

MARIA SANTINA XAVIER FILHA

**COMPONENTES DE RESISTÊNCIA À BRUSONE E RESPOSTAS
FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS DE TRIGO SUPRIDAS
COM SILÍCIO**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de Pós-
graduação em Fitopatologia, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2008

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

X3c
2008

Xavier Filha, Maria Santana, 1980-

Componentes de resistência à brusone e respostas fisiológicas e bioquímicas de plantas de trigo supridas com silício / Maria Santana Xavier Filha. – Viçosa, MG, 2008.

xi, 56f.: il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Fabrício de Ávila Rodrigues.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 44-56.

1. Trigo - Doenças e pragas - Aspectos fisiológicos.
2. Trigo - Doenças e pragas - Aspectos bioquímicos.
3. Trigo - Efeito do silício. 4. *Pyricularia grisea*.
5. Epidemiologia. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 632.456

MARIA SANTINA XAVIER FILHA

**COMPONENTES DE RESISTÊNCIA À BRUSONE E RESPOSTAS
FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS DE PLANTAS DE TRIGO SUPRIDAS
COM SILÍCIO**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de Pós-
graduação em Fitopatologia, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*

APROVADA: 29 de fevereiro de 2008.

Prof. Eduardo Seiti Gomide Mizubuti
(Co-Orientador)

Prof. Olinto Liparini Pereira
(Co-Orientador)

Prof. Onkar Dev Dhingra

Dr. Trazilbo José de Paula Júnior

Prof. Fabrício de Ávila Rodrigues
(Orientador)

A Deus, pela saúde, presença em minha vida e por tudo que alcancei.

Aos meus queridos pais, Pedro (*In memoriam*) e Maria, pelo amor incondicional.

Aos meus queridos irmãos e irmãs, pelo apoio.

A todos os meus familiares pelo estímulo.

E aos meus amigos, sempre me dando motivos para sorrir.

BIOGRAFIA

Maria Santana Xavier Filha, filha de Pedro Benedito Xavier e Maria Santana Xavier, nasceu em 29 de fevereiro de 1980, na cidade de Paulista, Pernambuco. Ingressou em março de 2000, no curso de agronomia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), graduando-se em Engenharia Agrônômica em fevereiro de 2006. Em Maio de 2006, iniciou o curso Mestrado em Fitopatologia na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se a defesa de dissertação em fevereiro de 2008.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade da realização do curso de mestrado em Fitopatologia.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de mestrado e pelo apoio financeiro para o desenvolvimento do projeto de pesquisa.

Ao professor Fabrício de Ávila Rodrigues, pela orientação, confiança, ensinamentos e principalmente pela sua amizade.

A todos os professores do departamento de fitopatologia da UFV que tiveram papel importante na minha formação profissional e pessoal, especialmente aos professores Francisco do Vale, Dhingra, Olinto Liparini, José Rogério e à professora Rosângela pela amizade, carinho e apoio sempre.

Ao Dr. Trazilbo José de Paula Júnior e aos professores Eduardo Seiti Gomide Mizubuti, Olinto Liparini Pereira e Onkar Dev Dhingra, pelas sugestões, críticas apresentadas e pela disponibilidade em participar da banca de defesa desta dissertação.

À Gisele (Razinha), por toda a ajuda e principalmente pela sincera amizade.

À Vivian pela amizade, pela disponibilidade e por compartilhar seu conhecimento sempre e com todos.

Às amigas e companheiras de fitopatologia Jéssica, Roseli e Hyana, com quem dividi minhas experiências e emoções durante todo desenvolvimento do curso pela excelente convivência na república, pelo companheirismo, pelo carinho e apoio que nunca faltaram.

Aos amigos da Fitopatologia, Dalilinha, Daniel, André, Alexandre Capucho, Nadson, Danielzinho, Fumiko e Renata pela amizade e pelo excelente convívio.

A todos os colegas do laboratório da Interação Planta-Patógeno, especialmente ao Henrique, Wiler e às “meninas” Patrícia e Camila pela ajuda fundamental e pela amizade.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia, Bruno (colega), Jésus, Camilo, Rita, Braz, Eloy, Délio Duarte e ao meu amigo Macabeu pela contribuição e carinho.

