



FERNANDA RODRIGUES SILVA

**ARGILAS SILICATADAS EM *Coffea arabica*: INTENSIDADE
DA CERCOSPORIOSE, CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E
MECANISMOS DE DEFESA**

**LAVRAS-MG
2021**

FERNANDA RODRIGUES SILVA

**ARGILAS SILICATADAS EM *Coffea arabica*: INTENSIDADE DA CERCOSPORIOSE,
CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E MECANISMOS DE DEFESA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. PhD. Mário Lúcio Vilela de Resende
Orientador

**LAVRAS-MG
2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Silva, Fernanda Rodrigues.

Argilas silicatadas em *Coffea arabica* : intensidade da cercosporiose, características fisiológicas e mecanismos de defesa /
Fernanda Rodrigues Silva. - 2021.

25 p. : il.

Orientador(a): Mário Lúcio Vilela de Resende.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. *Cercospora coffeicola*. 2. Interação planta-patógeno. 3. Café
arábica. I. de Resende, Mário Lúcio Vilela. II. Título.

FERNANDA RODRIGUES SILVA

**ARGILAS SILICATADAS EM *Coffea arabica*: INTENSIDADE DA CERCOSPORIOSE,
CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS E MECANISMOS DE DEFESA**

**SILICATED CLAYS IN *Coffea arabica*: BROWN EYE SPOT'S INTENSITY,
PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS AND DEFENSE MECHANISMS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 28 de julho de 2021
PhD. Mário Lúcio Vilela de Resende, UFLA
Dra. Tharyn Reichel, UFLA
Dr. César Elias Botelho, EPAMIG

Prof. PhD. Mário Lúcio Vilela de Resende
Orientador

**LAVRAS-MG
2021**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela saúde, amor e proteção.

À Nossa senhora pela sua intercessão.

À Universidade Federal de Lavras, em especial, ao programa de pós graduação em Biotecnologia Vegetal pela oportunidade de obtenção do título de Mestra.

Ao professor Mário Lúcio Vilela de Resende pela orientação e confiança.

Às pesquisadoras Deila Botelho e Tharyn Reichel essenciais no desenvolvimento, correções deste trabalho e contribuições estatísticas. Agradeço também pela paciência e amizade.

Aos técnicos Alexandre e Sílvio por auxiliarem no uso de equipamentos.

Ao laboratório de Epidemiologia por disponibilizar espaço na casa de vegetação para condução do experimento.

Aos professores do programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal pelos ensinamentos.

À secretária do programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal Rossilvania pela sua dedicação e humanidade no atendimento.

Aos amigos do programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal Alisson, Cleiton, Amanda e Viviana pela amizade e conhecimentos compartilhados.

A todos os funcionários do departamento de Fitopatologia pelos momentos compartilhados.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia do Parasitismo pelo auxílio durante a condução dos experimentos: Marluce, Bárbara, Moisés, Ivan, Juliana, Mariana, Priscila, Matheus, Rafaela, Cláudia, Thamires, Maria Eduarda, Fábio e Dário (in memoriam). Em especial, agradeço a Ludmila e Yohana por participarem de momentos críticos e sempre permanecerem comigo.

Aos colegas Alexandre, Felipe e Matheus pelo auxílio no campo.

Aos pesquisadores Dr. César Botelho, Dra. Tharyn Reichel, Dr. Bruno Costa e Dra. Ana Monteiro pela participação na banca de defesa.

Às minhas amigas de república pela irmandade, amizade e momentos de descontração.

À minha família pelo incentivo, em especial a minha madrinha Cláudia e seu marido Helder por me apoiarem emocionalmente e financeiramente no meu ingresso a Universidade. Agradeço também a minha prima Paula Francioli por disponibilizar sua casa como local calmo de estudos para seleção do mestrado.

Aos meus pais pelo apoio financeiro até a obtenção da bolsa de estudos. À minha mãe Adriana por me ensinar a ser forte, corajosa e a nunca desistir de meus objetivos.

Ao meu pai Fernando e o meu irmão Bel por me incentivarem e nunca duvidarem das minhas capacidades

Ao meu noivo Iory pela parceria, cuidado, amizade e amor.

Agradeço a todas as pessoas cujo os nomes não foram citados, mas que contribuíram significativamente para a realização deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG).

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia do café (INCT-Café) pelo financiamento concedido à realização deste projeto.

Muito Obrigada!

RESUMO

Cercospora coffeicola, agente causal da cercosporiose, encontra-se disseminada em todas as regiões cafeeiras brasileiras e a doença pode acarretar em perdas de até 30% na produção. O manejo da cercosporiose é realizado principalmente por meio de controle químico. No entanto, devido a redução da sensibilidade do patógeno à alguns princípios ativos e às preocupações com o meio ambiente, estudos visando produtos alternativos para o controle da cercosporiose são necessários. Filmes de partículas, como as argilas silicatadas, têm apresentado resultados promissores no manejo de doenças fúngicas, tanto pela proteção física quanto pela indução de resistência da planta. Este estudo objetiva avaliar os efeitos de diferentes argilas silicatadas na fisiologia do cafeeiro, na incidência da cercosporiose e na atividade de enzimas de defesa da via dos fenilpropanoides. O experimento foi instalado em delineamento de blocos casualizados, as argilas silicatadas (Surround[®]WP, argila caulínica e argila ssl/200) foram pulverizadas em mudas de *Coffea arabica* em condições de casa de vegetação e campo. O crescimento das plantas, teor de clorofila a, clorofila b, carotenoides, compostos fenólicos solúveis totais e lignina solúvel foram avaliados. Com base nos resultados obtidos, o produto Surround[®] WP foi selecionado para a condução de um novo experimento em casa de vegetação. A aplicação deste produto foi realizada sete dias antes da inoculação de *C. coffeicola* e as avaliações da incidência da cercosporiose foram realizadas semanalmente após o aparecimento dos primeiros sintomas. Também foram determinadas a atividade de enzimas de defesa da planta: fenilalanina amônia-liase (PAL), polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POX) sendo a coleta das folhas às 0, 24, 36, 48 e 72 horas após a inoculação do patógeno. A pulverização de argilas silicatadas não influenciou no crescimento do cafeeiro. Dentre os tratamentos avaliados, plantas pulverizadas com produto Surround[®] WP destacaram-se por apresentarem maiores teores de clorofila total e lignina em casa de vegetação e compostos fenólicos solúveis totais no campo. A aplicação de Surround[®] WP reduziu a incidência da cercosporiose do cafeeiro e não influenciou na atividade das enzimas PAL, PPO e POX. A argila silicatada Surround[®] WP pode ser uma alternativa viável no manejo integrado da cercosporiose, reduzindo os impactos ambientais.

Palavras-chave: *Cercospora coffeicola*. Café arábica. Interação planta-patógeno. Produto alternativo.

ABSTRACT

Cercospora coffeicola, the causal agent of brown eye spot, is widespread in all Brazilian coffee regions and the disease can lead to losses of up to 30% in production. The brown eye spot's management is mainly carried out through chemical control. However, due to the reduced sensitivity of the pathogen to some active ingredients and concerns with the environment, studies of alternative components for the control of brown eye spot are necessary. Particle films, such as silicate clays, have shown promising results in the management of fungal diseases, both for physical protection and plant resistance induction. This study aims to evaluate the effects of different silicate clays on coffee physiology, on the incidence of brown eye spot and on the activity of defense enzymes of the phenylpropanoid pathway. The experiment was installed in a randomized block design, as silicate clays (Surround®WP, kaolinitic clay and ssl clay / 200) were sprayed on *Coffea arabica* seedlings under greenhouse and field conditions. Plant growth, chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, total soluble phenolic compounds and soluble lignin were formulated. Based on the results obtained, the Surround® WP product was selected to conduct a new experiment in a greenhouse. The product application was carried out seven days before the inoculation of *C. coffeicola* and to correct the incidence of brown eye spot, they were carried out weekly after the appearance of the first symptoms. The activity of plant defense enzymes was also determined: phenylalanine ammonia-lyase (PAL), polyphenoloxidase (PPO) and peroxidase (POX) and leaves were collected at 0, 24, 36, 48 and 72 hours after the pathogen's inoculation. The spraying of silicate clays did not influence coffee growth. Among the treatments produced, plants sprayed with the Surround® WP product stood out for presenting the highest levels of total chlorophyll and lignin in the greenhouse and total soluble phenolic compounds in the field. The application of Surround® WP reduced the incidence of brown eye spot in coffee and did not influence the activity of the enzymes PAL, PPO and POX. Surround® WP silicate clay can be a viable alternative in the integrated management of brown eye spot, reducing the environmental impacts.

Keywords: *Cercospora coffeicola*. Arabica coffee. Plant-pathogen interaction. Alternative product.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REFERENCIAL TEÓRICO	2
2.1	Cafeeiro.....	2
2.2	Cercosporiose	3
2.3	Filmes de partículas	4
2.4	Utilização de caulim no cafeeiro	5
2.5	Si como potencializador de resistência.....	6
2.6	Silicatos na redução de doenças.....	7
3	MATERIAL E MÉTODOS	8
3.1	Experimento em campo.....	8
3.2	Experimento em casa de vegetação	9
3.2.1	Quantificação dos teores de clorofila a, clorofila b e carotenoides.....	9
3.2.2	Quantificação de compostos fenólicos solúveis totais e lignina solúvel	10
3.3	Experimento em casa de vegetação com mudas de cafeeiro inoculadas com patógeno.	10
3.3.1	Inoculação de <i>C. coffeicola</i>	11
3.3.2	Atividade enzimática	11
3.4	Análises estatísticas.....	12
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	12
4.1	Experimento em campo.....	12
4.2	Experimento em casa de vegetação	14
4.3	Experimento em casa de vegetação com mudas de cafeeiro inoculadas com patógeno.	17
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	20
6	CONCLUSÃO.....	21
	REFERÊNCIAS.....	22

1 INTRODUÇÃO

A cercosporiose (*Cercospora coffeicola*) é recorrente em todas as regiões cafeeiras brasileiras e é responsável por perdas de até 30% na produção (POZZA et al 2010; ZAMBOLIM et al 2016). Não há cultivares de cafeeiro resistentes a cercosporiose, sendo o controle químico o principal método de manejo da doença (BOTELHO et al., 2017). A conscientização ambiental gera uma demanda por produtos orgânicos cultivados com restrição ou eliminação do uso de agroquímicos (AZEVEDO et al., 2019). O estudo de estratégias de manejo orgânico da cercosporiose do cafeeiro justifica-se pela necessidade de redução do uso de defensivos agrícolas prejudiciais ao meio ambiente.

