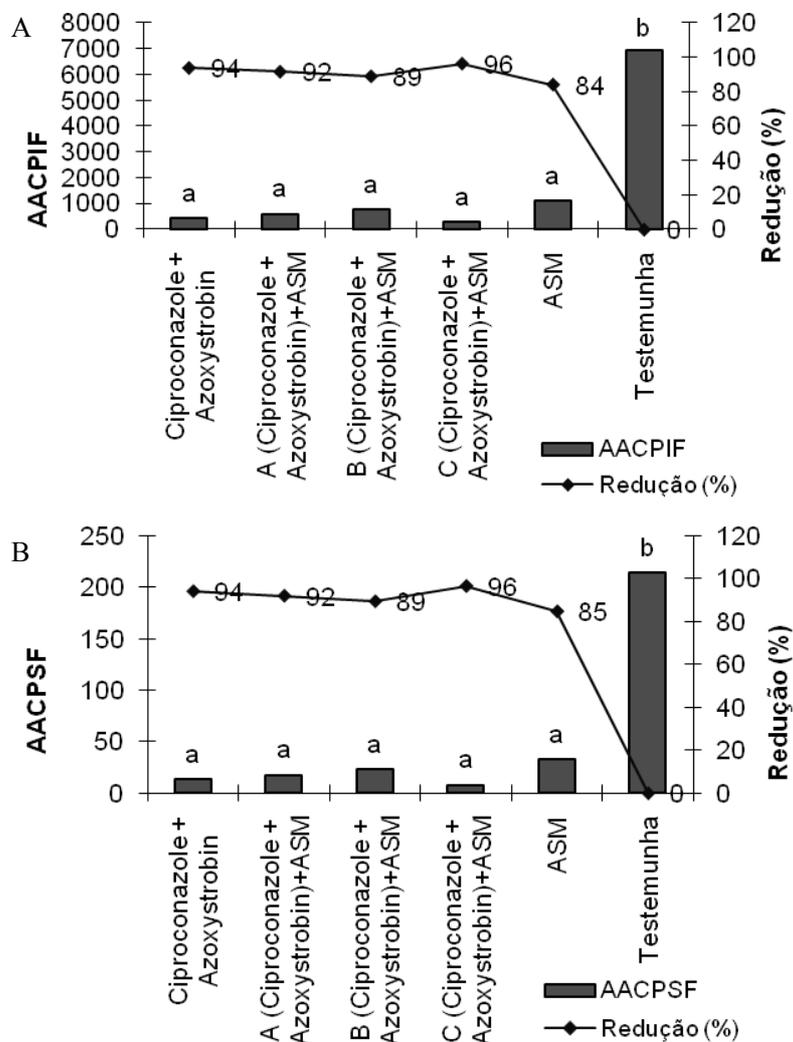


FIGURA 3 Efeito de fungicida e ASM na redução e na área abaixo da curva do progresso da incidência (AACPIF), em “A” e da severidade (AACPSF), em “B”, da ferrugem em cafeeiro cultivar Mundo Novo, no ano de 2009. Tratamentos: ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abril de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) + ASM (25g/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (750 ml/ha) – dez. 2007 e 2008 e março de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; testemunha. Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

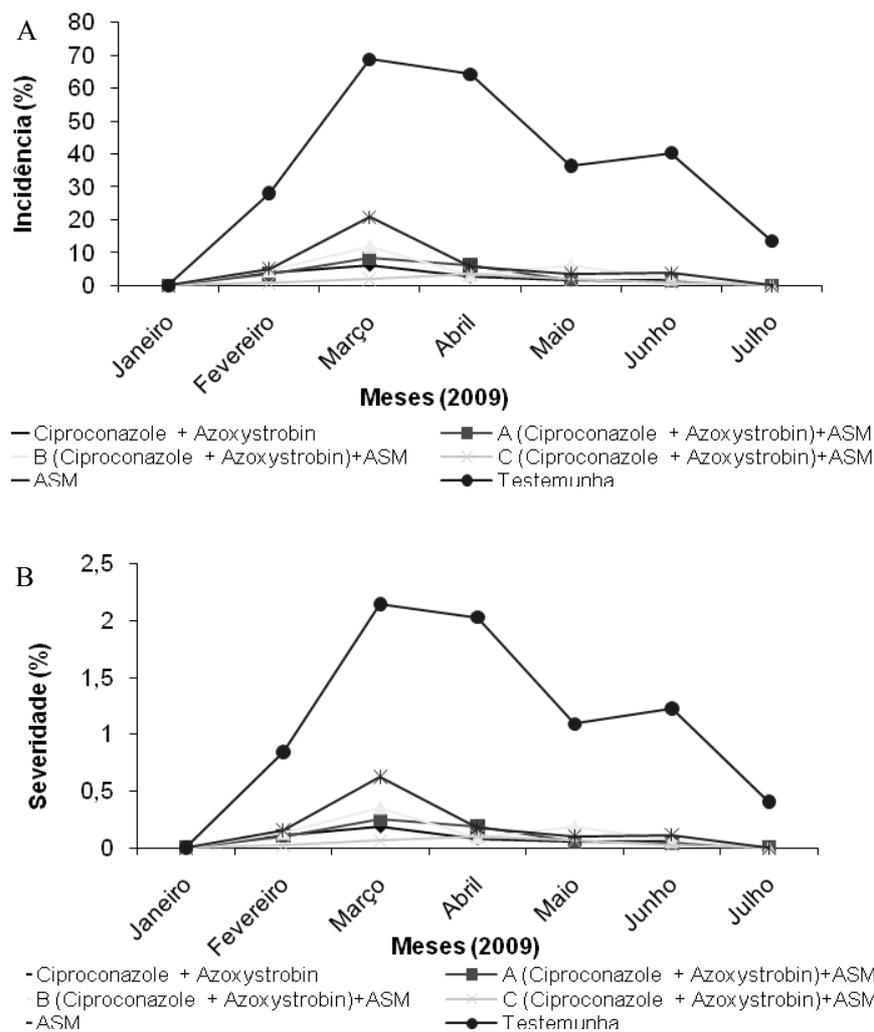


FIGURA 4 Efeito de fungicida e ASM na curva de progresso da incidência (A) e da severidade (B) da ferrugem do cafeeiro cultivar Mundo Novo, no ano de 2009. Tratamentos: ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abril de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) + ASM (25g/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (750 ml/ha) – dez. 2007 e 2008 e março de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; testemunha. (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; testemunha.

Para a cercosporiose do cafeeiro, pôde-se constatar que houve diferença significativa entre os tratamentos no primeiro ano de avaliação. Os tratamentos que proporcionaram maior redução da área abaixo da curva de progresso da incidência da doença (AACPIC) foram aqueles com o fungicida ciproconazol + azoxystrobin, sozinho ou associado com o ASM, promovendo redução entre 73% e 79% de sua incidência (Figura 5). O tratamento ASM, quando utilizado sozinho, mostrou redução de 9% na incidência, mas não diferiu da testemunha.

Comportamento semelhante foi observado para área abaixo da curva de progresso da severidade da cercosporiose (AACPSC). Os tratamentos com o fungicida foram os que promoveram a maior taxa de redução da severidade da doença, com 74% a 79% de redução, isolados ou associados ao ASM (Figura 5). Novamente, o tratamento ASM mostrou-se insatisfatório na redução da severidade da doença, equiparando-se estatisticamente à testemunha (Figura 5).

Observa-se, pelas curvas de progresso de incidência e de severidade da cercosporiose, no ano de 2008, que estas se intensificaram a partir do mês de março, com picos nos meses de agosto e setembro. Esse comportamento foi seguido por todos os tratamentos (Figura 6).