Aos meus familiares, pelo apoio, carinho, e pela confiança.

A todos os amigos que proporcionaram momentos maravilhosos em minha vida.

Ao Professor Gaspar H. Korndörfer da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) pela realização das análises da concentração foliar de silício e ao professor Gilberto F. Corrêa por indicar a classe de solo usada nesse estudo.

À Sandra Cerqueira, pela indispensável contribuição nas análises enzimáticas e pela amizade.

Ao Professor Richard Bélanger do Departamento de Fitopatologia da Université Laval (Sainte-Foy, Québec, Canadá) pela realização das microanálises de raios-X.

À Professora Maria Goretti de Almeida Oliveira e ao Prof. Reginaldo S. Romeiro por disponibilizar a utilização de alguns equipamentos em seus laboratórios.

À EMBRAPA (Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão) pelo envio das sementes de trigo usadas neste trabalho e pelos isolados do fungo.

Agradeço a Deus, pela saúde, força e por estar presente em todos os momentos da minha vida.

SUMÁRIO

SUMÁRIO	vii
RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	4
2.1 A brusone do trigo.....	4
2.2 O Silício no controle de doenças de plantas.....	7
3. MATERIAL & MÉTODOS.....	11
3.1 Localização do experimento:	11
3.2 Material de solo:.....	11
3.3 Suprimento de Si às plantas de trigo:.....	11
3.4 Crescimento das plantas de trigo e adubação:.....	13
3.5 Cultivares de trigo, manutenção do isolado de <i>M. grisea</i> e inoculação:	13
3.6 Avaliação dos componentes de resistência	14
3.7 Análise da concentração foliar de Si e cálcio (Ca):	16
3.8 Microanálise de raios-X para determinar a deposição de Si em folhas de trigo:	16
3.9 Determinação do extravasamento de eletrólitos (EE):.....	17
3.10 Determinação da taxa de fotossíntese em folhas de plantas de trigo supridas ou não com Si.....	17
3.11 Determinação da concentração de compostos relacionados à resposta de defesa das plantas de trigo à brusone	18
3.11.1 Determinação da CFST	18
3.11.2 Determinação da concentração dos derivados da LATG.....	19
3.12 Determinação da atividade de enzimas relacionadas com a defesa das plantas de trigo à brusone	20
3.12.1 Quitinases (QUI, EC 3.2.1.14).....	20
3.12.2 Peroxidases (POX, EC 1.11.1.7).....	21
3.12.3 Polifenoloxidasas (PFO, EC 1.10.3.1)	21
3.12.4 Determinação da concentração total de proteínas.....	22
3.13 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	22
4. RESULTADOS.....	23
4.1 Concentração foliar de Ca e Si:.....	23
4.2 Microanálise de raios-X para determinar a deposição de Si em folhas de trigo:	23
4.3 Sintomas da brusone em folhas de plantas de trigo de duas cultivares supridas ou não com Si:.....	24
4.4 Efeito do Si nos componentes de resistência	25
4.5 Extravasamento de eletrólitos (EE):.....	29
4.6 Análise de correlação de Pearson:.....	30
4.7 Avaliação da taxa fotossintética em folhas de plantas de trigo supridas ou não com Si	30
4.8 Determinação da concentração de CFST	31
4.9 Determinação da concentração de derivados da lignina-ácido tioglicólico (LATG)	32
4.10 Atividades de enzimas relacionadas com a defesa de plantas a patógenos....	33
4.10.1 Quitinases.....	33

4.10.2 Peroxidasas.....	34
4.10.3 Polifenoloxidasas	35
5. DISCUSSÃO	37
6. CONCLUSÕES GERAIS	43
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

RESUMO

Xavier Filha, Maria Santana, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2008. **Componentes de resistência à brusone e respostas fisiológicas e bioquímicas de plantas de trigo supridas com silício.** Orientador: Fabrício de Ávila Rodrigues. Co-orientadores: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti e Olinto Liparini Pereira.