O fungo *Cercospora coffeicola*, agente etiológico da cercosporiose, produz uma toxina ativada pela luz solar denominada cercosporina. O patógeno possui hábito necrotrófico e necessita da morte celular para a sua colonização. A cercosporina é responsável por ocasionar a peroxidação lipídica da membrana do hospedeiro, resultando na morte celular (DAUB; HERRERO; CHUNG, 2013). Portanto, a colonização só é possibilitada pela ativação da toxina e o sombreamento reduz a penetração do fungo e conseqüentemente, o número de lesões (Echandi, 1959). Argilas silicatadas refletem parte da radiação ultravioleta e infravermelha, sem influir na transmissão da radiação fotossintética ativa (GLENN; PUTERKA, 2005). Tal redução da luz solar na superfície foliar do cafeeiro pode influenciar negativamente a ativação da cercosporina, fator de virulência da cercosporiose, afetando a colonização fúngica (SOUZA et al., 2019).

A reflexão da luz solar ocasiona a redução da temperatura foliar, mitigando o estresse térmico e aumentando a eficiência do uso da água. A diminuição da perda de água possibilita abertura dos estômatos por mais tempo, maior assimilação de carbono e aumento das taxas fotossintéticas (DINIS et al 2016a; DINIS et al 2016b). Conseqüentemente, é reduzido o estresse oxidativo, responsável pela degradação de pigmentos do aparato fotossintético ou pela redução da síntese desses pigmentos devido a alterações nas membranas dos tilacoides (DINIS et al 2016a, KHAVARI et al 2021).

Argilas silicatadas vêm sendo utilizadas na proteção de culturas tanto pela proteção física (CARRÉ-MISSIO et al 2014; DALLAGNOL et al 2020) quanto pela indução de resistência proporcionada pelo silício (Si) (FORTUNATO; RODRIGUES; NASCIMENTO, 2012; KHAVARI et al 2021). As enzimas pertencentes a via de defesa dos fenilpropanoides têm atividade aumentada pelo tratamento com Si, resultando em maior produção e acúmulo de compostos antimicrobianos como fenóis, lignina, flavonoides e quinonas, produtos dessa via

(WANG et al., 2017). Esses compostos retardam a colonização do patógeno, reduzindo a incidência de doenças em plantas (FREW et al., 2018). Diante disso, este projeto de pesquisa objetiva avaliar os efeitos de diferentes argilas silicatadas na fisiologia do cafeeiro, na incidência da cercosporiose e na atividade de enzimas de defesa em plantas de *C. arabica* em experimentos conduzidos em condições de casa de vegetação e campo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cafeeiro

A espécie *Coffea arabica* compreende plantas originadas da Etiópia (BERTHAUD; CHARRIER, 1988). É cultivada principalmente em regiões tropicais e subtropicais, prevalecendo na Ásia, Oceania, América do Sul, América Central e no México (ICO, 2021). As espécies *C. arabica* e *Coffea canephora* têm maior relevância econômica e são responsáveis por 57% e 44% da produção mundial, respectivamente (ICO, 2021). *C. arabica* apresenta qualidade de bebida superior ao *C. canephora*, é constituído por um menor teor de cafeína e maior teor de açúcares, sendo ideal para produção de cafés especiais (DE OLIVEIRA FASSIO et al., 2016).

A conscientização ambiental junto a preferência do consumidor por alimentos orgânicos gera uma crescente demanda na produção orgânica. De acordo com Autoridade Competente da agricultura orgânica brasileira (COAGRE) o Brasil compreende 69.000 produtores orgânicos, incluindo não certificados, e cerca de 17 mil produtores e 22 mil unidades de produção orgânica cadastrados no Cadastro Nacional de Produtores Orgânicos (CNPO) (LIMA et al., 2019; FIBL; IFOAM, 2021). Em 2019, aproximadamente 6,7% da área de café do mundo foi cultivada em manejo orgânico (FIBL; IFOAM, 2021).

A produção orgânica é baseada na restrição ou eliminação do uso de defensivos agrícolas, o que pode acarretar no aumento da intensidade de doenças (AZEVEDO et al., 2019; HADDAD et al., 2009). Dentre as doenças que atingem o cafeeiro a ferrugem (*Hemileia vastatrix*) e a cercosporiose (*C. coffeicola*) podem ocasionar perdas de 30 a 50% na produção cafeeira e encontram-se disseminadas em todas as regiões cafeeiras do Brasil (POZZA et al 2010; ZAMBOLIM et al 2016; TALHINHAS et al., 2017). A ferrugem pode ser controlada pelo uso de cultivares de cafeeiro resistentes (AYALEW, 2014), contudo não há relatos de cultivares resistentes à cercosporiose (BOTELHO et al., 2017). Torna-se então essencial o

desenvolvimento de uma estratégia de manejo da cercosporiose que se enquadre na proposta da agricultura orgânica, visando a redução dos danos ambientais.

2.2 Cercosporiose

O fungo *Cercospora coffeicola* Berk & Cooke é o agente etiológico da cercosporiose do cafeeiro, também conhecida como mancha do olho pardo no café, mancha circular ou olho de pombo (ZAMBOLIM et al, 2016). A penetração do tecido foliar por *C. coffeicola* ocorre através dos estômatos e a colonização fúngica nas folhas pode ser por meio intercelular e intracelular (SOUZA et al., 2011). Os sintomas da cercosporiose são caracterizados por manchas necróticas circulares de centro branco-acinzentado com pontuações escuras, cercadas por um anel de coloração castanha e envoltas por um halo amarelo (ZAMBOLIM; VALE; ZAMBOLIM, 2005). A cercosporiose se desenvolve em condições de alta umidade relativa, temperaturas amenas e alta luminosidade, pode ocorrer em condições de viveiro e de campo quando práticas de manejo não são bem conduzidas ou diante a exposição a estresse hídrico e a deficiência de nutrientes (POZZA; POZZA, 2003).

C. coffeicola produz uma toxina denominada cercosporina, que se acumula na planta hospedeira e causa a peroxidação dos lipídeos da membrana; conseqüentemente, ocorre a morte celular e a colonização do fungo (DAUB; HERRERO; CHUNG, 2013). Os danos causados ao hospedeiro podem estar diretamente relacionados a produção de EROs (NEWMAN; TOWNSEND, 2016), visto que a cercosporina reage com outras moléculas, como o oxigênio, gerando espécies reativas de oxigênio (EROs) (DAUB; HERRERO; CHUNG, 2013). A toxina é ativada pela luz e o sombreamento reduz a penetração do fungo e conseqüentemente, o número de lesões (ECHANDI, 1959).

Argilas silicatadas, denominadas filmes de partículas, têm apresentado resultados promissores na proteção de culturas e no manejo de doenças fúngicas tanto pela proteção física (GLENN; PUTERKA, 2005) quanto pela indução de resistência (CHERIF; ASSELIN; BELANGER, 1994; FORTUNATO; RODRIGUES; NASCIMENTO, 2012). Os filmes de partículas refletem parte dos raios ultravioleta e da radiação infravermelha (GLENN; PUTERKA, 2005). Tal redução da luz solar na superfície foliar do cafeeiro pode influenciar negativamente a ativação da cercosporina, fator de virulência da cercosporiose, afetando a colonização fúngica (SOUZA et al., 2019). Além disso, o silício (Si) é conhecido como indutor de resistência de amplo espectro contra estresse biótico e abiótico, com a potencialização dos mecanismos de defesa da planta, por intermédio da ativação de enzimas antioxidantes, da

estimulação da produção de compostos antimicrobianos e da regulação de vias de sinalização que desencadeiam a expressão de genes relacionados à defesa (FREW et al., 2018).

2.3 Filmes de partículas

Os minerais primários dão origem aos minerais secundários, como por exemplo, as argilas silicatadas, denominadas após o processamento de filmes de partículas. A eficácia desses filmes nos tecidos vegetais é definida por determinadas características. Devem possuir partícula mineral quimicamente inerte com diâmetro inferior ou igual a 2 μm , formulação que possibilite seu espalhamento uniforme sobre o tecido, não interferir nas trocas gasosas da folha, transmitir radiação fotossintética ativa, refletir parte dos raios ultravioleta e da radiação infravermelha (GLENN; PUTERKA, 2005). Além disso, poder ser retirado por lavagem com água e o seu uso deve alterar o comportamento de insetos e patógenos da planta (GLENN; PUTERKA, 2005). O caulim é um mineral originado da caulinita, cuja composição química é 39,50% de Al_2O_3 , 46,54% de SiO_2 e 13,96% de H_2O , possuindo pequenas variações em seus constituintes (LUZ; FREITAS, 2008). Diversas fontes de caulim são utilizadas como base para o processamento de filmes de partículas silicatadas.

As propriedades refletivas de filmes de partículas a base de caulim reduzem a temperatura das folhas, amenizando o estresse térmico e oxidativo, protegendo assim o aparato fotossintético (DINIS et al, 2016a; KHAVARI et al 2021). Desse modo, seu uso gera aumento nas taxas fotossintéticas, melhora nas características físicas de frutos e grãos com consequente aumento na produtividade (ABREU et al, 2017a; BERMUDEZ; ORTIZ, 2020). Khavari et al. (2021) demonstraram que a pulverização de um filme de partícula a base de caulim a 6% combinado ao ácido salicílico a 1 mM em avelãs submetidas a condições de exposição à radiação solar, resultou no aumento do peso seco da noz e do grão da avelã em 5,6% e 11,2%, respectivamente, em relação ao controle. Esse mesmo tratamento também proporcionou proteção ao aparato fotossintético apresentando aumento nos teores de clorofila a, clorofila b e carotenoides.

Além disso, folhas da avelã pulverizadas com caulim 6% apresentaram maior teor de água (12%) e menor vazamento de eletrólitos (11,5%) quando comparado as folhas de plantas não tratadas. Pereira et al. (2019) relataram aumento da produtividade do tomate em 3,11 kg/planta e 31.152 kg ha⁻¹, após a pulverização foliar do caulim, apresentando produtividade 20% maior que as plantas controle; sua aplicação no tomateiro também ocasionou o aumento da tolerância da cultura ao estresse salino (BOARI et al., 2016). Outros estudos também

demonstraram o benefício da aplicação do caulim na redução tanto do estresse térmico (CONDE et al., 2016; DINIS et al., 2016; BERNARDO et al., 2017; DINIS et al., 2018) quanto estresse hídrico em videiras (FRIONI et al., 2019, 2020).

2.4 Utilização de caulim no cafeeiro

O produto a base de caulim calcinado Surround[®] WP é indicado para proteção de culturas contra a escaldadura e estresse térmico, e em diversos trabalhos têm sido constatada sua eficácia na cultura do cafeeiro. Plantas pulverizadas com caulim podem apresentar um aumento de até 26,24% na eficiência do uso de água (ABDALLAH, 2019). A aplicação foliar de Surround[®] WP no cafeeiro pode otimizar o uso de água e acarretar no resfriamento evaporativo da folha, podendo ocasionar redução de 2,0 a 7,5°C da temperatura foliar e a diminuição de até 39,25% do estresse hídrico quando comparadas a plantas expostas ao sol (STEIMAN; BITTENBENDER; IDOL, 2007; KROHLING et al., 2016a, ABREU et al., 2017b; ABREU et al., 2020). A redução da temperatura foliar, ameniza o estresse térmico e oxidativo, ocasionando diferentes efeitos benéficos a cultura. Steiman et al. (2007) realizaram análises de radiação fotossintética ativa e assimilação de carbono e demonstraram que a redução da temperatura foliar em plantas tratadas resultou no aumento da eficiência fotossintética em 71%. A fotossíntese líquida de folhas expostas ao sol diminuiu rapidamente ao final da manhã, enquanto as folhas pulverizadas com Surround[®] WP permaneceram com altos níveis fotossintéticos. Além disso, a aplicação do produto resultou em um aumento no rendimento de 14% e 99%, em dois anos consecutivos de avaliação.