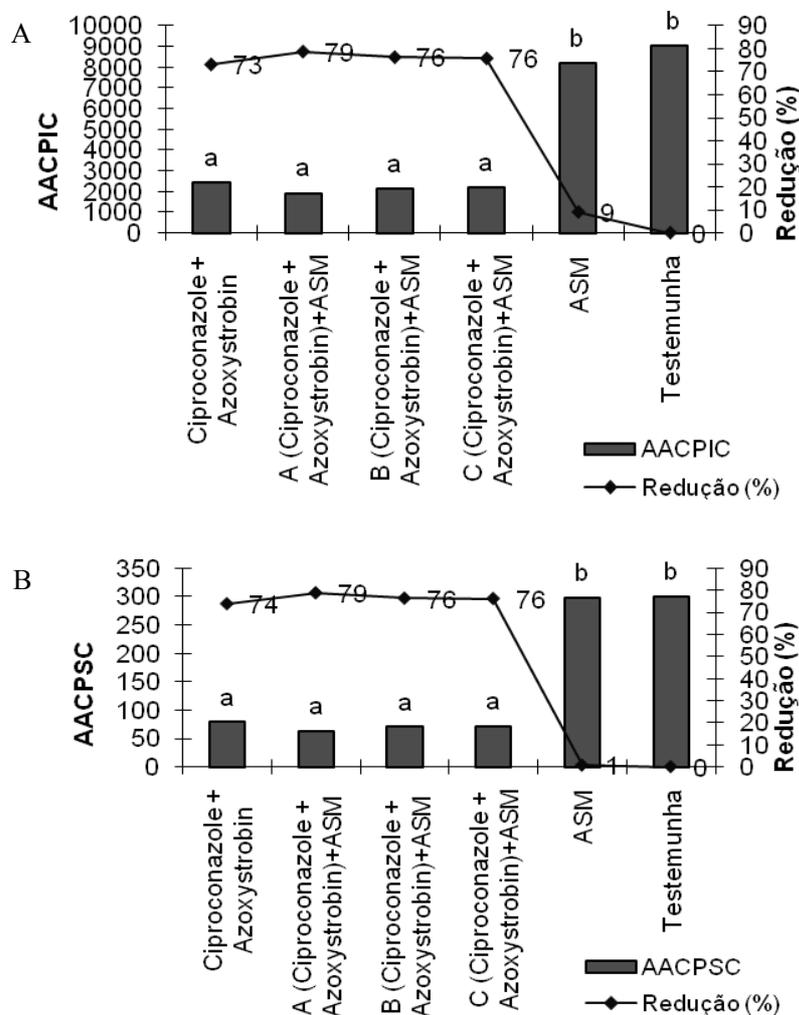


FIGURA 5 Efeito de fungicida e ASM na redução e na área abaixo da curva do progresso da incidência (AACPIC), em “A” e da severidade (AACPSC), em “B”, da cercosporiose em cafeeiro cultivar Mundo Novo, no ano de 2008. Tratamentos: ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abril de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) + ASM (25g/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (750 ml/ha) – dez. 2007 e 2008 e março de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; testemunha. Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

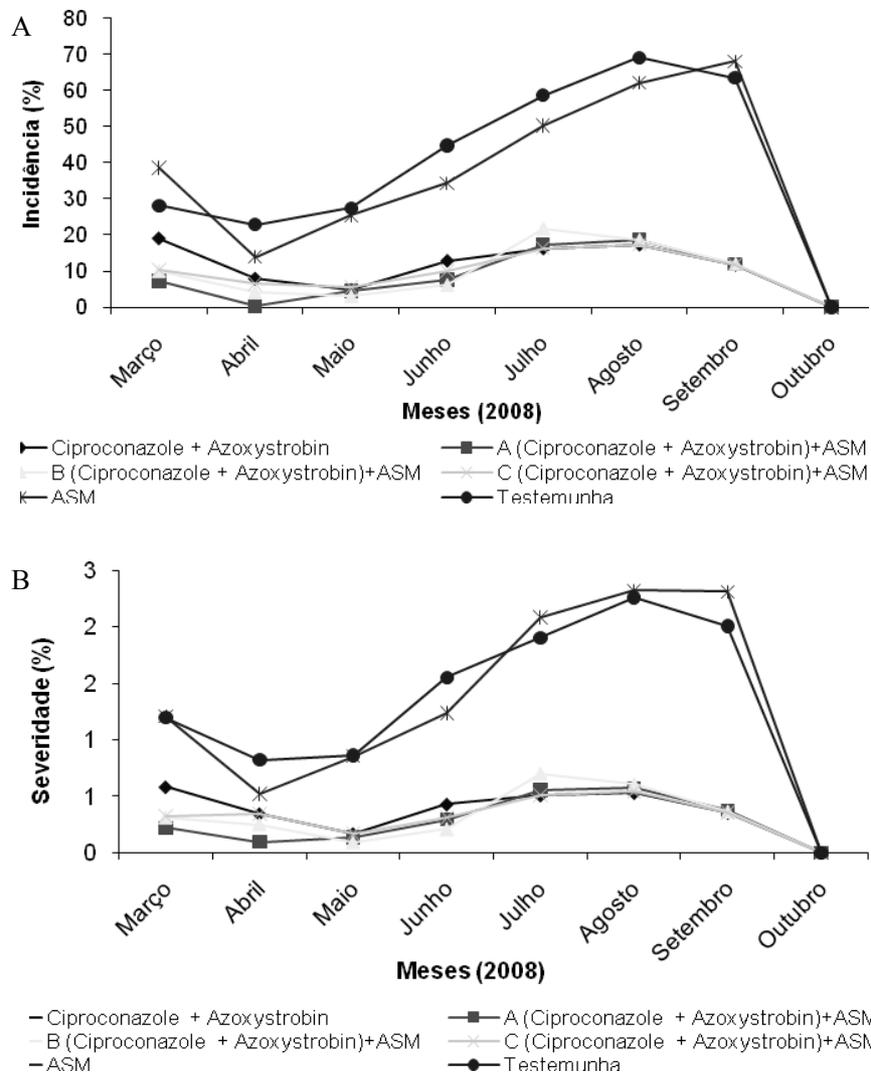


FIGURA 6 Efeito de fungicida e ASM na curva de progresso da incidência (A) e da severidade (B) da cercosporiose do cafeeiro cultivar Mundo Novo, no ano de 2008. Tratamentos: ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abril de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) + ASM (25g/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (750 ml/ha) – dez. 2007 e 2008 e março de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; testemunha.

Em 2009, observou-se comportamento diferente, tanto na incidência quanto na severidade da doença. Houve diferença significativa entre os tratamentos para área abaixo da curva de progresso da incidência da doença (AACPIC). Os tratamentos com utilização do fungicida ciproconazol + azoxystrobin promoveram controle superior, com redução de 89% a 94%. O tratamento ASM, aplicado isoladamente, mostrou controle intermediário, com redução da incidência da doença em 77% (Figura 7).

Comportamento semelhante à incidência foi observado na severidade da doença, com redução entre 89% e 95% na área abaixo da curva de progresso da severidade da cercosporiose (AACPSC) para os tratamentos fungicidas, sozinhos ou em associação com o ASM e de 77% para o tratamento ASM (Figura 7).

As curvas de progresso da incidência e de severidade da cercosporiose, para o ano de 2009, tiveram o mesmo padrão para todos os tratamentos menos a testemunha, com início da doença a partir do mês de janeiro e declínio a partir do mês de maio. O progresso da doença para o tratamento testemunha apresentou dois picos, sendo o primeiro no mês de março e segundo em junho (Figura 8).

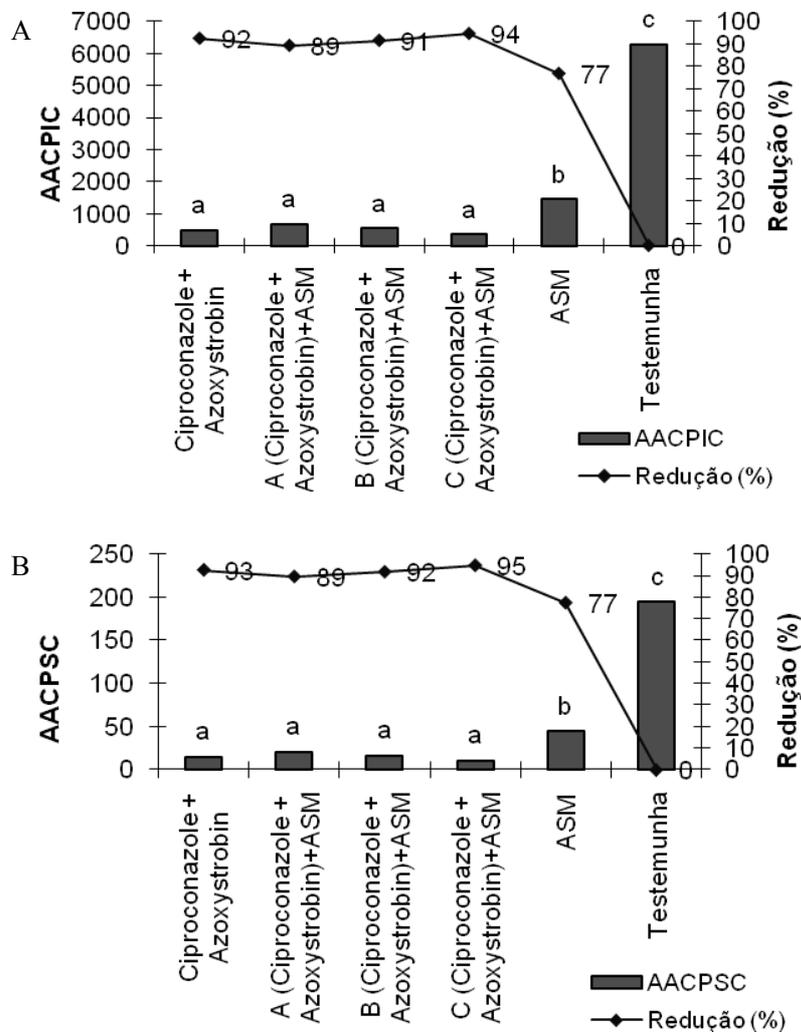


FIGURA 7 Efeito de fungicida e ASM na redução e na área abaixo da curva do progresso da incidência (AACPIC), em “A” e da severidade (AACPSC), em “B”, da cercosporiose em cafeeiro cultivar Mundo Novo, no ano de 2009. Tratamentos: ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abril de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) + ASM (25g/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (750 ml/ha) – dez. 2007 e 2008 e março de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; testemunha. Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Tukey($P \leq 0,05$).