Quantificou-se o efeito do silício (Si) sobre componentes de resistência do trigo à brusone, bem como elucidar as possíveis alterações fisiológicas e bioquímicas mediadas por esse elemento em resposta à infecção pelo fungo *Magnaporthe grisea*. Para tanto, duas plantas de trigo das cultivares Aliança e BH1146 foram crescidas em vaso plástico contendo 0 e 1,25 g de volastonita por Kg de solo, o que correspondeu, respectivamente, a 0 e 0,30 g de Si/Kg de material de solo. Para equilibrar o teor de cálcio entre os tratamentos, adicionou-se 0,97 g de carbonato de cálcio (PRNT 100%, 40% Ca) aos vasos que não receberam volastonita, padronizando a concentração de Ca em 0,37 g/vaso. Aos 45 dias após a emergência, as plantas foram inoculadas com suspensão a 10^5 conídios/ml. No primeiro experimento foram avaliados o extravasamento de eletrólitos (EE) e os componentes de resistência: período de incubação (PI), tamanho de lesão (TL), número de lesões (NL) por cm^2 de área foliar, área abaixo da curva do progresso da brusone (AACPB) e severidade estimada pelo QUANT. À exceção do PI, o Si afetou negativamente os componentes de resistência avaliados. Houve aumento de 14,5 h no PI e uma redução no TL, NL, AACPB e SR. Em plantas supridas com Si, o EE de eletrólitos foi reduzido. No segundo experimento, foram avaliados a taxa fotossintética (TF), a concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFST) e de derivados da lignina ácido-tioglicólico (LATG). Houve aumento na taxa líquida da fotossíntese nas plantas supridas com Si, porém somente às 60 e 84 h após a inoculação, respectivamente, para as cultivares Aliança e BH 1146. A concentração de CFST não explicou a resistência das plantas supridas com Si à brusone. Contrariamente, a concentração de derivados da LATG foi maior em plantas das duas cultivares supridas com Si no decorrer do processo infeccioso, o que contribuiu para aumentar o nível de resistência dessas cultivares à brusone. A atividade de quitinases, principalmente em plantas supridas com Si, aumentou durante a infecção por *M. grisea*. Peroxidases também tiveram aumento em atividade em plantas supridas com Si, principalmente da cultivar Aliança. Polifenoloxidasas não tiveram uma participação evidente na

resistência do trigo à brusone, mesmo na presença de Si. Os resultados desse estudo mostram pela primeira vez o efeito positivo do Si em aumentar a resistência do trigo à brusone por atuar negativamente em alguns componentes de resistência, além de potencializar mecanismos de defesa de natureza bioquímica e melhorar a fisiologia da planta no que se refere a uma maior capacidade fotossintética.

ABSTRACT

Xavier Filha, Maria Santana, M.Sc., Federal University of Viçosa, February, 2008.
Components of resistance to wheat blast and physiological and biochemical responses of wheat plants supplied with silicon. Advisor: Fabrício de Ávila Rodrigues. Co-advisors: Eduardo Seiti Gomide Mizubuti and Olinto Liparini Pereira.