Plantas de café protegidas com o caulim apresentam folhas saudáveis e sem sintomas de escaldadura; e maior produção de frutos sem defeitos, com maior tamanho, o que influi no aumento do rendimento e da produtividade em comparação a plantas não tratadas (KROHLING et al., 2016b; SANTINATO et al., 2016; ABREU et al 2020). Kroling et al (2016b) demonstraram redução de 123,75% do número de frutos do tipo boia/litro em plantas tratadas, resultando no aumento de 4,87% na produtividade do café Conilon, equivalente ao acréscimo de 3,8 sacas 60 kg. Abreu et al. (2016) observaram que plantas de café Conilon pulverizadas com Surround[®] WP produziram aproximadamente 35% a mais de grãos peneira 16 e acima, e com menos defeitos em relação a testemunha que apresentaram 77,78% mais defeitos, possibilitando a necessidade de menor quantidade de café maduro para encher uma saca de 60kg.

2.5 Si como potencializador de resistência

O Si é conhecido como potencializador dos mecanismos de defesa de amplo espectro por intermédio da ativação de enzimas antioxidantes, estimulação da produção de compostos antimicrobianos e regulação de vias de sinalização que desencadeiam a expressão de genes relacionados à defesa (VAN BOCKHAVEN; DE VLEESSCHAUWER; HOFTE, 2013; WANG et al., 2017). A resistência sistêmica adquirida está associada a produção de proteínas relacionadas a patogênese (PRPs) (RAMAMOORTHY et al., 2001). As PRPs se acumulam nos tecidos vegetais após a infecção por patógenos em resposta a algum estresse ou tratamento com compostos químicos (VAN LOON et al., 1994).

O tratamento com Si aumenta a atividade de enzimas relacionadas à defesa do hospedeiro após a penetração do patógeno. Conseqüentemente, esse aumento induz a produção e o acúmulo de compostos antimicrobianos que aprimoram a ação enzimática, aumentando a resistência e retardando o crescimento de patógenos (FREW et al., 2018). Dentre esses compostos são produzidos fenóis, flavonóides, fitoalexinas e PRPs (CHERIF; ASSELIN; BELANGER, 1994; FAWE et al., 1998; RÉMUS-BOREL; MENZIES; RODRIGUES et al., 2004; BÉLANGER, 2005). PRPs de atividade constitutiva, como as enzimas pertencentes a via dos fenilpropanóides, fenilalanina amônia-liase (PAL), polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POX), são induzidas pelo Si e possuem sua atividade aumentada diante de estresses bióticos ou abióticos (FERREIRA et al., 2007; WANG et al., 2017).

A via dos fenilpropanóides tem como uma de suas finalidades a síntese de metabólitos secundários antimicrobianos essenciais para as respostas de defesa a doenças de plantas. A PAL é responsável pela conversão da *L*-fenilalanina em ácido *trans*-cinâmico, um precursor de lignina, flavonóides e outros compostos fenólicos (MISHRA E GAUTAM, 2016). A PPO inicia sua atividade após a lesão do tecido vegetal, na presença da molécula de oxigênio, catalisa a hidroxilação de monofenóis à difenóis e posteriormente os oxida à quinonas (MISHRA E GAUTAM, 2016). A maior atividade da PAL e da PPO, induzidas pelo Si, resulta na produção de fenóis relacionados a defesa ou compostos polifenólicos associados à lignina (RAHMAN; WALLIS; UDDIN, 2015). A POX está envolvida no reforço da parede celular, nas etapas finais da biossíntese de lignina e na reticulação de proteínas da parede celular (BRISSEON; TENHAKEN; LAMB, 1994).

Portanto, o aumento na atividade enzimática está diretamente relacionado à produção de substâncias antimicrobianas, como a lignina e outros compostos fenólicos, essenciais no processo de permeabilização das membranas, podendo resultar na redução da incidência de

doenças (DIXON et al., 2002; FORTUNATO et al 2012). A pulverização foliar de silicato de potássio no cafeeiro resultou na redução de 31% da severidade de *C. coffeicola* e no aumento na atividade das enzimas POX e PPO após 15 e 10 dias da pulverização, respectivamente. Além disso, foi relatado o aumento nos teores de clorofila b e lignina solúvel (AMARAL et al., 2008). Rosyady et al. (2020) também relataram uma associação da redução da incidência da ferrugem com o aumento do teor de lignina na folha do cafeeiro diante da aplicação foliar de Si.

2.6 Silicatos na redução de doenças

Tanto a aplicação via solo quanto a aplicação foliar de compostos silicatados está associada à redução da incidência e da severidade de diferentes doenças fúngicas de plantas (RODRIGUES et al., 2015). A aplicação de silicato de alumínio em videiras (*Vitis vinifera*) contribuiu para o controle do oídio (*Plasmopara viticola*) (GOMES et al., 2011) e o uso de alguns elementos constituintes deste, como óxido de alumínio (Al_2O_3) e o dióxido de silício (SiO_2), junto ao enxofre inibiram o crescimento micelial de *Colletotrichum gloesporioides* em testes *in vitro* (GOMES et al., 2016). El-abdean et al. (2020) demonstraram que o uso de silicato de sódio e potássio como tratamento de solo na água de irrigação no campo reduziu a severidade de *Macrophomina phaseolina* na soja em 56% e 42%, respectivamente. Além disso, o tratamento com os silicatos propiciou um aumento do rendimento da soja de 136,7% e 97,6%, respectivamente, em relação as plantas controle. Dallagnol et al. (2020) observou em microscópio eletrônico de varredura a redução da germinação de conídios e retardamento do desenvolvimento da colônia do patógeno *Podosphaera xanthii* em raízes e folhas do meloeiro, após aplicação via solo e foliar de silicato de potássio.

Há controvérsias quanto ao mecanismo de ação do Si no cafeeiro. Lopes et al. (2014) relataram que o silicato de cálcio na correção do solo de um experimento de campo, com duração de 3 anos, não ocasionou o aumento das concentrações foliares de silício, e também não reduziu a área sob a curva de progresso da ferrugem em cafeeiros, relatando que as raízes do café são ineficientes na translocação e absorção do Si à parte aérea. No entanto, Pozza et al. (2004) demonstraram em análises de Raio-X que cafeeiros cultivados em solo corrigido com silicato de cálcio apresentaram aumento nas concentrações foliares de silício em uma distribuição uniforme da superfície foliar nas cultivares Catuaí, Mundo Novo e Icatú e na cultivar Catuaí o aumento do Silício foi associado a redução de 63% das lesões da cercosporiose em comparação com aquelas que não foram corrigidas. Carré-missio et al. (2014) observaram em microanálise de raio X, maior deposição de Si em folhas de plantas pulverizadas com

silicato de potássio e associaram o controle da ferrugem do café à polimerização do silicato na superfície da folha, agindo como barreira física que impossibilita a colonização fúngica e reduz a germinação de uredósporos. A aplicação foliar de silicato de potássio (pH 5,5) também reduziu significativamente a severidade da ferrugem no cafeeiro, na intensidade da esporulação e no número total de pústulas por cm² de área foliar (CARRÉ-MISSIO et al., 2012).

A intensidade da cercosporiose em plantas de cafeeiro está relacionada com a exposição solar (ECHANDI, 1959). Argilas silicatadas possuem propriedades de reflexão à luz que podem influenciar na redução da intensidade da doença. A aplicação de caulim nas lavouras do cafeeiro, acompanhado de um manejo integrado, pode ser uma alternativa para o controle eficiente da cercosporiose do cafeeiro, além de não apresentar riscos ao meio ambiente. Com base nestas informações, esse estudo visa elucidar os efeitos da aplicação de argilas silicatadas a base de caulim na fisiologia do cafeeiro, na incidência da cercosporiose do cafeeiro e nos mecanismos de resistência da planta.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Experimento em campo

O experimento foi conduzido em uma área de cultivo de Catuaí Vermelho IAC 144 na UFLA, Lavras, MG (21°13'39''S; 44°58'05''W). Foram avaliados os efeitos da aplicação de diferentes argilas silicatadas nos aspectos fisiológicos e bioquímicos do cafeeiro. O ensaio foi instalado em delineamento experimental em blocos casualizados com 4 tratamentos e 4 repetições. Os tratamentos consistiram no controle (testemunha) e em três argilas silicatadas a base de caulim, sendo uma argila já comercializada no setor agrícola, - o produto Surround[®] WP (fabricado pela Novasource em Phoenix- Arizona composto por 95% de caulim) e duas argilas silicatadas fabricadas pela Mineração Terra Nova em Ijaci- MG (Argila caulínica) e São Simão- SP (Argila ssl/200) (Tabela 1). Foram realizadas quatro aplicações com intervalo de 30 dias cada (fevereiro, março, abril e maio/2020) na dose de 15 kg/ha. Para aplicação utilizou-se um pulverizador costal pressurizado à CO₂ com barra de uma ponta XR 110 02 e pressão de 30 psi.

A eficácia dos tratamentos foi avaliada mensalmente (30 dias após cada aplicação) quanto aos componentes de formação do cafeeiro, totalizando 5 avaliações. Como parâmetros foram avaliados número de nós, altura dos ramos ortotrópicos, crescimento e números de nós

dos ramos plagiotrópicos. Os teores de clorofila a, clorofila b, carotenoides, compostos fenólicos solúveis totais e lignina solúvel foram quantificados.

3.2 Experimento em casa de vegetação

Mudas de cafeeiro da cultivar Catuaí Vermelho IAC 144 foram cultivadas em casa de vegetação no departamento de Fitopatologia da UFLA. O ensaio foi instalado em delineamento experimental em blocos casualizados com 4 tratamentos e 4 repetições. As plantas foram submetidas aos mesmos tratamentos realizados em campo. Como parâmetros fisiológicos foram avaliados quinzenalmente o crescimento e o diâmetro do ramo ortotrópico das mudas de cafeeiro. Foram também mensurados os teores de clorofila a, clorofila b, carotenoides, compostos fenólicos solúveis totais e lignina solúvel após o término das avaliações.

Tabela 1- Composição dos tratamentos utilizados em condições de casa de vegetação e campo.