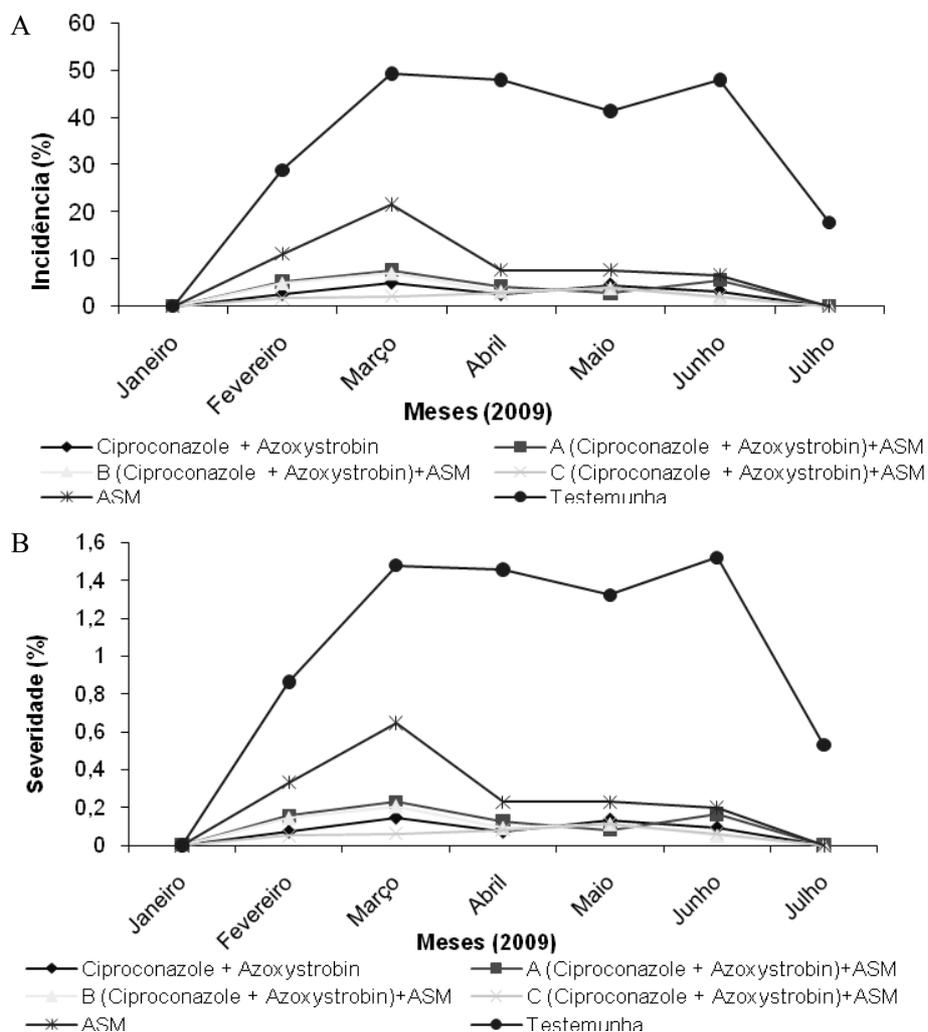


FIGURA 8 Efeito de fungicida e ASM na curva de progresso da incidência (A) e da severidade (B) da cercosporiose do cafeeiro cultivar Mundo Novo, no ano de 2009. Tratamentos: ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abril de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) + ASM (25g/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (750 ml/ha) – dez. 2007 e 2008 e março de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; testemunha.

Com o decorrer do ensaio de campo, não foram verificados sintomas de toxidez em virtude da dose de ASM utilizada nas aplicações. Uma vez que os resultados mostrados pelo ativador foram satisfatórios, principalmente em ano de carga baixa, pode-se inferir que a dose de 25 g/ha do produto foi suficiente. No entanto, outros ensaios com doses maiores e diferentes épocas de aplicação podem ainda ser feitos, a fim de ajustá-los, principalmente para anos de alta carga pendente. O mesmo foi verificado nas aplicações do fungicida ciproconazol + azoxystrobin na dosagem de 750 ml/ha, não acarretando dano algum às plantas de cafeeiro.

Para o primeiro ano de avaliação (2008), foi observado que o ASM aplicado sozinho, mesmo apresentando certo controle da ferrugem, não foi tão satisfatório quanto os demais tratamentos, nos quais o fungicida ciproconazol + azoxystrobin foi utilizado. Sabe-se, porém, que este foi um ano de elevada carga pendente, o que corroborou para o efeito insatisfatório do ativador. Resultado semelhante foi encontrado para a cercosporiose e, neste caso, o ASM não diferiu estatisticamente da testemunha.

No segundo ano de avaliação (2009), para a cercosporiose do cafeeiro, o ASM mostrou-se eficaz na redução da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), com nível de 77% de redução. Tal resultado foi estatisticamente inferior ao obtido pelo fungicida, mas superior ao tratamento controle (testemunha). Para a ferrugem, o indutor mostrou-se tão eficiente quanto o fungicida, chegando a níveis de redução da doença de até 85%, não diferindo estatisticamente dos tratamentos nos quais este último foi utilizado. Dados como esses corroboram o fato de que a *systemic acquired resistance* (SAR) é mais eficiente para fungos biotróficos, como o caso da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) que para fungos necrotróficos, como a cercosporiose do café (*Cercospora coffeicola*) (Pieterse, 2001).

Guzzo (2001), utilizando o ASM em mudas de cafeeiro cultivar Mundo Novo em casa de vegetação, obteve redução de até 97% no número de lesões ocasionadas por ferrugem, na concentração de 400 ppm do produto. Um efeito protetor de 90% persistindo por até 10 semanas também foi verificado pelo mesmo autor. Resultados como este reforçam o fato de o indutor ASM ter se comportado de maneira tão satisfatória no controle da doença em campo, principalmente no ano de 2009.

Patrício et al. (2008) observaram, em experimento de casa de vegetação, que fungicidas à base de estrobilurinas foram mais eficazes no controle da cercosporiose em mudas de cafeeiro do que os demais. O mesmo foi observado por Anesiadis et al. (2003) e Karadimos et al. (2005), trabalhando com o patossistema *Cercospora beticola-Beta vulgaris*. Resultados como esses, aliados aos do presente experimento, mostram que pelo menos uma aplicação do fungicida azoxystrobin poderia ser utilizada em anos de baixa carga pendente.

Pelos resultados apresentados, tanto para ferrugem quanto para cercosporiose, ficou evidente que a associação entre o ativador ASM e o fungicida ciproconazol + azoxystrobin não promoveu um acréscimo no controle das doenças do cafeeiro em campo. No primeiro ano de avaliação (2008), ano de alta carga pendente, o tratamento ASM promoveu ligeiro controle da ferrugem e praticamente nulo da cercosporiose. Em contrapartida, o tratamento com o fungicida ciproconazol + azoxystrobin, aplicado sem nenhuma associação com o indutor, foi altamente eficiente no controle das doenças. Quando houve a associação entre ambos, verificou-se que existiu o eficiente controle, porém, analisando-se os resultados dos produtos, ao serem aplicados à parte, infere-se que esse efeito foi promovido pelo ciproconazol + azoxystrobin aplicado isoladamente.

Resultado semelhante foi obtido por Patrício et al. (2008), trabalhando com o patossistema *Coffea arabica-Cercospora coffeicola*, que não verificaram

nenhum efeito adicional ao associar o ASM ao oxicloreto de cobre para o controle da doença. Isso mostra que, para anos de alta carga pendente, quando a força de dreno da planta para o enchimento dos frutos é elevada, predispondo-a mais facilmente ao ataque de doenças, a aplicação do fungicida é mais recomendável.

Baseando-se nesses resultados, observou-se que duas aplicações do fungicida, na dosagem 750 ml/ha, mostraram-se tão eficientes quanto três aplicações do mesmo fungicida na dosagem de 500 ml/ha. A primeira situação é mais interessante, pois reduz o número de operações a serem feitas na lavoura, diminuindo gastos com combustível e mão-de-obra, além de menor exposição do trabalhador a moléculas tóxicas e compactação do solo.

3.2 Enfolhamento e produção do cafeeiro

Em relação ao enfolhamento do cafeeiro para o ano de 2008, observou-se que houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 2). Todos os tratamentos em que houve utilização do fungicida ciproconazol + azoxystrobin mostraram-se mais enfolhados que a testemunha e o tratamento ASM. Para o ano subsequente, não foi observada diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 2).

Para a produção do cafeeiro, observa-se que, para o ano de 2008, não houve diferença significativa entre os tratamentos. Em contrapartida, para o ano de 2009, os tratamentos ASM e testemunha foram menos produtivos que os demais, diferindo estatisticamente dos demais.