The effect of the silicon (Si) was quantified on resistance components of the wheat to blast, as well as elucidates the possible physiological and biochemical alterations mediated by this element in response to the infection by the fungi *Magnaporthe grisea*. Two wheat plants of 'Aliança' and 'BH1146' cultivars were grown in plastic vase contend 0 and 1,25 g of wollastonite for ground kg that corresponded, respectively, to 0 and 0,30 g of Si/Kg of ground material. To balance calcium text between treatments, it was added 0,97 g of calcium carbonate (PRNT 100%, 40% Ca) to the vases that had not received wollastonite, standardizing the concentration of Ca in 0,37 g/vase. To 45 days after emergence, the plants were inoculated with suspension of 10^5 conidia/ml. In the first experiment were evaluated electrolyte leakage (EE) and the components of resistance: incubation period (PI), lesion size (TL), lesions number (NL) for cm² of leaf area, area below the blast progress curve (AACPB) and the severity was estimated by QUANT software. Excepting PI, the Si affected negatively the evaluated resistance components. It had an increase of 14,5 h in PI and a reduction in TL, NL, AACPB and SR. In plants supplied with Si, the EE was reduced. In the second experiment, it was evaluated the photosynthetic tax (TF), the concentration of phenolic composites totals soluble (CFST) and of derivatives of the acid-tioglicolic lignin (LATG). The liquid tax of photosynthesis had increased in the plants supplied with Si, however only to 60 and 84 h after the inoculation, respectively, to cultivars them Aliança and BH 1146. The CFST concentration did not explain the resistance of the plants supplied with Si to blast. Contrarily, derivatives concentration of LATG was higher in plants of the two cultivars supplied with Si in elapsing of the infectious process, what it has contributed to increase the level of resistance of these cultivars to blast. The quitinases activity, mainly in plants supplied with Si, increased during the infection for *M. grisea*. Peroxidases had also increased in activity in plants supplied with Si, mainly of Aliança cultivar. Poliphenoxidases had not an evident participation in the resistance of the wheat to blast, even in the presence of Si. The results of this study show for the first time the

positive effect of Si in increase the resistance of wheat to blast for acting negatively in some components of resistance; beyond amplify defense mechanisms of biochemistry nature and improving the plant physiology with respect to a higher photosynthetic capacity.

1. INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum* spp. L.) é uma gramínea cultivada em todo o mundo e ocupa posição de destaque em relação à área plantada (EMBRAPA 2008). A espécie mais cultivada é a *T. aestivum* conhecida como trigo comum (Camargo & Ferreira Filho, 2000). Em 2005, o cultivo do trigo ocupou grande número de propriedades, gerando muitos empregos diretos e indiretos, e sua produção foi voltada, principalmente, para suprir demandas na alimentação humana, daí sua importância econômica e social (FAEP/IBGE, 2007).

Na América do Sul, o Brasil é o segundo maior produtor de trigo, perdendo apenas para a Argentina, (FAO, 2006). No entanto, a produção não é capaz de suprir a demanda interna e atende cerca de 60% do consumo nacional (FAEP/IBGE, 2007). Em 2007, a área plantada de trigo no Brasil foi cerca de 1,7 milhões de hectares distribuídos entre os Estados do Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Minas Gerais, São Paulo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás, Distrito Federal e Bahia, com produção superior a dois milhões de toneladas, sendo a região Sul responsável por mais de 90% da produção nacional (Conab, 2007).

A forma encontrada para suprir a demanda interna foi a importação, que cresce desde 1989, quando o governo retirou os subsídios. Desde então, houve acentuada queda em área plantada e conseqüentemente, na produção de trigo (Fronza et al., 2007).

Apesar da importância desta cultura, seu potencial não tem sido explorado devidamente (Arruda et al., 2005). Uma das limitações de maior destaque são as variações climáticas que, segundo a Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação (FAO), é responsável pelo decréscimo de produção mundial. Uma alternativa para lidar com condições climáticas adversas é a exploração de novas áreas de cultivo. No Brasil, as regiões do Cerrado com cultivos de trigo vêm aumentando e trata-se de uma alternativa para a diversificação da produção nacional (Fronza et al., 2007). Nestas áreas, o clima é favorável e ocorre a colheita na entressafra de produção dos Estados do Sul e da Argentina. Os estados de maior expressão para produção desse cereal na região dos Cerrados são Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e Distrito Federal (ABITRIGO, 2007).

As doenças estão entre os fatores que limitam a produtividade da triticultura no país. Dentre as doenças, a brusone, causada pelo fungo *Magnaporthe grisea*, tem se

destacado, pois pode causar perdas superiores a 70% no rendimento de grãos. A maioria das cultivares é suscetível à brusone, o que requer o uso do controle químico (Goulart & Paiva, 2000). O que traz sérios prejuízos à saúde humana e ao ambiente, além de gerar um acréscimo nos custos de produção, com incremento de quase 4% por hectare (Conab, 2007).