TRATAMENTO	SiO ₂ (%)	Al ₂ O ₃ (%)	Fe ₂ O ₃ (%)	TiO ₂ (%)	CaO (%)	MgO (%)	K ₂ O (%)	Na ₂ O (%)	ZrO ₂ (%)	P ₂ O ₅ (%)
Argila Caulínica	46,11	36,36	2,11	1,43	0,19	0,06	0,55	0,03	-	-
Argila SSL/200	45,74	34,65	1,51	1,34	0,19	0,23	0,39	0,03	0,03	0,09

Fonte: Da autora (2021).

3.2.1 Quantificação dos teores de clorofila a, clorofila b e carotenoides

Após o término das avaliações fisiológicas no campo e em casa de vegetação foram coletadas amostras do 1º par de folhas totalmente expandido em nitrogênio líquido de cada parcela experimental. O peso das folhas foi padronizado em 0,1 grama, nas quais adicionou-se 5 ml de acetona 80% para maceração. Após a filtragem, o volume resultante foi diluído em 10 ml de acetona 80%. Dessa solução, 200 µL de cada amostra foram pipetados em microplacas e lidas em espectrofotômetro nos comprimentos de onda (λ) 647, 663 e 470 nm para determinar a concentração de clorofila a, clorofila b e carotenoides, respectivamente, em mg.cm⁻³, de acordo com fórmula proposta por Arnon (1949). Estes valores foram transformados, de acordo

com a metodologia de Richardson (2002) para teores de clorofilas a, b e totais (soma dos teores de clorofila a e b) nas folhas, expressos em unidades de área ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) e de massa fresca ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$).

3.2.2 Quantificação de compostos fenólicos solúveis totais e lignina solúvel

As amostras de folhas coletadas por parcela foram maceradas em nitrogênio líquido e liofilizadas por 48 horas, para a quantificação de compostos fenólicos solúveis totais e lignina solúvel. Seguindo o método descrito por Spanos e Wrolstad (1990) foram adicionados 1,5 ml de metanol 80% por amostra e armazenadas em um *shaker* a 100 rpm para agitação *overnight*. Após a agitação, as amostras foram centrifugadas a 14000 rpm, durante 7 minutos. Tubos com resíduo foram armazenados abertos em estufa a 45°C *overnight* para posterior análise de lignina. Enquanto que ao sobrenadante foi adicionado 150 μl de extrato metanólico + 150 μl de Folin-Ciocalteu (0,25 N), adicionou-se 150 μl de Na_2CO_3 (1M) e 1 ml de água destilada. As amostras foram então dispostas em uma placa de Elisa, em triplicata, para a leitura de compostos fenólicos solúveis totais ao λ de 725 nm, sendo adicionados 200 μl por amostra e 200 μl de metanol 80% como controle.

Em capela, foram adicionados 1,5 ml da solução: ácido tioglicólico + HCl (2M), proporção 1:10 às amostras secas em estufa no início do procedimento. Essas foram submetidas ao banho maria à 100°C por um período de 4 horas e centrifugadas à 1400 rpm por 10 minutos, após o descarte do sobrenadante foi adicionado 1,5 ml de água destilada e as amostras foram centrifugadas novamente nas condições anteriores, 1,5 ml NaOH (0,5M) foi adicionado e agitado *overnight* em *shaker* a 100 rpm. Foi adicionado 200 μl de HCl concentrado a reação que foi mantida na geladeira a 4°C por 4 horas. A centrifugação foi repetida, o sobrenadante descartado e foi adicionado 2 ml da NaOH (0,5M). As amostras foram então dispostas em uma placa de Elisa, em triplicata, para a leitura de lignina ao λ de 280 nm, sendo adicionados 200 μl por amostra e 200 μl de NaOH (0,5 M) como controle. Os valores foram calculados com base na curva de lignina e expressos em μg de lignina por miligrama de massa seca (DOSTER; BOSTOCK,1988).

3.3 Experimento em casa de vegetação com mudas de cafeeiro inoculadas com patógeno

Mudas de cafeeiro cultivar Catuaí Vermelho IAC 144 foram conduzidas em casa de vegetação no departamento de Fitopatologia da UFLA. O ensaio foi instalado em delineamento experimental em blocos casualizados com 5 tempos de coleta e 4 repetições. Foram testados dois tratamentos: plantas pulverizadas com Surround® WP na dose de 15 kg/ha e plantas pulverizadas com água (testemunha). A aplicação do produto foi realizada uma semana anterior a inoculação com *C. coffeicola*. Foram coletadas, em nitrogênio líquido, amostras do 1º par de folhas totalmente expandido nos tempos 0, 24, 36, 48 e 72 h, após a inoculação do patógeno. Os tempos de coleta seguiram o processo de infecção de *C. coffeicola* em folhas do cafeeiro demonstrado por Souza et al. (2011). A incidência da cercosporiose foi avaliada semanalmente após o surgimento dos primeiros sintomas da doença, totalizando 5 avaliações. As amostras foram armazenadas à -80° C até a análise da atividade enzimática.

3.3.1 Inoculação de *C. coffeicola*

Para a inoculação de *C. coffeicola* foi utilizado o isolado de CML 2986, o qual está depositado na Coleção Micológica de Lavras (MCL). As colônias do fungo foram obtidas com a utilização de disco de 6 mm de diâmetro, contendo micélio de *C. coffeicola*, o qual foi depositado em placas de petri de 9 cm de diâmetro contendo meio de cultura V8 (100 mL de suco de vegetais V8, 17 g de ágar; 3,2 g de CaCO₃ e 900 mL de água destilada). As placas ficaram acondicionadas em BOD à 25° C e fotoperíodo de 12 horas durante 15 dias. A obtenção de esporos dos isolados foi de acordo com a metodologia adaptada de Souza et al. (2012). Em um cadinho, foram macerados 40 discos de 6 mm retirados das bordas da colônia de *C. coffeicola* CML 2986, junto a uma pequena quantidade de meio V8 líquido. O produto macerado foi adicionado à *erlenmeyers* contendo 100 ml desse meio e permaneceram sob agitação a 100 rpm por 12 dias em temperatura ambiente. Verteu-se o líquido em placas de petri contendo o meio de cultura ágar-água e essas foram armazenadas em BOD, seguindo as mesmas condições mencionadas anteriormente para a secagem por um período de sete dias. Posteriormente, foram adicionados 10 ml de água destilada nas placas afim de ser realizada a raspagem dos conídios com o auxílio de uma alça de Drigalski. A suspensão obtida foi filtrada em gaze, visualizada em câmara de Neubauer e calibrada a 7×10^4 conídios por ml⁻¹. Posteriormente o inóculo foi pulverizado na região abaxial das folhas.

3.3.2 Atividade enzimática

Para a determinação da atividade da POX, PAL e PPO foram macerados, em nitrogênio líquido, 200 mg de tecido foliar. O pó fino obtido foi homogeneizado com polivinilpirrolidona (PVP) 2% (p/p) em tampão de fosfato de potássio 100 mM (pH 7,0). As amostras foram então centrifugadas a 14000 rpm por 5 min a 4°C. O sobrenadante constituiu o extrato para as análises enzimáticas (BIEMELT; KEETMAN; ALBRECHT, 1998)

Para a determinação da POX foram utilizados o extrato enzimático, guaiacol 20 mM e peróxido de hidrogênio 125 mM. Essa solução ficou incubada a 30° C por 10 minutos e em seguida foi lida em espectrofotômetro a 480 nm (URBANEK et al., 1991). A determinação da PAL foi realizada conforme o método descrito por Zucker (1965). Foram adicionados 5 µL do extrato à 200 µL de solução contendo Tris-HCl 100 mM (pH 8,8) e L-fenilalanina 50 mM. A reação foi incubada a 37 °C durante 20 minutos e em seguida lida em espectrofotômetro a 280 nm. O coeficiente de extinção molar de 5000 mM⁻¹ cm⁻¹ foi utilizado no cálculo da atividade enzimática. A atividade da PPO foi determinada de acordo com o método descrito por Kar e Mishra (1976). Foram adicionados 20 µL do extrato à 200 µL de solução contendo fosfato de potássio 70 mM (pH 7,0) e catecol 20 mM. Essa solução foi incubada a 30 °C, por 10 minutos e em seguida foi lida em espectrofotômetro a 410 nm. Foi usado o coeficiente de extinção molar de 1,235 mM⁻¹ cm⁻¹ no cálculo da atividade enzimática.

A mensuração da proteína total de cada extrato enzimático foi baseada no método descrito por Bradford (1976), utilizando uma curva padrão de albumina sérica bovina.

3.4 Análises estatísticas

Os dados foram submetidos a ANOVA e ao teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa MINITAB® versão 18.0 (Minitab Inc. - State College, PA, USA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento em campo

As avaliações de incremento nos parâmetros de crescimento do cafeeiro (altura do ramo ortotrópico, número de ramos plagiotrópicos, crescimento e número de nós de ramos plagiotrópicos) não apresentaram diferenças significativas quando comparados entre os

diferentes tratamentos (Tabela 2). Esses resultados indicam que pulverização de argilas silicatadas não influenciou no crescimento do cafeeiro.

Tabela 2- Médias dos parâmetros de crescimento do cafeeiro dadas por incremento em centímetros.

Tratamentos	AO	NP	CP	NNP
Testemunha	9,10 a	5,0 a	12,48 a	3,67 a
Surround® WP	8,10 a	5,9 a	10,35 a	2,92 a
Argila Caulínica	9,6 a	5,85 a	10,83 a	3,50 a
Argila SSL/200	10,2 a	6,20 a	10,43 a	3,42 a

Legenda: AO= altura do ramo ortotrópico, NP= número de ramos plagiotrópicos, CP= média do comprimento de ramos plagiotrópicos marcados, NNP= número de nós dos ramos plagiotrópicos marcados. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2021)