TABELA 2 Efeito dos tratamentos no enfolhamento e na produção do cafeeiro cultivar Mundo Novo, em dois anos de avaliação (2008 e 2009)

Tratamentos*	Enfolhamento (%)		Produção (sacas/ha)	
	2 008	2009	2008	2009
ciproconazol + azoxystrobin	89,2 a**	92,3 a	72,8 a	19,8 a
A (ciproconazole + azoxystrobin) + ASM	91,7 a	93,6 a	71,4 a	19,8 a
B (ciproconazole + azoxystrobin) + ASM	94,2 a	92,7 a	75,1 a	23,9 a
C (ciproconazole + azoxystrobin) + ASM	94,2 a	94,1 a	71,5 a	21,5 a
ASM	44,8 b	91,3 a	74,7 a	10,3 b
Testemunha	48,3 b	89,2 a	71,1 a	10,2 b

* Tratamentos: ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abril de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) + ASM (25g/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (500 ml/ha) – dez. 2007 e 2008, fev./abr. de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; ciproconazol+azoxystrobin (750 ml/ha) – dez. 2007 e 2008 e março de 2008 e 2009 + ASM (25 g/ha) – dez. 2007 e 2008, jan./fev./mar./abr. de 2008 e 2009; testemunha.

**Médias com mesma letra não diferem, pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)

Os resultados apresentados, tanto para enfolhamento quanto para produção do cafeeiro, nos dois anos de avaliação, podem ser facilmente explicados. No primeiro ano de avaliação, não houvesse significativa diferença para produtividade entre os tratamentos, pois esta reflete os tratos culturais dados no ano anterior, antes de iniciados os trabalhos na área. Quando foi feita a primeira aplicação dos tratamentos (dezembro de 2007), a produção da lavoura já estava definida, pois, nessa época, o café já estava em início da granação (fase de expansão dos frutos – F2) e certamente não refletiria diferença entre os tratamentos na produção daquele ano (2008).

Em contrapartida, para o ano de 2009, as diferenças entre os tratamentos ficaram evidentes, uma vez que estas foram reflexos de dois anos seguidos de aplicação, de forma que o segundo ano de produção foi reflexo das primeiras pulverizações feitas no ano de 2007/2008, quando já havia sido instalado o ensaio na área.

Quanto ao enfolhamento do cafeeiro, observou-se que, no ano de 2008, quando a carga pendente foi alta, a força de dreno da planta para os frutos, aliada à alta pressão de inóculo na área, fez com que houvesse maior grau de desfolha nos tratamentos mais prejudicados pela ferrugem e cercosporiose, neste caso, o tratamento ASM e a testemunha. Esta desfolha acentuada nesses tratamentos resultou em menor produção para os mesmos no ano subsequente (2009) com diferença significativa (Tabela 3). A produção é reduzida sob alta intensidade das doenças, a exemplo da ferrugem do cafeeiro (Kushalappa & Eskes, 1989), afetando desde a formação dos botões florais, consequência da intensa queda de folhas do ciclo anterior da doença. A cercosporiose, além de promover a desfolha, leva à queda prematura de frutos e à perda no rendimento, prejudicando a safra (Echandi, 1959).

Tal fato pode ser explicado, uma vez que as plantas desses tratamentos que sofreram acentuada desfolha tiveram maior gasto metabólico e energético para poderem se restabelecer para o próximo ano, na emissão de novos ramos plagiotrópicos, no crescimento de ramos e na formação de folhas e raízes. Estas últimas foram altamente prejudicadas pela desfolha, pois sabe-se que há estreita relação entre a área foliar e a radicular de uma planta, de modo que o decréscimo da primeira acarreta também diminuição da segunda.

4 CONCLUSÃO

Em anos de alta carga pendente, o ativador de plantas ASM não foi eficaz no controle da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro.

O fungicida ciproconazol + azoxystrobin, utilizado na dose de 750 mL/ha e duas aplicações (janeiro e março), foi eficaz no controle da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro, não causando toxidez às plantas.

O ASM promoveu controle satisfatório da ferrugem e cercosporiose do cafeeiro em ano de baixa carga pendente, podendo ser indicado para tal fim nessa situação.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANESIADIS, T.; KARAOGLANIDIS, G. S.; TZAVELLA-KLONARI, K. Protective, curative and eradicator activity of the strobilurin fungicide azoxystrobin against *Cercospora beticola* and *Erysiphe betae*. **Plant Pathology: a record of current work on plant diseases and pest in British Isles**, Oxford, v. 151, n. 11, p. 647–651, Dec. 2003.
- BENHAMOU, N.; BÉLANGER, R. R. Benzothiadiazole-mediated induced resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato. **Plant Physiology**, Rockville, v. 118, n. 4, p. 1203-1212, Apr. 1998.
- BOLDINI, J. M. **Epidemiologia da ferrugem e da cercosporiose em cafeeiro irrigado e fertirrigado**. 2001. 67 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- CUNHA, R. L.; POZZA, E. A.; DIAS, W. P.; BARRETTI, P. B. Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para avaliar a severidade da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do cafeeiro. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Vitória. **Resumos...** Vitória: Embrapa Café, 2001. p. 77-78.
- ECHANDI, E. La chasparria de los cafetos causada por el hongo *Cercospora coffeicola*, Berk & Cooke. **Turrialba**, San José, v. 9, n. 2, p. 54-67, abr./jun. 1959.
- FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2000. p. 255-258.
- FRIEDRICH, L.; LAWTON, K.; RUESS, W.; MASNER, P.; SPECKER, N.; GUTRELLA, M.; MEIER, B.; DINCHER, S.; STAUB, T.; UKNES, S.; MÉTRAUX, J.-P.; KESSMANN, H.; RYALS, J. A benzothiadiazole derivative induces systemic acquired resistance in tobacco. **Plant Journal: for cell and molecular biology**, Oxford, v. 10, n. 1, p. 61-70, Jan. 1996.

GÖRLACH, J.; VOLRATH, S.; KNAUF-BEITER, G.; HENGY, G.; BECKHOVE, U.; KOGEL, K.H.; OOSTENDORP, M.; STAUB, T.; WARD, E.; KESSMANN, H.; RYALS, J. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. **The Plant Cell**, Baltimore, v. 8, n. 4, p. 629-643, Apr. 1996.

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

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

GUZZO, S. D.; HARAKAWA, R.; LUCON, C. M. M.; TSAI, S. M. Resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e indução local e sistêmica de quitinases e β -1,3-glucanases por acibenzolar-S-metil. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 30, n. 3, p. 376-381, July/Sept. 2004.

KARADIMOS, D. A.; KARAOGLANIDIS, G. S.; TZAVELLA-KLONARI, K. Biological activity and physical modes of action of the Qo inhibitor fungicides trifloxystrobin and pyraclostrobin against *Cercospora beticola*. **Crop Protection**, Guildford, v. 24, n. 1, p. 23-29, Jan./Mar. 2005.

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

KUSHALAPPA, A. C.; ESKES, A. B. Advances in coffee rust research. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 27, n. 1, p. 503-531, Dec. 1989.

LAWTON, K.; FRIEDRICH, L.; HUNT, M.; WEYMANN, K.; DELANEY, T.; KESSMANN, H.; STAUB, T.; RYALS, J. Benzothiadiazole induces disease resistance in *Arabidopsis* by activation of the systemic acquired resistance signal transduction pathway. **Plant Journal: for cell and molecular biology**, Oxford, v. 10, n. 1, p. 71-82, Jan. 1996.

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

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

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

PATRÍCIO, F. R. A.; ALMEIDA, I. M. G.; BARROS, B. C.; SANTOS, A. S.; FRARE, P. M. Effectiveness of acibenzolar-*S*-methyl, fungicides and antibiotics for the control of brown eye spot, bacterial blight, brown leaf spot and coffee rust in coffee. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 152, p. 29-39, Jan. 2007.

PIETERSE, C. M. J.; TON, J.; VAN LOON, L. C. Cross-talk between plant defense signaling pathways: boost or burden? **AgBiotechNet**, Utrecht, v. 3, June 2001. Disponível em: < <http://www.bio.uu.nl/~fytopath/PDF%20files/Agbiotechnet-Pieterse-2001.pdf> >. Acesso em: 15 jun. 2009.

RUESS, W.; KUNZ, W.; STAUB, T.; MÜLLER, K.; POPPINGER, N.; SPEICH, J.; AHL GOY, P. Plant Activator CGA 245704, a new technology for disease management. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 101, p. 424, 1995. Supplement.

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

VEGRO, C. L. R.; FERREIRA, C. R. R. P. T. Evolução das despesas com defensivos agrícolas e fertilizantes para a safra de café 2000/01 nos estados de São Paulo e Paraná. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 53-59, 2000.

CAPÍTULO 3

EFEITO DIRETO DE FUNGICIDA E INDUTORES ABIÓTICOS NA GERMINAÇÃO DE UREDINIÓSPOROS DE *HEMILEIA VASTATRIX*

1 INTRODUÇÃO

A ferrugem do cafeeiro é tida como a doença de maior importância para a cultura. Sabe-se que o seu controle compõe de 10% a 20% do custo de produção da lavoura cafeeira (Vegro & Ferreira, 200) e, até o momento, o controle químico ainda é tido como mais eficiente. No entanto, a utilização de produtos diferenciados como indutores de resistência tem surgido como uma alternativa viável para tal.