Inúmeros trabalhos que visam minimizar o impacto da doença na cultura vêm sendo realizados. Citam-se a utilização de cultivares resistentes (Igarashi, 1991; Urashima & Kato, 1994), o tratamento químico das sementes (Goulart & Paiva, 1991) e o uso de fungicidas (Urashima & Kato, 1994; Goulart et al., 1996), porém na maioria dos casos, sem o sucesso esperado no controle da brusone. Assim, faz-se necessário pesquisar medidas alternativas de controle.

O Si retarda o progresso de doenças ao atuar sobre alguns componentes de resistência, como o período de incubação, período latente e área abaixo da curva de progresso da doença (Seebold et al., 2001; Rodrigues et al., 2001a, 2003; Datnoff et al., 2007; Resende, 2007). A resistência das plantas às doenças está diretamente relacionada a uma série de mecanismos de defesa que podem ser ativados antes ou após o estabelecimento do patógeno (Hammond-Kozak & Parker, 2003). De acordo com Yoshida et al. (1962), a polimerização do Si abaixo da cutícula garante uma maior resistência mecânica à parede celular. Kim et al. (2002) demonstraram que em plantas de arroz supridas com Si, a redução na severidade da brusone foi devido ao fortalecimento da parede celular pela deposição do Si que dificulta a penetração do fungo.

Em arroz, vários autores constataram que com a disponibilidade de Si no solo, doenças como a brusone (*Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr), a mancha parda (*Cochliobolus miyabeanus* (Ito & Kuribayashi in Ito) Drechs ex Dastur), a podridão do colmo (*Magnaporthe salvinii* Catt.), a escaldadura (*Monographella albescens* Theum), a queima-das-bainhas (*Thanatephorus cucumeris* (A. B. Frank) Donk) e a descoloração dos grãos (espécies de *Bipolaris*, *Fusarium* e outros fungos) apresentaram uma redução significativa na intensidade (Datnoff et al., 1997; Savant et al., 1997; Rodrigues et al., 2001, 2003). O Si também aumentou a resistência ao míldio pulverulento em alguns cereais de inverno como o trigo, a cevada e o centeio (Leusch & Buchenauer, 1988, 1989; Rodgers-Gray & Shaw, 2000). Em diferentes espécies de dicotiledôneas, o efeito do Si no controle de doenças também já foi registrado na literatura (Bélangier et al., 2003).

A nutrição mineral de plantas é uma alternativa no manejo de doenças, pois plantas bem nutridas são geralmente mais resistentes a infecções por patógenos (Marschner, 1988). O silício (Si) não é considerado elemento essencial para o crescimento das plantas (Epstein, 1994). No entanto, com a maior disponibilidade deste elemento no solo, ocorre um aumento na produtividade de muitas gramíneas, como arroz, cana-de-açúcar, sorgo, milho, aveia, trigo, milho e algumas espécies de dicotiledôneas, como alfafa, feijão, tomate, alface e repolho (Elawad & Green, 1979; Korndörfer & Lepsch, 1999).

É bem documentado na literatura o efeito do Si reduzindo a intensidade de doenças em muitos patossistemas (Bélanger et al., 1995; 2003; Datnoff et al., 1991, Rodrigues et al., 2001a; Seebold et al., 2001, Resende, 2007). O que se espera com a fertilização silicatada é a redução ou até a eliminação das aplicações com fungicidas (Datnoff et al., 1997; Seebold et al., 2004).