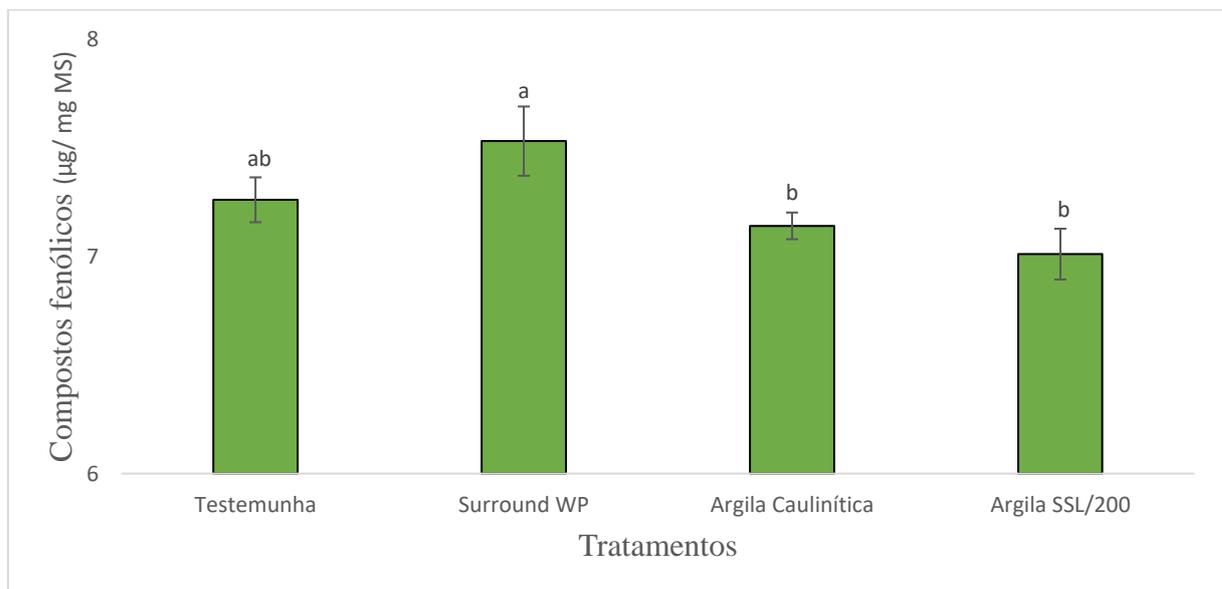
Os teores de clorofila (a+b), carotenoides e lignina solúvel não diferiram significativamente entre os tratamentos testados (Tabela 3). O produto Surround® WP apresentou 3,71%, 5,46% e 7,41% maior teor de compostos fenólicos solúveis totais em relação a testemunha, a argila caulínica e a argila ssl/200, respectivamente (Tabela 3; Figura 1). Desse modo, pode-se concluir que o caulim Surround® WP pode potencializar a produção de compostos fenólicos no campo, enquanto que a aplicação das argilas da Terra Nova ocasionou menor produção quando comparadas a plantas não tratadas. De acordo com a empresa Novasource, a argila Surround® WP é processada com adjuvantes para o uso na agricultura e possui uma formulação que possibilita seu espalhamento uniforme e fixação duradoura no tecido vegetal. As argilas da Terra Nova são compostas por caulim e têm potencial de possuir propriedades de reflexão da luz solar assim como o produto Surround® WP. No entanto, otimizações quanto a tamanho de partícula e fixação devem ser estudadas para o seu possível uso no tecido vegetal.

Tabela 3- Médias dos teores de clorofila (a+b), carotenoides, composto fenólicos solúveis totais e lignina solúvel total quantificados em folhas de cafeeiro cultivado no campo.

Tratamentos	Clorofila (a+b)	Carotenoides	Fenólicos	Lignina solúvel
Testemunha	2,78 a	0,76 a	7,26 ab	11,69 a
Surround® WP	3,81 a	0,86 a	7,53 a	11,96 a
Argila Caulínítica	3,07 a	0,98 a	7,14 b	10,66 a
Argila SSL/200	3,93 a	0,98 a	7,01 b	10,17 a

Fonte: Da autora (2021)

Figura 1- Teores de compostos fenólicos solúveis totais em folhas de cafeeiro cultivado em campo sob diferentes tratamentos.



Legenda: Barras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Da autora (2021).

4.2 Experimento em casa de vegetação

Os resultados das argilas silicatadas aplicadas em mudas de cafeeiro não diferiram quanto ao incremento de diâmetro e altura em relação as plantas do tratamento controle (Tabela 4). As propriedades de reflexão da luz solar das argilas silicatadas promove proteção ao aparato fotossintético, mitigando a degradação dos pigmentos fotossintetizantes (DINIS et al, 2016a; KHAVARI et al 2021). Em casa de vegetação observaram-se diferenças significativas entre os

tratamentos para os teores de clorofila (a+b), não sendo constatado resultados significativos quanto ao teor de carotenoides. O Surround® WP destacou-se quanto ao aumento de conteúdo dos pigmentos fotossintéticos em comparação a testemunha e as argilas da Terra Nova. Pôde-se observar 55 %, 103% e 58% maiores teores de clorofila (a+b) em plantas pulverizadas com Surround® WP, quando comparadas a testemunha e plantas pulverizadas com argila caulínica e argila ssl/200, respectivamente (Tabela 4; Figura 2). DINIS et al. (2016b) também constataram que a aplicação do Surround® WP, em folhas de videiras em pleno sol, ocasionou o aumento de 41% de clorofila (a+b) e de 24% de carotenoides no primeiro ano de aplicação.

Não houve diferença significativa no teor de compostos fenólicos solúveis totais entre os tratamentos avaliados. A aplicação de Surround® WP apresentou 38,75%, 9,75% e 30,49% maior produção de lignina solúvel em comparação a testemunha e a aplicação das argilas caulínica e ssl/200, respectivamente (Tabela 4; Figura 3).

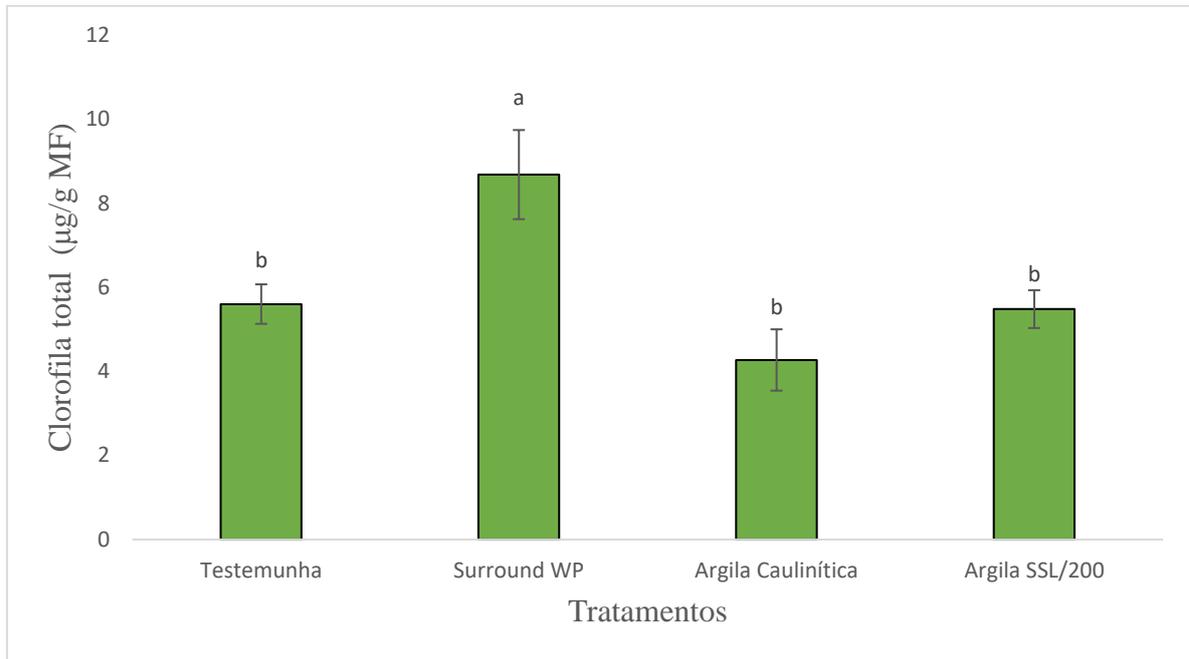
Tabela 4- Médias dos parâmetros de crescimento do cafeeiro; conteúdo de clorofila (a+b), carotenoides, compostos fenólicos solúveis totais e lignina solúvel em folhas de plantas de cafeeiro cultivadas em casa de vegetação.

Tratamentos	Diâmetro	Altura	Clorofila (a+b)	Carotenoides	Fenólicos	Lignina solúvel
Testemunha	1,55 a	5,60 a	5,60 b	1,33 a	7,95 a	9,16 b
Surround® WP	1,32 a	5,13 a	8,68 a	1,19 a	8,03 a	12,71 a
Argila Caulínica	1,39 a	5,37 a	4,27 b	0,88 a	7,39 a	11,57 ab
Argila SSL/200	1,34 a	5,37 a	5,48 b	1,20 a	7,56 a	9,74 b

Legenda: Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

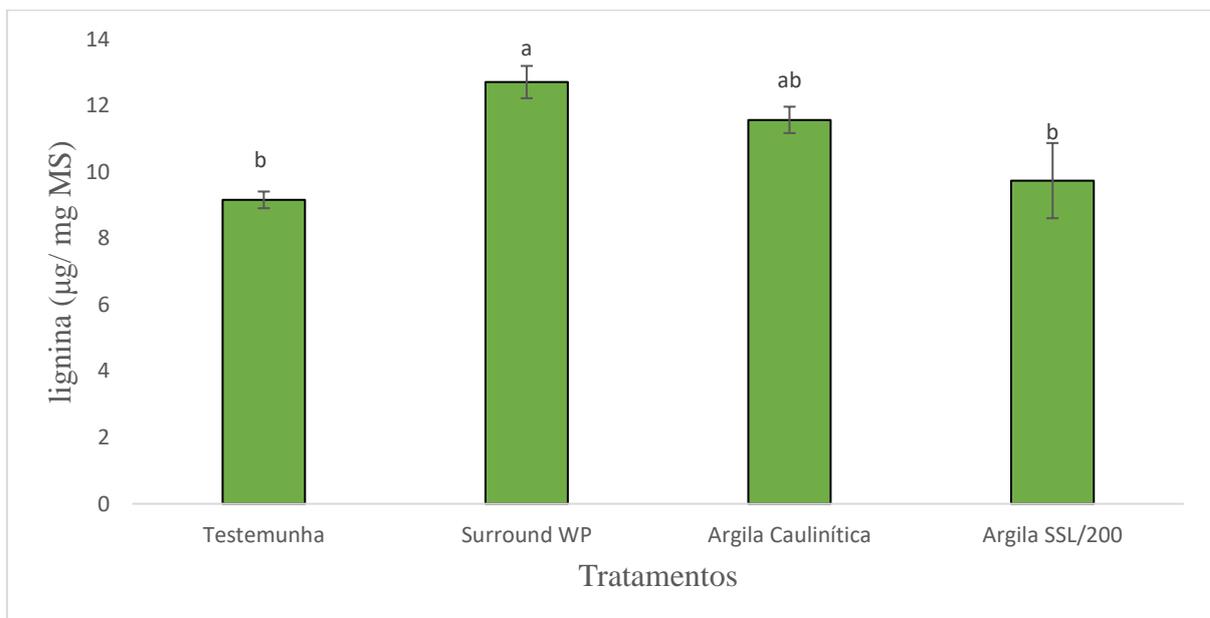
Fonte: Da autora (2021).

Figura 2- Teores de clorofila (a+b) em folhas de cafeeiro cultivado em casa de vegetação sob diferentes tratamentos.



Legenda: Barras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.
Fonte: Da autora (2021).

Figura 3- Teores de lignina solúvel em folhas de plantas de cafeeiro cultivadas em casa de vegetação sob diferentes tratamentos.