O acibenzolar-S-metil, comercialmente conhecido por Bion® (Syngenta Proteção de Cultivos), foi o primeiro produto lançado no mercado como indutor de resistência. O ASM atua nas plantas ativando rotas metabólicas mediadas pelo ácido salicílico (resistência sistêmica adquirida - RSA), despertando mecanismos antes latentes, mas que passam a proteger naturalmente as plantas contra o ataque de patógenos. De forma análoga atuam os fosfitos, porém, os mesmos são comercializados como fertilizantes foliares.

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

Amaral (2008) mostrou que a utilização de formulação à base de extrato de folhas de café aumentou a atividade das proteínas PR, peroxidase, quitinase e β 1, 3 glucanase, além de aumentar os teores de fenóis totais em folhas de cafeeiro contra *Cercospora coffeicola*. Resultado semelhante foi obtido por

Toyota (2008) e Ribeiro Júnior (2008), porém, trabalhando com produtos à base de fosfitos.

Embora as respostas bioquímicas dadas pelas plantas após utilização dos indutores já estejam bem elucidadas, deve-se evidenciar melhor a atividade destes diretamente sobre os patógenos. Para isso, testes *in vitro* e o uso da microscopia eletrônica de varredura se fazem necessários.

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de estudar o efeito direto de fosfitos, fungicida e Acibenzolar-S-metil sobre a germinação de urediniósporos de *Hemileia vastatrix in vitro* e observar, por meio da microscopia eletrônica de varredura, os efeitos desses sobre a germinação e o desenvolvimento do fungo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção do inóculo de *Hemileia vastatrix*

Urediniósporos de *H. vastatrix* foram coletados a partir de lesões em folhas de cafeeiros infectados naturalmente em condições de campo, na região de Lavras, MG. A coleta foi realizada por meio da raspagem dos urediniósporos das lesões com pincel de cerdas macias, em seguida armazenados em dessecador, à temperatura de 5°C e umidade relativa em torno de 50% (Zambolim & Chaves, 1974; Eskes, 1983; Abreu, 1988), até a realização do experimento *in vitro* e inoculação das mudas para estudo histopatológico.

2.2 Efeito direto *in vitro* de fosfitos, fungicida e ASM sobre a germinação de urediniósporos de *Hemileia vastatrix*

2.2.1 Instalação do experimento e delineamento experimental

Para a realização do teste *in vitro*, foram utilizados os seguintes tratamentos: acibenzolar-S-metil ($6,25 \times 10^{-2} \text{ g.L}^{-1}$), ciproconazol + azoxystrobin ($1,25 \text{ mL.L}^{-1}$), fosfito de zinco (5 mL.L^{-1}), fosfito de manganês (5 mL.L^{-1}) e uma testemunha absoluta (água).

O teste de germinação foi montado em placas de Petri de 6 cm de diâmetro, contendo 10mL de meio ágar-água 2%. Os tratamentos foram espalhados em cada placa e, sobre o meio, foram depositados 50 μ L da suspensão de urediniósporos de *H. vastatrix*, os quais foram espalhados com alça de Drigalski. Acondicionaram-se as placas em BOD, a 25°C, permanecendo por 12 horas, com regime de 6 horas de claro e 6 horas de escuro. Após o período de incubação, utilizou-se solução de lactoglicerol para paralisar a germinação dos urediniósporos até sua contagem.

As avaliações foram realizadas após 12 horas de incubação, em microscópio de luz, em que foi avaliada a percentagem de germinação dos urediniósporos de *H. vastatrix*. O delineamento foi inteiramente casualizado, com doze repetições, sendo cada repetição constituída de um quadrante da placa, em que foram avaliados 50 urediniósporos por quadrante. Foram considerados germinados os urediniósporos com tubo germinativo maior que o comprimento do mesmo.

2.3 Estudo histopatológico de folhas destacadas de cafeeiro inoculadas com *Hemileia vastatrix*

2.3.1 Instalação do experimento e inoculação

Foram utilizadas mudas de café com seis meses de idade, cultivadas em bandejas com substrato Plantmax®, as quais foram submetidas aos seguintes tratamentos: acibenzolar-S-metil ($6,25 \times 10^{-2} \text{ g.L}^{-1}$), ciproconazol + azoxystrobin ($1,25 \text{ mL.L}^{-1}$), fosfito de zinco (5 mL.L^{-1}), fosfito de manganês (5 mL.L^{-1}) e uma testemunha absoluta.

Vinte e quatro horas após pulverização das mudas, foram coletadas seis folhas de cada tratamento, depois acomodadas em bandejas de plástico desinfestadas com álcool 70%. Foi colocada no fundo das bandejas uma esponja de látex em lâmina, umedecida com água destilada e coberta com papel alumínio perfurado, para permitir a passagem da umidade.

Em seguida, foram desenhados seis círculos de 1 cm de diâmetro com caneta de marca permanente na superfície abaxial de cada folha. No centro de cada círculo, foi colocada uma gota de $30 \mu\text{L}$ de suspensão de $1,5 \times 10^3$ urediniósporos. mL^{-1} de *H. vastatrix*. Após a inoculação, as bandejas foram cobertas com plástico transparente e colocadas em câmara de crescimento, a 25°C , até o final das coletas.

2.3.2 Coleta das amostras para microscopia

As coletas das amostras a serem observadas em microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram realizadas nos tempos de 24, 36, 48, 72, 96 e 120 horas após inoculação. As coletas foram feitas por meio de cortes circulares de 5 mm de diâmetro, realizados com bisturi, dentro de cada círculo em que foram inoculadas.

Os fragmentos foram colocados em microtubos de 1,5mL contendo fixador (Karnovsky's modificado) e, em seguida, armazenados em geladeira, a 4°C. O preparo e a observação das amostras em MEV foram realizados no Laboratório de Microscopia e Análise Ultraestrutural (LME), no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, em Lavras, MG.

2.3.3 Preparo das amostras para microscopia eletrônica de varredura

Após o material ter sido imerso em solução fixativa (Karnovsky's modificado), pH 7,2, por um período de no mínimo 24 horas, 8 fragmentos de cada tratamento foram transferidos para uma solução tampão de cacodilato 0,05M e lavados 3 vezes, durante 10 minutos. As secções foram transferidas para solução de tetróxido de ósmio 1,0% em água por 1 hora, lavadas em água destilada por 3 vezes e desidratadas em uma série de acetona (30%, 50%, 70%, 90% e 100%) por três vezes. Após essa desidratação, as amostras foram levadas ao aparelho de ponto crítico Balzers CPD 030 para substituição da acetona por CO₂ e complementação da secagem. Os espécimes obtidos foram montados em suportes de alumínio *stubs* com fita de carbono sobre uma película de papel alumínio e cobertos com ouro no evaporador Balzers SCD 050, para observação em microscópio eletrônico de varredura LEO EVO 40. As imagens foram geradas e registradas digitalmente, havendo diversas imagens para cada amostra nas condições de trabalho de 20Kv e distância de trabalho de 9mm. As imagens geradas foram gravadas e abertas no Software Photopaint do pacote Corel Draw 12.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeito direto *in vitro* de fosfitos, fungicida e ASM sobre a germinação de urediniósporos de *Hemileia vastatrix*

Pode-se observar, pelo gráfico da Figura 9, que os tratamentos: fungicida, fosfito de zinco e fosfito de manganês inibiram a germinação dos urediniósporos de *H. vastatrix*, levando a uma redução desta em 100%, 84% e 81%, respectivamente. O tratamento ASM inibiu a germinação dos urediniosporos em apenas 9% (Figura 9).

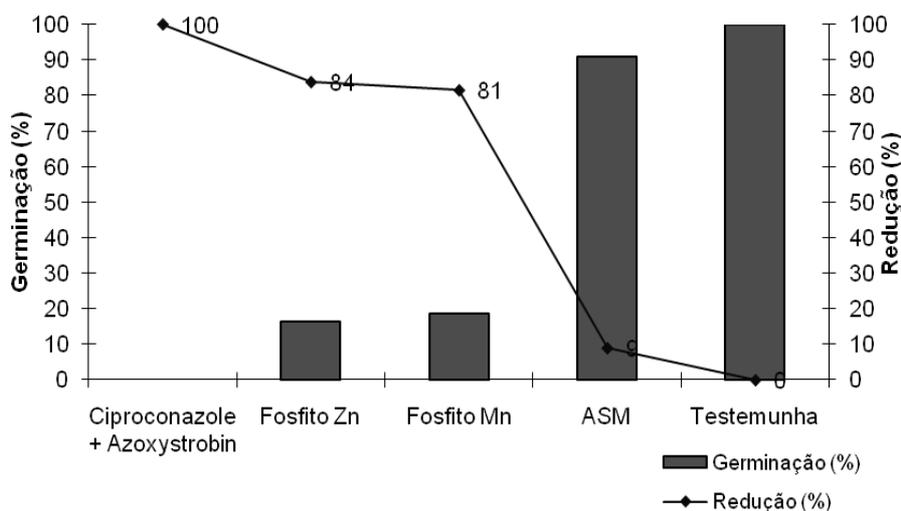


FIGURA 9 Efeito de fungicida, fosfitos e ASM na germinação de urediniósporos de *Hemileia vastatrix* em teste *in vitro*. Tratamentos: acibenzolar-S-metil ($6,25 \times 10^{-2} \text{ g.L}^{-1}$), ciproconazol + azoxytrobin ($1,25 \text{ mL.L}^{-1}$), fosfito de zinco (5 mL.L^{-1}), fosfito de manganês (5 mL.L^{-1}) e testemunha (água)