Na literatura não existem relatos do efeito do Si sobre a resistência do trigo à brusone. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito desse elemento sobre componentes de resistência bem como as possíveis alterações fisiológicas e bioquímicas ativadas pelo Si e que podem estar associadas à resistência das plantas de trigo à brusone.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A brusone do trigo

Entre as doenças mais importantes que afetam a cultura do trigo, a brusone, causada pelo fungo *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr. [anamorfo *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc.], tem se destacado por ocasionar elevadas perdas nos rendimentos de grãos (Goulart & Paiva, 2000). Esse patógeno ataca mais de 50 gramíneas, sendo o arroz (*Oryza sativa* L.) o seu hospedeiro mais importante (Ou, 1985; Bruno et al., 2001). No Brasil, além do arroz, essa doença foi também constatada na cultura do trigo em 1985, no estado do Paraná (Igarashi et al., 1986). Nos anos subseqüentes, o patógeno disseminou-se para novas áreas, sendo constatada sua presença nos Estados de São Paulo (Igarashi, 1991), Mato Grosso do Sul (Goulart et al., 1990), Rio Grande do Sul (Picinini & Fernandes, 1990), Goiás (Prabhu et al., 1992) e na região dos cerrados do Brasil Central (Anjos et al., 1996), principais regiões tritícolas do Brasil. Atualmente, a doença representa um sério problema, principalmente no norte do Estado do Paraná, sul de São Paulo, Mato Grosso do Sul e na região central do Brasil (Reis & Casa, 2005).

A importância econômica da brusone decorre das reduções no rendimento e na qualidade dos grãos que, quando infestados ou infectados, apresentam-se enrugados, pequenos, deformados e com baixo peso específico (Goulart & Paiva, 2000; 2005). As perdas, em peso, por espiga chegam até 72,5%, dependendo da época da infecção (Goulart & Paiva, 2000).

Os principais sintomas da doença são espigas brancas, principalmente em sua metade superior (Reis & Casa, 2005). Na ráquis, observa-se uma lesão preta brilhante no ponto de penetração do fungo. Como conseqüência, ocorre a morte da espiga na região localizada acima do ponto de penetração. Manchas elípticas acinzentadas sobre o limbo foliar também são frequentemente observadas (Reis & Casa, 2005).

A temperatura que favorece a doença varia de 21 a 27°C, quando há maior esporulação do fungo (Bedendo & Prabhu, 2005). Com relação à umidade relativa, a produção de conídios e o desenvolvimento do micélio ocorrem quando essa variável encontra-se acima de 93% (Bedendo & Prabhu, 2005).

O orvalho tem grande relevância no processo de infecção (Ou, 1985). O patógeno necessita de 10-14 horas de molhamento das espigas para causar infecção

(Reis & Casa, 2005). A severidade da doença está diretamente relacionada à quantidade e à duração do período de molhamento foliar (Bedendo, 1995).

A dispersão do patógeno a longas distâncias pode ocorrer por meio de sementes infectadas. Entretanto, no caso da brusone, esse assunto ainda é contraditório, sementes infectadas de arroz foram associadas à morte de plântulas (Ranganathaiah et al., 1979; Pande et al., 1994; Long et al., 2001), enquanto outros pesquisadores observaram baixa transmissão do fungo a partir de sementes (Lamey, 1970; Chung & Lee, 1983; Manandhar et al., 1998).

A presença do patógeno em sementes de trigo foi constatada em diversas partes do mundo (Richardson, 1979). A disseminação no campo ocorre principalmente pelo vento. Lavouras vizinhas ou distantes e aquelas implantadas mais cedo podem produzir grande quantidade de conídios, o que caracteriza uma importante fonte de inóculo. Durante a maturação, ainda ligado ao conidióforo, o conídio aumenta em tamanho e é envolvido em uma mucilagem que garante a aderência em superfície hidrofóbica (Bedendo e Prabhu, 2005). Uma vez depositado na superfície do hospedeiro, os conídios aderem à superfície da folha antes da emissão de tubo germinativo. Na presença de água livre, ocorre a germinação do conídio e a formação do tubo germinativo e do apressório. A hifa de penetração penetra pela cutícula e raramente pelos estômatos, e há o envolvimento de força mecânica e ação de enzimas (Bedendo e Prabhu, 2005). A colonização é favorecida pela ação das toxinas piricularina e ácido α -picolínico (Pascholati, 1995). Estas promovem a morte da célula da planta e as hifas do fungo se desenvolvem no tecido necrosado. Os sintomas da brusone nas plântulas e o bronzeamento de folhas de plantas adultas foram atribuídos à toxina não específica denominada de ácido α -picolínico e à toxina semi-específica piricularina (Prabhu & Filippi, 2006). Estes autores afirmam que a piricularina juntamente com o ácido α -picolínico exercem um papel fundamental na infecção de *P. grisea* em arroz, suspendendo a reação de hipersensibilidade.