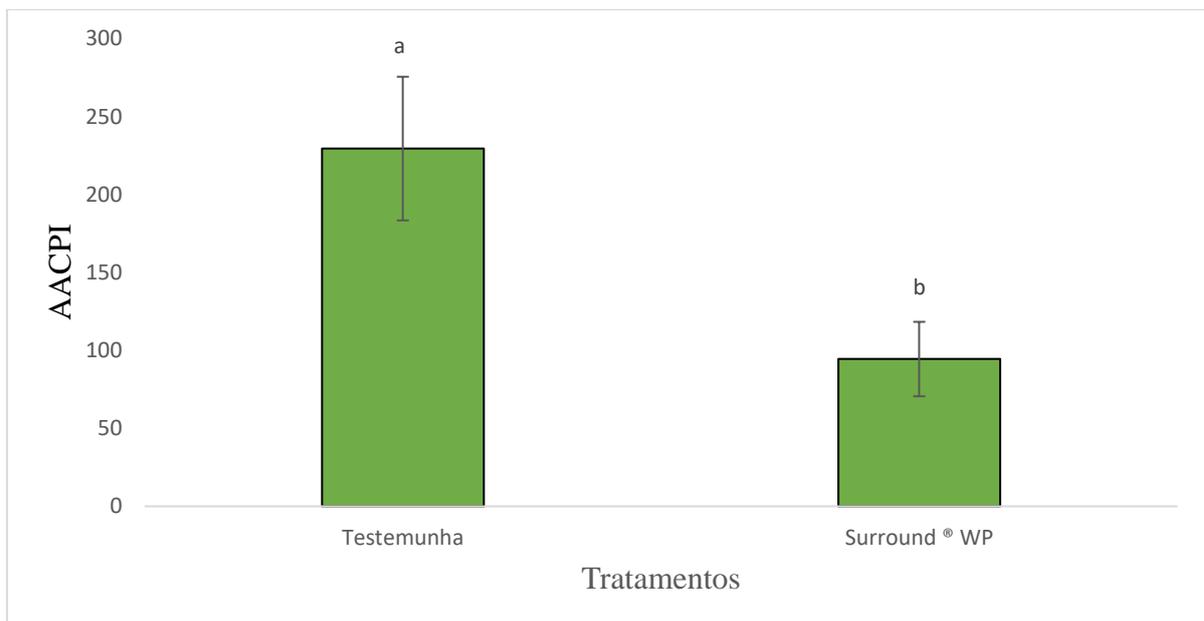


Legenda: Barras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.
Fonte: Da autora (2021).

4.3 Experimento em casa de vegetação com mudas de cafeeiro inoculadas com patógeno

A aplicação do Surround® WP reduziu em 48% a incidência da cercosporiose em relação a testemunha (Figura 4). Bermúdez e Ortiz (2020) obtiveram resultados similares em um experimento conduzido em campo composto por quatro regiões de cultivo de café arábica na Costa Rica. De acordo com os autores, Surround® WP proporcionou a redução da incidência não somente de *C. coffeicola*, mas também de outros 3 patógenos fúngicos do cafeeiro. Plantas tratadas com Surround® WP apresentaram 48, 60, 48 e 44% menor incidência de *H. vastatrix*, *C. coffeicola*, *Colletotrichum coffeanum*, e *Mycena citricolor* respectivamente, quando comparado ao tratamento controle.

Figura 4- Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) da cercosporiose do cafeeiro nos tratamentos Surround® WP e testemunha conduzidos em casa de vegetação.

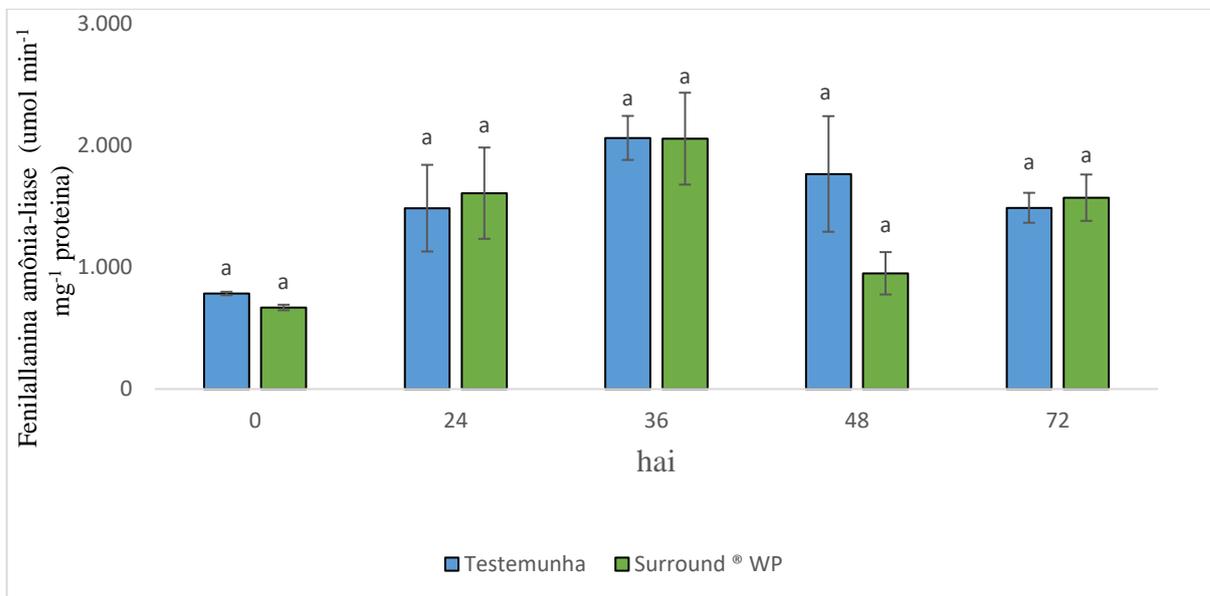


Legenda: Barras seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.
Fonte: Da autora (2021).

Não houve diferença entre os tratamentos quanto a atividade das enzimas PAL, POX e PPO em todos os tempos avaliados (0, 24, 36, 48 e 72 horas após a inoculação de *C. coffeicola*) (Figura 5, 6 e 7), exceto na atividade da PPO no tempo 0 que apresentou um aumento em plantas pulverizadas com Surround® WP (Figura 6). A redução da cercosporiose não foi relacionada ao aumento da atividade das enzimas de defesa PAL, POX e PPO, visto que essas não tiveram

aumento significativo nos diferentes tempos de colonização do patógeno. O silicato atua no controle de doenças de acordo com a forma que é oferecido para a planta (Dallagnol et al., 2012). Dallagnol et al. (2015) demonstraram que tanto a aplicação foliar quanto a aplicação via solo de silicato de potássio reduziram a eficiência da infecção de *P. xanthii* no meloeiro. No entanto, somente o fornecimento nas raízes potencializou as defesas do hospedeiro, antecipando a atividade de peroxidases, acúmulo de compostos fenólicos, aumento da atividade de enzimas antifúngicas e antioxidantes. Enquanto nas folhas a redução da colonização foi relacionada ao aumento da deposição de lignina e a alterações físico-químicas na superfície do hospedeiro, após a aplicação foliar.

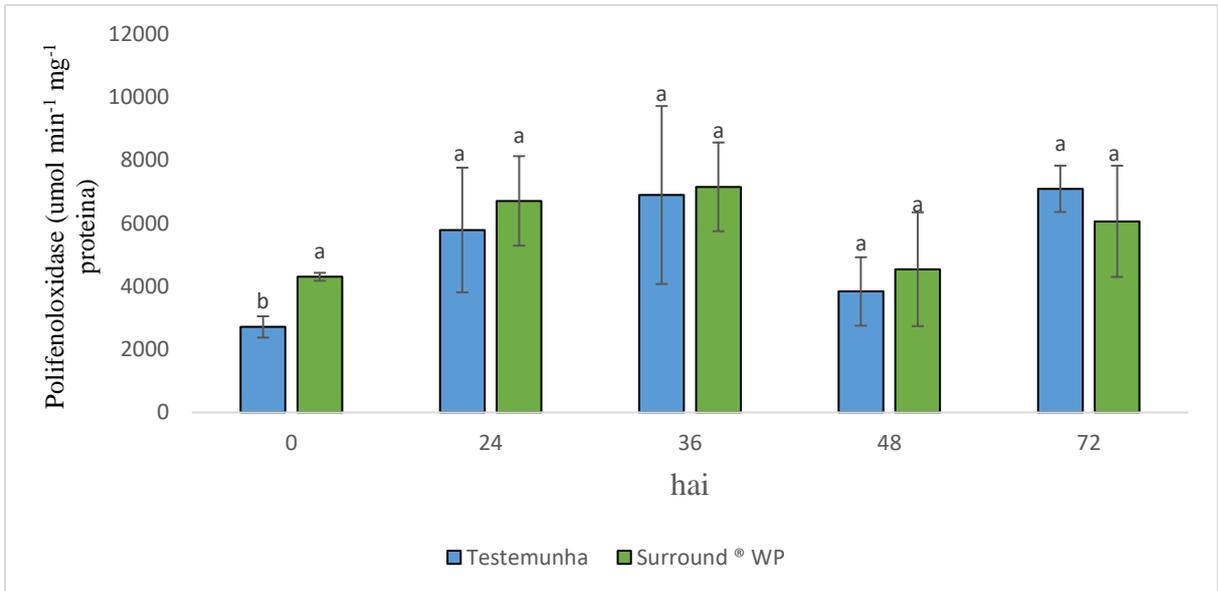
Figura 5- Atividade da PAL.



Legenda: Barras seguidas pela mesma letra, dentro do mesmo tempo de coleta, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. hai: horas após a inoculação.

Fonte: Da autora (2021).