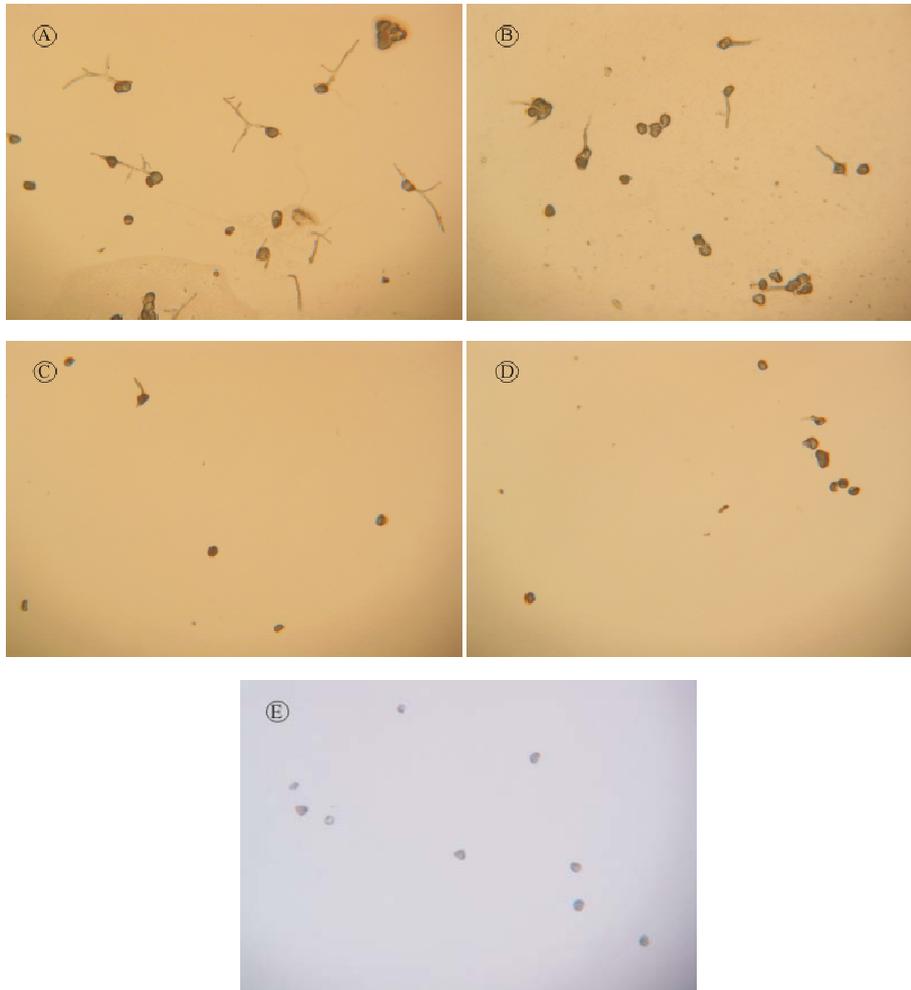


FIGURA 10 Efeito de fungicida, fosfitos e ASM na germinação de urediniósporos de *Hemileia vastatrix* em teste *in vitro*. Tratamentos: (A) testemunha (água); (B) acibenzolar-S-metil ($6,25 \times 10^{-2} \text{ g.L}^{-1}$); (C) fosfito de zinco (5 mL.L^{-1}); (D) fosfito de manganês (5 mL.L^{-1}); (E) ciproconazol + azoxystrobin ($1,25 \text{ mL.L}^{-1}$).

Ribeiro Júnior (2006), avaliando o efeito direto *in vitro* do fosfito de potássio sobre a germinação de conídios de *Verticillium dahliae*, constatou o mesmo efeito fungitóxico observado no presente trabalho, com germinação de 0% e 1%, nas doses 2,5 e 5,0 mL.L⁻¹, respectivamente, e de 67% no tratamento ASM (0,2 g.L⁻¹). Nojosa (2003), trabalhando com *Phoma costarricensis* em cafeeiro, observou que o fosfito de potássio, na dose 10 mL.L⁻¹, inibiu o crescimento micelial em 62% e, nas doses de 1,5 a 10 mL.L⁻¹, reduziu o comprimento do tubo germinativo em 32,6%, enquanto o fosetil-Al inibiu 100% do crescimento micelial nas doses de 2 a 4 g.L⁻¹.

Sabe-se que os fosfitos são produtos registrados como fertilizantes foliares, mas que também atuam contra os patógenos, seja de forma direta ou indireta. À medida que a aplicação de fosfitos faz com que a defesa antes latente na planta venha a ser ativada, induzindo-a a resistência, tem-se, então, seu efeito indireto. Já os resultados mostrados conferem aos fosfitos o referido efeito direto sobre o patógeno, uma vez que sua presença inibiu a germinação do fungo, etapa imprescindível para que este venha a colonizar e desenvolver-se no hospedeiro.

Para o ASM, tal efeito fungitóxico não foi observado como para os fosfitos. Patricio et al. (2008) obtiveram o mesmo resultado trabalhando com germinação de conídios de *C. coffeicola* *in vitro*. O indutor de resistência ASM, comercialmente conhecido por Bion® (Syngenta Proteção de Cultivos), é, atualmente, o único produto registrado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento como indutor de resistência em plantas. Sabe-se que o indutor de resistência deve agir como um eliciador, iniciando o processo para que mecanismos sejam ativados, a fim de proteger o hospedeiro contra uma ampla gama de patógenos, sendo esse seu objetivo principal. Isso faz do ASM um ativador de plantas por excelência, não agindo diretamente no desenvolvimento inicial do patógeno.

3.2 Estudo histopatológico do efeito da aplicação de fosfito, fungicida e ASM em folhas de cafeeiro inoculadas com *Hemileia vastatrix*

Observou-se comportamento semelhante entre os tratamentos ASM e testemunha, bem como para ciproconazol+azoxystrobin e fosfito de manganês. Para os primeiros, constatou-se que, a partir da primeira coleta, 24 horas após a inoculação, os uredíniosporos de *Hemileia vastatrix* já haviam germinado e não se constatou grande diferença visual para o tamanho do tubo germinativos destes para com os da última coleta feita, 120 horas após a inoculação (Figura 11 e 12). Em contrapartida, para os tratamentos ciproconazol+azoxystrobin e fosfito de manganês, observou-se germinação nula ou muito baixa dos uredíniosporos de *Hemileia vastatrix*, ao longo das coletas, respectivamente. Para o tratamento à base de fosfito, em que houve algum desenvolvimento do tubo germinativo, percebeu-se que tal desenvolvimento foi gradativo ao longo das coletas, de modo que o tratamento ocasionou certo atraso do seu crescimento (Figura 13). Os uredíniosporos observados no tratamento fungicida mostravam-se plasmolisados e com total ausência do desenvolvimento do tubo germinativo (Figura 14).

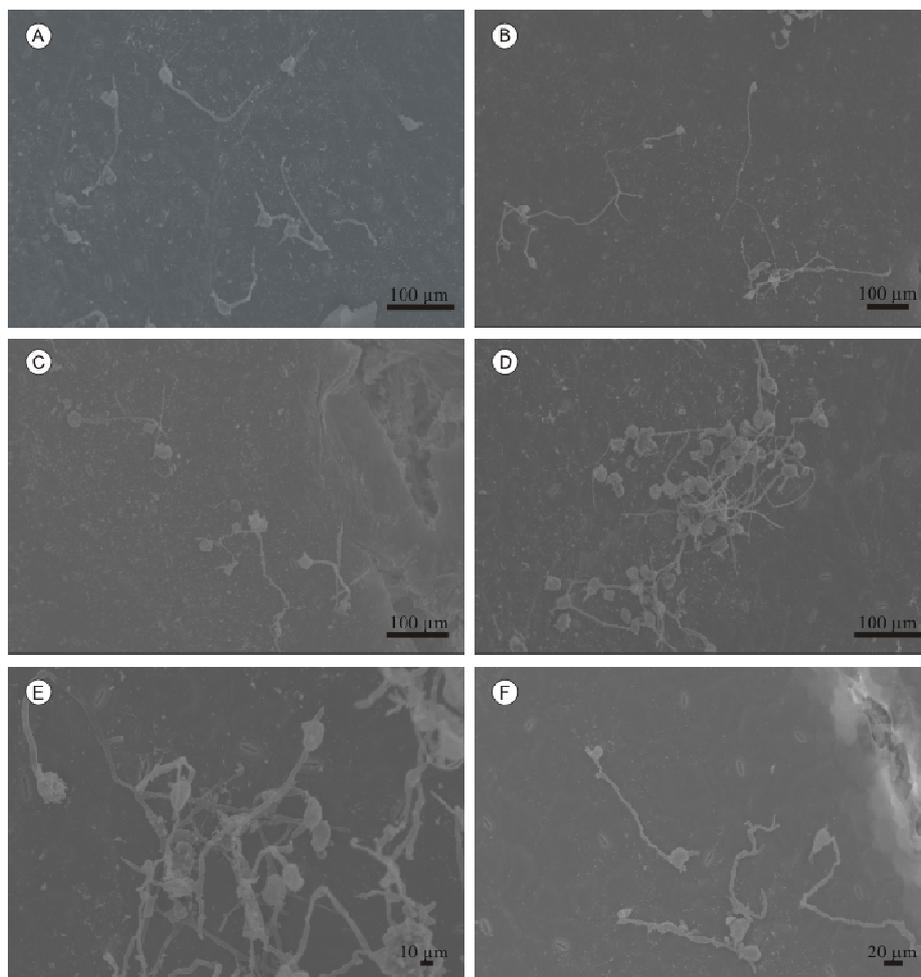


FIGURA 11 Eletromicrografia de varredura de folhas de cafeeiro não tratadas (testemunha – água) e inoculadas com *H. vastatrix*. (A) 24h; (B) 36h; (C) 48h; (D) 72h; (E) 96h e (F) 120h após inoculação.

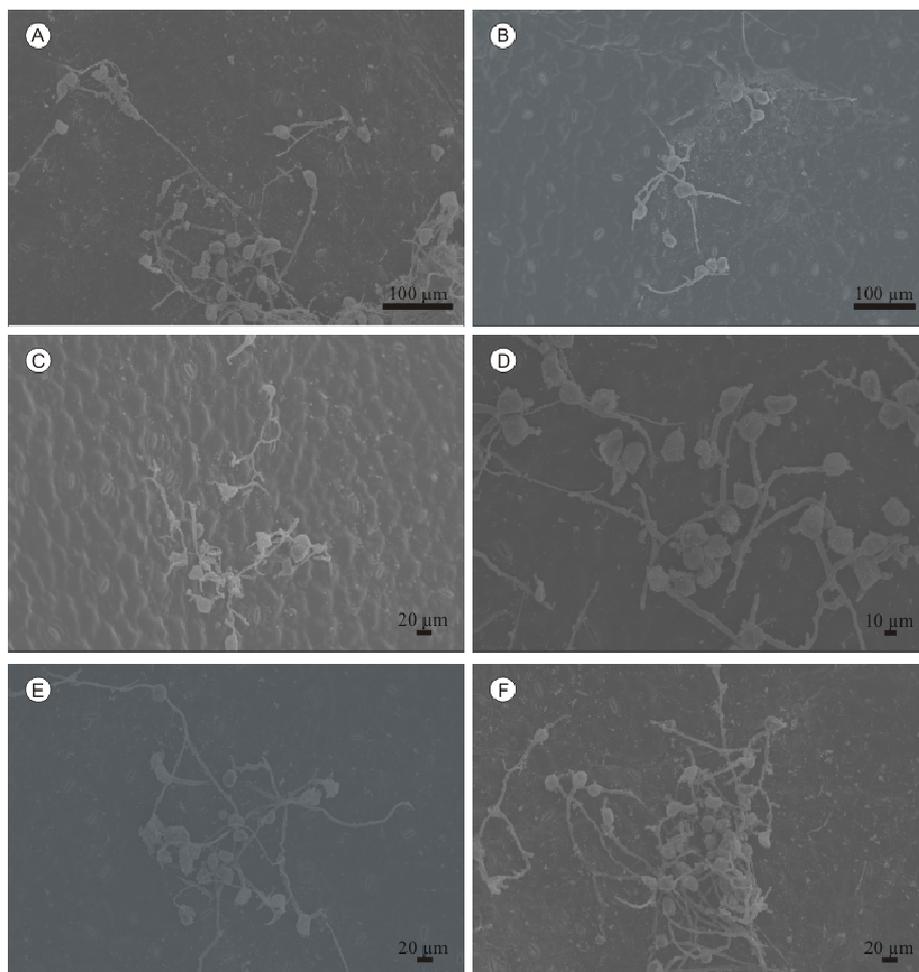


FIGURA 12 Eletromicrografia de varredura de folhas de cafeeiro previamente tratado com acibenzolar-S-metil ($6,25 \times 10^{-2} \text{ g.L}^{-1}$) e inoculadas com *H. vastatrix*. (A) 24h; (B) 36h; (C) 48h; (D) 72h; (E) 96h e (F) 120h após inoculação.

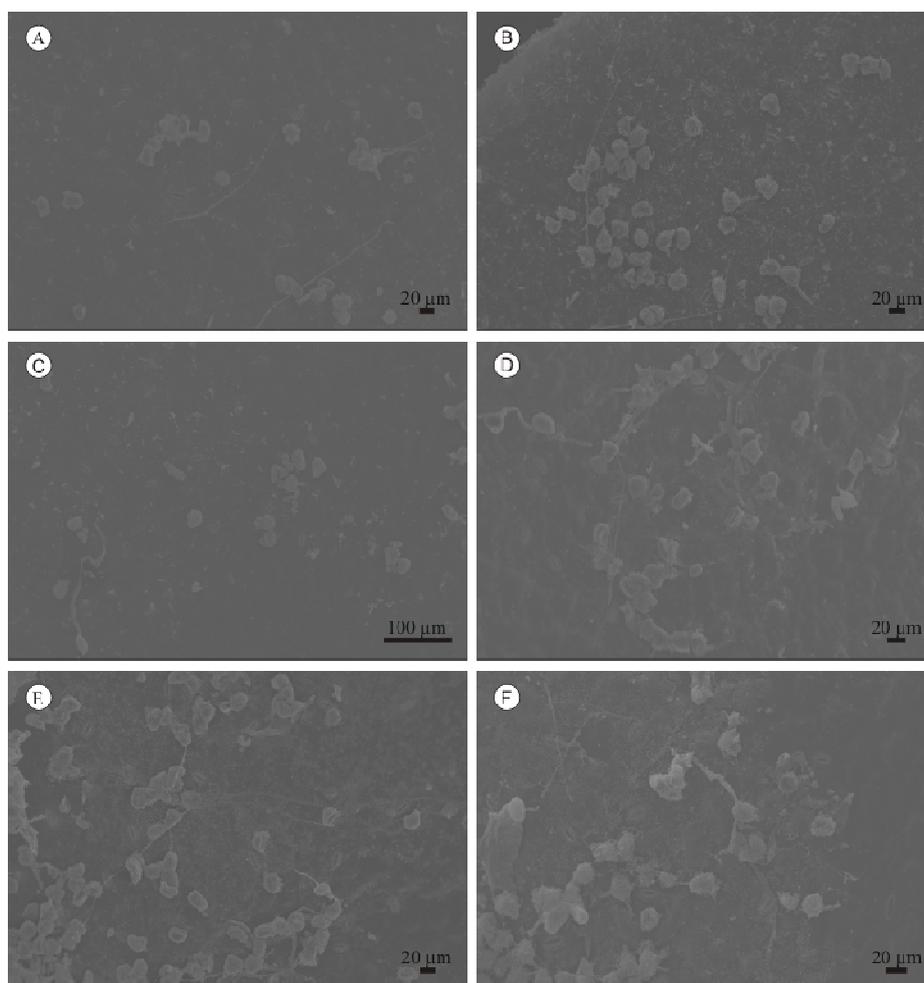


FIGURA 13 Eletromicrografia de varredura de folhas de cafeeiro previamente tratado com fosfito de zinco (5 mL.L^{-1}) e inoculadas com *H. vastatrix*. (A) 24h; (B) 36h; (C) 48h; (D) 72h; (E) 96h e (F) 120h após inoculação.