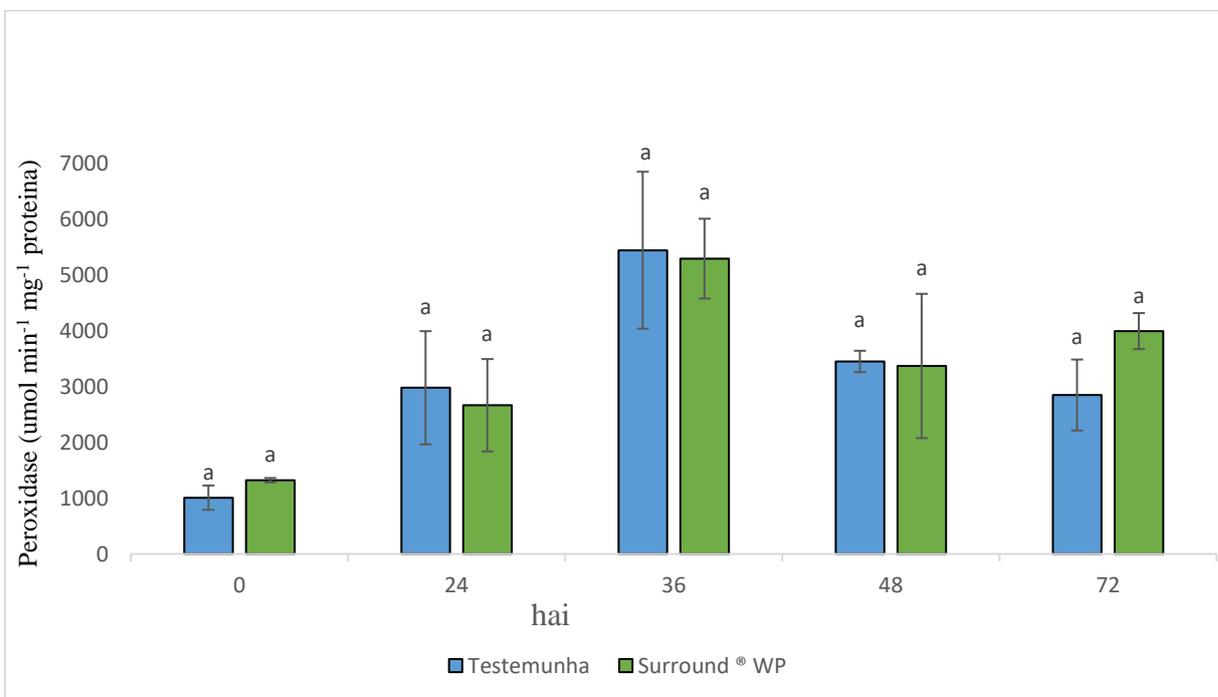
Figura 6- Atividade da PPO.



Legenda: Barras seguidas pela mesma letra, dentro do mesmo tempo de coleta, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. hai: horas após a inoculação.

Fonte: Da autora (2021).

Figura 7- Atividade da POX.



Legenda: Barras seguidas pela mesma letra, dentro do mesmo tempo de coleta, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. hai: horas após a inoculação.

Fonte: Da autora (2021).

Filmes de partículas silicatadas formam uma película de proteção física ao tecido vegetal, retardando a colonização de patógenos. O cafeeiro apresenta baixa eficiência de assimilação do Si devido a rápida polimerização do silicato na superfície da folha (CARRÉ-MISSIO et al., 2012). No entanto, Carré-Missio et al. (2014) demonstraram em análises de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) que a aplicação foliar de silicato de potássio no cafeeiro forma placas espessas de silicato polimerizado na cutícula que parecem impedir a formação de urédias de *H. vastatrix*. Dallagnol et al. (2020) também observaram em MEV a redução da germinação de conídios e retardamento do desenvolvimento da colônia do patógeno *P. xanthii* em raízes e folhas do meloeiro, após aplicação via solo e foliar de silicato de potássio. Desse modo, a redução da cercosporiose pode ser resultante da proteção física oferecida pela polimerização do caulim na superfície foliar.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pulverização das argilas silicatadas não alterou o crescimento do cafeeiro. Diferentes estudos relatam a eficiência do uso do caulim na redução da temperatura foliar, e consequente aumento nas taxas fotossintéticas. O aumento de energia disponível não influenciou no crescimento do cafeeiro, mas há relatos de melhora na produção de frutos, resultando em frutos maiores, com menos defeitos e consequentemente maior produção e rendimento (ABREU et al 2017a; BERMUDEZ E ORTIZ, 2020; KHAVARI et al, 2021). Abreu et al. (2017a) constataram 28,4% maior qualidade dos grãos, aumento de 6,9% no rendimento em grãos de café seco em côco e acréscimo de 4 sacas de 60 kg em plantas pulverizadas com Surround® WP. Bermúdez e Ortiz (2020) demonstraram que o uso de Surround® WP em quatro fazendas de café arábica na Costa Rica propiciou durante quatro ciclos de produção aumentos significativos na produção de 28, 27, 24 e 47% (BERMÚDEZ; ORTIZ, 2020).

Em folhas de videiras o tratamento com caulim não apresentou diferenças substanciais no conteúdo de compostos fenólicos, mas desencadeou o aumento de 30 a 66% em frutos verdes e maduros em relação aos frutos de plantas não tratadas. Além disso, análises de RT-qPCR demonstraram que frutos tratados com caulim tendem a ter duas vezes mais atividade da PAL, indicando que o caulim pode atuar em um nível transcricional (CONDE et al., 2016; DINIS, L et al., 2016). Desse modo, estudos futuros com enfoque nos frutos do cafeeiro, quanto a qualidade, produção, rendimento e conteúdo de compostos de defesa, poderão esclarecer sobre a utilidade do caulim na cultura.

6 CONCLUSÃO

A pulverização de argilas silicatadas não influenciou no crescimento do cafeeiro. Plantas pulverizadas com o produto Surround® WP destacaram-se por apresentar maiores teores de clorofila (a+b), de compostos fenólicos solúveis totais no campo e lignina solúvel em casa de vegetação. O uso de Surround® WP foi eficaz na redução de 48% da incidência da cercosporiose do cafeeiro. Portanto, a argila silicatada Surround® WP pode ser uma alternativa viável no manejo integrado da cercosporiose, visando a redução dos danos ambientais.

REFERÊNCIAS

- ABDALLAH, A. Impacts of Kaolin and Pinoline foliar application on growth, yield and water use efficiency of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) grown under water deficit: A comparative study. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 18, n. 3, p. 256–268, 2019.
- ABREU, D. P. et al. Aplicação de Surround® WP, um filme de partículas inorgânicas a base de caulim, em *Coffea canephora*. In: **Congresso brasileiro de pesquisas cafeeiras**, 42, 2016, Serra Negra, SP. Produzir mais café, com economia, só com boa tecnologia. Brasília, DF: Embrapa Café, 2016.
- ABREU, D. P. et al. Os efeitos do uso de Surround® WP na produtividade da cafeicultura praticada nas condições edafoclimáticas de regiões de baixada. In: **Congresso brasileiro de pesquisas cafeeiras**, 43., 2017, Poços de Caldas. Novas tecnologias para um bom café produzir. Brasília, DF: Embrapa Café, 2017a.
- ABREU, D. P. et al. Uso de Surround® WP na cafeicultura como mitigador do estresse por altas temperaturas. In: **Congresso brasileiro de pesquisas cafeeiras**, 43., 2017, Poços de Caldas. Novas tecnologias para um bom café produzir. Brasília, DF: Embrapa Café, 2017b.
- ABREU, D. P. et al. Aplicação do filme de partículas de caulinita processada em *Coffea* sp.: efeitos na temperatura foliar. In: **Congresso fluminense de pós-graduação**, 5., 2020, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro: UENF, 2020.
- AMARAL, D.R. et al. Potassium silicate in the induction of resistance in coffee seedlings against *Cercospora coffeicola*. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 6, p. 425–431, 2008.
- ARNON, D. I. Copper Enzymes in Isolated Chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta Vulgaris. **Plant Physiology**, v. 24, n. 1, p. 1–15, 1949.
- AYALEW, T. Characterization of organic coffee production, certification and marketing systems: Ethiopia as a main indicator: A review. **Asian J Agric Res**, v.8, p.170–180, 2014.
- AZEVEDO, J. R. et al. Discriminating Organic and Conventional Coffee Production Systems Through Soil and Foliar Analysis Using Multivariate Approach. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 50, n. 6, p. 651–661, 2019.
- BERMÚDEZ, A. F.; ORTIZ, R. A. Surround WP®: Valuable alternative to improve productivity and diseases incidence of coffee crop - A review. **Acta Horticulturae**, v. 1269, p. 261–267, 2020.
- BERNARDO, S. et al. Kaolin particle film application lowers oxidative damage and DNA methylation on grapevine (*Vitis vinifera* L.). **Environmental and Experimental Botany**, v. 139, p. 39–47, 2017.
- BIEMELT, S.; KEETMAN, U.; ALBRECHT, G. Re-Aeration following Hypoxia or Anoxia Leads to Activation of the Antioxidative Defense System in Roots of Wheat Seedlings. **Plant Physiology**, v. 116, p. 651–658, 1998.

BOARI, F. et al. Kaolin improves salinity tolerance, water use efficiency and quality of tomato. **Agricultural Water Management**, v. 167, p. 29–37, 2016.

BOTELHO, D. et al. Cercosporiosis resistance in coffee germplasm collection. **Euphytica**, v. 213, n. 6, 2017.

BRADFORD, Marion M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, p. 248–274, 1976.

BRISSON, L. F.; TENHAKEN, R.; LAMB, C. Function of oxidative cross-linking of cell wall structural proteins in plant disease resistance. **Plant Cell**, v. 6, n. 12, p. 1703–1712, 1994.

CARRÉ-MISSIO, V. et al. Effect of foliar-applied potassium silicate on coffee leaf infection by *Hemileia vastatrix*. **Annals of Applied Biology**, v. 164, n. 3, p. 396–403, 2014.

CARRÉ-MISSIO, V. et al. Componentes epidemiológicos da ferrugem do cafeeiro afetados pela aplicação foliar de silicato de potássio. **Tropical Plant Pathology**, v. 37, n. 1, p. 50–56, 2012.

CHERIF, M.; ASSELIN, A.; BELANGER, R. R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. **Phytopathology**, v. 84, n.3, p. 236–242, 1994.

CONDE, A. et al. Kaolin foliar application has a stimulatory effect on phenylpropanoid and flavonoid pathways in grape berries. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1–14, 2016.

DALLAGNOL, L. J.; MAGANO, D. A.; CAMARGO, L. E. A. Microscopic analysis reveals potential mode of action of foliar-applied potassium silicate against powdery mildew development. **European Journal of Plant Pathology**, v. 157, n. 4, p. 815–823, 2020.

DALLAGNOL, L. J. et al. Comparison of root and foliar applications of potassium silicate in potentiating post infection defences of melon against powdery mildew. **Plant Pathology**, v. 64, p. 1085–1093, 2015.

DALLAGNOL, L. J. et al. Effect of potassium silicate on epidemic components of powdery mildew on melon. **Plant Pathology**, 61, 323–330, 2012.

DAUB, M. E.; HERRERO, S.; CHUNG, K. R. Reactive oxygen species in plant pathogenesis: The role of perylenequinone photosensitizers. **Antioxidants and Redox Signaling**, v. 19, n. 9, p. 970–989, 2013.

DE OLIVEIRA FASSIO, L. et al. Sensory Description of Cultivars (*Coffea Arabica* L.) Resistant to Rust and Its Correlation with Caffeine, Trigonelline, and Chlorogenic Acid Compounds. **Beverages**, v. 2, n. 1, p. 1, 2016.

DINIS, L. T. et al. Kaolin-based, foliar reflective film protects photosystem II structure and function in grapevine leaves exposed to heat and high solar radiation. **Photosynthetica**, v. 54, n. 1, p. 47–55, . 2016a.