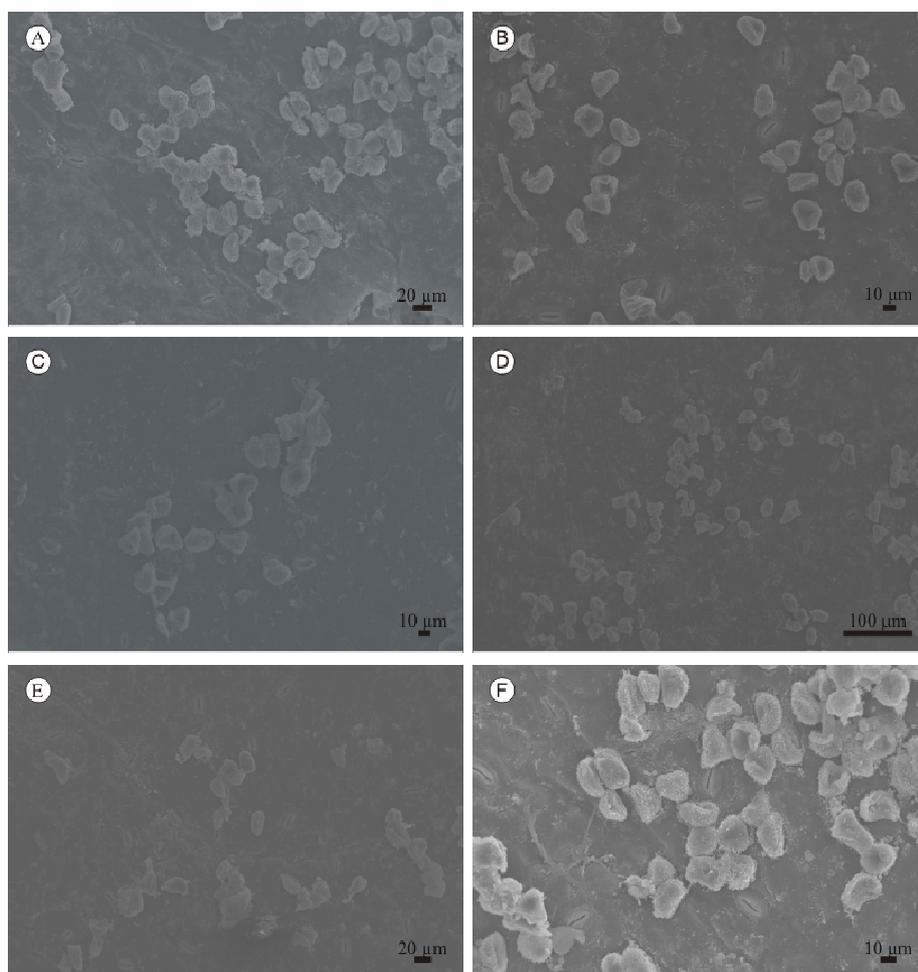


FIGURA 14 Eletromicrografia de varredura de folhas de cafeeiro previamente tratado com ciproconazol + azoxystrobin ($1,25 \text{ mL.L}^{-1}$) e inoculadas com *H. vastatrix*. (A) 24h; (B) 36h; (C) 48h; (D) 72h; (E) 96h e (F) 120h após inoculação.

Os dados obtidos neste ensaio concordam com os do teste *in vitro* apresentado anteriormente. No caso do indutor de resistência ASM, demonstrou-se que sua utilização não implica numa ação direta sobre o patógeno, mas sim na ativação de mecanismos de defesa latentes do hospedeiro. Os resultados apresentados em campo corroboram essa afirmação. Mesmo que o produto não tenha sido tóxico ao patógeno, como se observou nos testes *in vitro* e histopatológicos, o mesmo demonstrou eficácia no controle da doença, principalmente em ano de baixa carga.

Para o tratamento à base de fosfitos, Stehmann & Grant (2000) observaram, em âmbito celular, que a presença deste no meio provoca um acúmulo de pirofosfato e polifosfatos que, por sua vez, inibem as enzimas da via glicolítica e da pentose fosfato, desorganizando o metabolismo do patógeno, inibindo assim seu desenvolvimento. Tal fato também foi observado neste ensaio, no qual a aplicação do fosfito de manganês, feita antes da inoculação de *Hemileia vastatrix*, promoveu o retardamento e a conseqüente diminuição no seu desenvolvimento, como alongamento do tubo germinativo, formação do apressório, etc. Isso comprova a ação direta de produtos à base de fosfito sobre os patógenos, evidenciando seu efeito fungitóxico.

O mesmo efeito fungitóxico apresentado pelo fosfito já foi amplamente comprovado para fungicidas sistêmicos. Sabe-se que fungicidas do grupo dos triazóis inibem a biossíntese do ergosterol e as estrobilurinas inibem o transporte de elétrons nas mitocôndrias das células no citocromo *bc1*, impedindo a formação de ATP. Estes podem translocar-se no interior da plantas e ter efeito curativo, ou seja, mesmo que a doença já esteja instalada na área, seu controle ainda poderá ser feito, respeitada certa taxa de progresso da doença, dando-lhes grande praticidade.

Os resultados obtidos tanto para o ensaio *in vitro* quanto para com o de microscopia eletrônica de varredura foram concordantes, porém, apenas com o segundo podem-se evidenciar os eventos iniciais da patogênese, perfazendo uma excelente ferramenta para o estudo do modo de ação dos produtos testados.

4 CONCLUSÃO

No ensaio in vitro, observou-se ausência de germinação dos uredíniosporos de *H. vastatrix* para o tratamento fungicida ciproconazol+azoxystrobin, baixa germinação para os tratamentos à base de fosfito e alta para o tratamento com o ativador de resistência ASM, equiparando-se à testemunha (água);

Em ensaio com microscopia eletrônica de varredura, observou-se a ação direta do produto à base de fosfito sobre a germinação e o desenvolvimento dos uredíniosporos de *H. vastatrix*, evidenciando seu caráter fungitóxico. O mesmo foi observado para o fungicida ciproconazol+azoxystrobin e o contrário para o tratamento com ASM.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, M. S. **Resistência horizontal a *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. em cafeeiros descendentes do híbrido de Timor**. 1988. 68 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

AMARAL, D. R. **Formulações de extratos vegetais e micronutrientes na indução de resistência em mudas de cafeeiro contra *Cercospora coffeicola***. 2008. 106 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ESKES, A. B.; TOMA-BRAGHINI, M. The effect of age on incomplete resistance of coffee to *Hemileia vastatrix*. In: ESKES, A. B. **Incomplete resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*)**. Wageningen: Institute of Plant Breeding of Agricultural University, 1983. p. 215-226.

PATRÍCIO, F. R. A.; ALMEIDA, I. M. G.; BARROS, B. C.; SANTOS, A. S.; FRARE, P. M. Effectiveness of acibenzolar-*S*-methyl, fungicides and antibiotics for the control of brown eye spot, bacterial blight, brown leaf spot and coffee rust in coffee. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v. 152, n. 1, p. 29-39, Jan. 2007.

PEREIRA, R. B. **Extrato de casca de café e óleo de tomilho no controle de *Cercospora coffeicola* Berk & Cooke em cafeeiro**. 2006. 90 p. Tese (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

RIBEIRO JÚNIOR, P. M. **Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola***. 2008. 107 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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

STEHMANN, C.; GRANT, B. R. Inhibition of Enzymes of the Glycolytic Pathway and Hexose Monophosphate Bypass by Phosphonate. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 67, n. 1, p. 13-24, May 2000.

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

VEGRO, C. L. R.; FERREIRA, C. R. R. P. T. Evolução das despesas com defensivos agrícolas e fertilizantes para a safra de café 2000/01 nos estados de São Paulo e Paraná. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 30, n. 1, p. 53-59, 2000.

ZAMBOLIM, L. **Efeito de baixas temperaturas e do binômio temperatura-umidade relativa sobre a viabilidade dos uredósporos de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. e *Uromyces phaseoli typica* Arth.** 1973. 52 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de produtos diferenciados é ainda uma novidade na agricultura brasileira. Classificados como “indutores de resistência”, tais produtos vêm, a cada dia, ganhando espaço como uma alternativa mais racional para ser incluída no manejo integrado de doenças de importância econômica, como é caso da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro.

Tal fato pode ser comprovado em visitas a feiras agrícolas, nas prateleiras de distribuidores e, até mesmo, nas propriedades rurais. Na busca de formas mais racionais e econômicas para o controle dessas doenças, técnicos e pesquisadores têm se esforçado a cada dia, no intuito de oferecer ao agricultor opções que estejam de acordo com o que pede a agricultura moderna, com produtos menos tóxicos, utilizados em baixas dosagens, com amplo espectro de ação, diminuindo os riscos de contaminação humana e ambiental e de seleção de patógenos resistentes.

É fato que fungicidas, como estrobilurinas e triazóis, ainda sejam os mais utilizados e que promovem controle mais eficiente dos patógenos. Isso, para a cafeicultura convencional, é extremamente vantajoso e aconselhável, desde que sejam seguidas as prescrições e acompanhamento seja feito por profissional da área. Porém, são produtos que têm poucos sítios de ação sobre os patógenos e, por mais modernos que sejam, podem poluir o ambiente e provocar intoxicações em homem e em animais, quando usados de maneira indevida.

Vê-se, ainda, certa carência desses produtos tidos como diferenciados, mas pode-se deduzir que os ativadores de plantas, ou indutores de resistência, podem perfeitamente preencher tal lacuna. O surgimento do acibenzolar-S-metil certamente foi o marco inicial das pesquisas voltadas para o desenvolvimento de tais produtos, a fim de ser uma opção mais sustentável para o controle de fitopatógenos. Porém, essa é uma ciência que deve ser estudada a fundo, pois ainda há muito para se descobrir. Produtos como esse são altamente técnicos e a

dose e ser utilizada e a época de aplicação ainda devem ser minuciosamente estudadas, para que resultados mais concretos venham a ser obtidos e repassados.

Estudos como esse mostram quão válido poderá vir a ser a utilização de indutores de resistência na agricultura, mas, como comentado anteriormente, há muito ainda por se fazer. Ficam a cargo das instituições de pesquisa, empresas privadas e pesquisadores, dentre outros, maior empenho e estudos dentro dessa área que a cada dia se mostra mais promissora e real.