- DINIS, L. T. et al. Kaolin modulates ABA and IAA dynamics and physiology of grapevine under Mediterranean summer stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 220, p. 181–192, 2018.
- DINIS, L. et al. Kaolin exogenous application boosts antioxidant capacity and phenolic content in berries and leaves of grapevine under summer stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 191, p. 45–53, 2016b.
- DIXON, R. A. et al. The phenylpropanoid pathway and plant defence - A genomics perspective. **Molecular Plant Pathology**, v. 3, n. 5, p. 371–390, 2002.
- DOSTER, M.A.; BOSTOCK, R., M. Quantification of Lignin Formation in Almond Bark In Response to Wounding and Infection by Phytophthora Species. **Physiology and Biochemistry**. v. 78, p. 473–477, 1988.
- ECHANDI, E. La chasparria de los cafetos causada por el hongo *Cercospora coffeicola* Berk. & Cooke. **Turrialba**, v. 9, p. 54-67, 1959.
- EL-ABDEAN, W. Z. et al. Effect of silicon compounds against *Macrophomina phaseolina* the causal agent of soybean charcoal rot disease. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, 2020.
- FAWE, A. et al. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. **Phytopathology**, v. 88, n. 5, p. 396–401, 1998.
- FERREIRA, R. B. et al. The role of plant defence proteins in fungal pathogenesis. **Molecular Plant Pathology**, v. 8, n. 5, p. 677–700, 2007.
- FIBL; IFOAM-ORGANICS INTERNATIONAL. The World of Organic Agriculture: Statistics and Emerging Trends 2021. **Research Institute of Organic Agriculture (FIBL) e IFOAM- Organics International**, p. 4-10, 2021.
Disponível em: <https://www.fibl.org/fileadmin/documents/shop/1150-organic-world-2021.pdf>. Acesso em: 25 de junho de 2021.
- FORTUNATO, A. A.; RODRIGUES, F.; DO NASCIMENTO, K. J. Physiological and biochemical aspects of the resistance of banana plants to *Fusarium* wilt potentiated by silicon. **Phytopathology**, v. 102, p. 957–966, 2012.
- FREW, A. et al. The role of silicon in plant biology: A paradigm shift in research approach. **Annals of Botany**, v. 121, p. 1265–1273, 2018.
- FRIONI, T. et al. Kaolin Reduces ABA Biosynthesis through the Inhibition of Neoxanthin Synthesis in Grapevines under Water Deficit. **International Journal of Molecular Sciences Article**, v. 21, n. 4950, p. 1–9, 2020.
- FRIONI, T. et al. Understanding kaolin effects on grapevine leaf and whole-canopy physiology during water stress and re-watering. **Journal of Plant Physiology**, v. 242, 2019.
- GLENN, D. M.; PUTERKA, G. J. Particle Films: A New Technology for Agriculture. **Horticultural Reviews**, v. 31, p. 1–44, 2005.

GOMES, E. C. S. et al. Manejo do míldio e ferrugem em videira com indutores de resistência: Produtividade e qualidade pós-colheita. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, n. 5, p. 332–335, 2011.

GOMES, R. S. S. et al. Bioatividade de indutores de resistência no manejo da antracnose da goiabeira (*Psidium guajava* L.). **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 2, p. 149–154, 2016.
HADDAD, F. et al. Biological control of coffee rust by antagonistic bacteria under field conditions in Brazil. **Biological Control**, v. 49, n. 2, p. 114–119, 2009.

INTERNACIONAL COFFEE ORGANIZATION (ICO). Crop year production by country. p. 1–2, 2021. Disponível em: <https://www.ico.org/prices/po-production.pdf>. Acesso em: 31 de julho de 2021.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, Peroxidase, and Polyphenoloxidase Activities during Rice Leaf Senescence1. **Plant Physiology**. v. 57, p. 315–319, 1976.

KHAVARI, M. ; FATAHI, R. ; ZAMANI, Z. Salicylic acid and kaolin effects on pomological, physiological, and phytochemical characters of hazelnut (*Corylus avellana*) at warm summer condition. **Scientific Reports**, v. 11, p. 4568, 2021.

KROHLING, C. A. et al. Aplicação de Surround® WP, um filme de partículas inorgânicas a base de caulim, e seu efeito no tamanho dos frutos de *Coffea canephora*. In: **Congresso brasileiro de pesquisas cafeeiras**, 42., 2016, Serra Negra, SP. Produzir mais café, com economia, só com boa tecnologia: Brasília, DF: Embrapa Café, 2016a.

KROLING, C.A., ABREU, S.P. AVALIAÇÃO DO EFEITO DE SURROUND® WP NAS CARACTERÍSTICAS ECOFISIOLÓGICAS DE CAFÉ CONILON (*Coffea canephora* Pierre). In: **Congresso brasileiro de pesquisas cafeeiras**, 42., 2016, Serra Negra, SP. Produzir mais café, com economia, só com boa tecnologia. Brasília, DF: Embrapa Café 2016b.

LIMA, S. K. et al. Produção e consumo de produtos orgânicos no mundo e no Brasil. **Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada: ipea**, Brasília, DF, p. 7–44, 2019. Disponível em: <http://www.ipea.gov.br/portal/publicacoes>

LOPES, U. P. et al. Silicon and Triadimenol for the Management of Coffee Leaf Rust. **Journal of Phytopathology**, v. 162, n. 2, p. 124–128, 2014.

LUZ, A. B. ; FREITAS, F. A. Rochas & Minerais Industriais Usos e Especificações. 2ª Edição, Rio de Janeiro: CETEM/MCT. **Centro de Tecnologia Mineral**, v. 15, 2008.

MISHRA, B. B.; GAUTAM, S. Polyphenol oxidases: biochemical and molecular characterization, distribution, role and its control. **Enzyme Engineering**. v. 5, p. 1–9, 2016
NEWMAN, A. G.; TOWNSEND, C. A. Molecular Characterization of the Cercosporin Biosynthetic Pathway in the Fungal Plant Pathogen *Cercospora nicotianae*. **Journal of the American Chemical Society**, v. 138, n. 12, p. 4219–4228, 2016.

PEREIRA, I. S. et al. How does the physiological activity and growth of tomato plants react to the use of a soil-mineral compound? **Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas**, v. 13, n. 2, p. 248–258, 2019.

POZZA, E. A.; POZZA, A. A. A. Manejo de doenças de plantas com macro e micronutrientes. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 52-54, 2003.

POZZA, A. A. A. et al. Efeito do silício no controle da cercosporiose em três variedades de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 185–188, 2004.

POZZA, E. A.; CARVALHO, L. C.; CHALFOUN, S. M. Sintomas de injúrias causadas por doenças em cafeeiro. In Guimarães, R. J. Mendes, A. N. G.; Baliza, D. P. (Eds.), **Semiologia do cafeeiro: Sintomas de desordens nutricionais, fitossanitárias e fisiológicas**. Lavras: Editora UFLA, p. 68-106, 2010.

RAHMAN, A.; WALLIS, C. M.; UDDIN, W. Silicon-induced systemic defense responses in perennial ryegrass against infection by *Magnaporthe oryzae*. **Phytopathology**, v. 105, n. 6, p. 748–757, 2015.

RAMAMOORTHY, V. et al. Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. **Crop Protection**, v. 20, n. 1, p. 1–11, 2001.

RÉMUS-BOREL, W.; MENZIES, J. G.; BÉLANGER, R. R. Silicon induces antifungal compounds in powdery mildew-infected wheat. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 66, n. 3, p. 108–115, 2005.

RICHARDSON, A. D.; DUGAN, S. P.; BERLYN, G. P. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. **New Phytologist**, v. 153, n. 1, p. 185–194, 2002.

RODRIGUES, F. A. et al. Silicon potentiates host defense mechanisms against infection by plant pathogens. In: Silicon and Plant Diseases. **Springer International Publishing Switzerland**, p. 109–138, 2015.

RODRIGUES, F. A. et al. Silicon enhances the accumulation of diterpenoid phytoalexins in rice: A potential mechanism for blast resistance. **Phytopathology**, v. 94, n. 2, p. 177–183, 2004.

ROSYADY, M. G. et al. Role of Mineral Elements to Induce the Resistance of Arabica Coffee against Rust Disease at Lowland Area. **E3S Web of Conferences**, v. 142, p. 2019–2021, 2020.

SANTINATO, R. et al. Protetor solar Surround®WP atuando na proteção do cafeeiro contra escaldadura ou queimadura. Embrapa Café. In: **Congresso brasileiro de pesquisas cafeeiras**, 42., 2016, Serra Negra, SP. Produzir mais café, com economia, só com boa tecnologia. Brasília, DF: Embrapa Café, 2016.

SOUZA, A. G.C.; HERRERO, S.; DAUB, M. E. The Toxin Cercosporin is a Virulence Factor for Infection of Coffee by *Cercospora coffeicola*. **bioRxiv**, 2019

SOUZA, A. G. C.; MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G. Cultural and Aggressiveness Variability of *Cercospora coffeicola*. **Journal of Phytopathology**, v. 160, n. 10, p. 540–546, 2012.

- SOUZA, A. G. C. et al. Infection process of cercospora coffeicola on coffee leaf. **Journal of Phytopathology**, v. 159, n. 1, p. 6–11, 2011.
- SPANOS, G. A.; WROLSTAD, R. E. Influence of Processing and Storage on the Phenolic Composition of Thompson Seedless Grape Juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 7, p. 1565–1571, 1990.
- STEIMAN, S. R.; BITTENBENDER, H. C.; IDOL, T. W. Analysis of kaolin particle film use and its application on coffee. **HortScience**, v. 42, n. 7, p. 1605–1608, 2007.
- TALHINHAS, P. et al. The coffee leaf rust pathogen *Hemileia vastatrix*: one and a half centuries around the tropics. **Molecular Plant Pathology**, v. 18, n. 8, p. 1039–1051, 2017.
- URBANEK, H.; KUZNIAK-GEBAROWSKA, E.; HERKA, H. Elicitation of defence responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 13, p. 43–50, 1991.
- VAN BOCKHAVEN, J.; DE VLEESSCHAUWER, D.; HOFTE, M. Towards establishing broad-spectrum disease resistance in plants: silicon leads the way. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 5, p. 1281–1293, 2013.
- VAN LOON, L. C. et al. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 12, n. 3, p. 245–264, 1994.
- WANG, M. et al. Role of silicon on plant–pathogen interactions. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. May, p. 1–14, 2017.
- ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, E. M. Doenças do cafeeiro. In: KIMATI, A. et al. Manual de fitopatologia. **Agronômica Ceres**, v. 2, p. 165–180, 2005.
- ZAMBOLIM, L. Doenças do Cafeeiro. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Org). Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas. 5. ed. São Paulo: **Ceres**, v. 21, p. 193–213, 2016.
- ZUCKER, M. Induction of Phenylalanine Deaminase by Light and its Relation to Chlorogenic Acid Synthesis in Potato Tuber Tissue. The Connecticut Agricultural Experiment Station. **Physiology**, v. 40, n. 5, p. 779–784, 1965.