A brusone do trigo é causada por isolados de *M. grisea* distintos daqueles que infectam arroz, fato constatado a partir de trabalhos como análise da gama de hospedeiros, inoculação cruzada (Prabhu et al., 1992; Urashima et al., 1993; Urashima & Kato, 1998), fertilidade e compatibilidade sexual (Urashima et al., 1993) aliada ao padrão de bandas de DNA e outros dados moleculares (Lebrun et al., 1990;

Valent, 1990; Orbach et al., 1996) que confirmaram diferença entre isolados desse fungo.

Existe uma alta variabilidade genética nas populações do patógeno, principalmente para variáveis relacionadas às características culturais, nutricionais e de patogenicidade (Zeigler et al., 1995). Trabalhos relatam variabilidade até mesmo dentro de isolados monospóricos, com várias raças sendo identificadas (Mello e Urashima, 2003). Outros mecanismos como heterocariose, parassexualidade e alterações cromossômicas são considerados responsáveis pela alta variabilidade do fungo (Bedendo & Prabhu, 2005). Conseqüentemente, relatos de perda de resistência em cultivares promissoras são comuns (Bruno & Urashima, 2001).

Compreender as causas que favorecem a quebra da resistência dessas variedades em um curto período de tempo é o objetivo de inúmeras pesquisas. De acordo com Zeigler et al. (1995), as explicações para a instabilidade da resistência dessas novas variedades podem ser agrupadas em dois grandes grupos: a exposição inadequada dos materiais genéticos à diversidade populacional do patógeno durante os programas de melhoramento e a alta variabilidade do fungo. Até recentemente, esse fungo era considerado essencialmente assexual, pois a fase sexual somente era obtida em condições de laboratório (Kato, 1977; Yaegashi, 1977; Silué & Notteghem, 1990). Entretanto, pesquisas num dos centros de origem do arroz sugerem a ocorrência de populações recombinantes (Kumar et al., 1999). No caso do trigo, há maior possibilidade de ocorrência de recombinação sexual, pois se demonstrou que os isolados provenientes do trigo produziram peritécios em mais de 93% dos casos, sendo que em mais de 68% ocorreu a formação completa de peritécios, enquanto que para os isolados do arroz, somente 24% formaram peritécios, sendo que em nenhum desses ocorreu formação completa dos órgãos sexuais (Urashima et al., 1993). Contudo, no Brasil ainda não foram constatados isolados férteis (Bruno & Urashima, 2001).

A utilização de cultivares resistentes é a forma mais eficiente de controle de doenças. Medidas de controle como o tratamento de sementes, a rotação de culturas e a eliminação de plantas voluntárias e de hospedeiros secundários auxiliam na redução do inóculo (Bedendo & Prabhu, 2005). O controle químico é uma medida emergencial e rápida de controle, porém, gera um acréscimo significativo no custo da lavoura. Por este motivo, a aplicação de fungicidas é recomendada quando se faz uma análise da relação custo/benefício considerando áreas que apresentem potencial

elevado de rendimento (EMBRAPA, 2005). Uma alternativa de controle que visa minimizar a ocorrência da doença é o tratamento químico de sementes. De acordo com Lasca et al. (2001), produtos químicos utilizados no tratamento de sementes para o controle de *Bipolaris sorokiniana* foram eficientes no controle de *P. grisea*. A brusone vem sendo considerada de grande importância econômica nos locais onde ocorre devido à intensidade dos sintomas nas folhas e, principalmente, nas espigas. Entretanto, não existe controle químico que seja efetivo e econômico (Goulart et al., 1996), além de cultivares com alto nível de resistência (Goulart & Paiva, 1992, 1993; Urashima & Kato, 1994). No caso da brusone, o controle químico tem sido usado como medida preventiva em áreas que favoráveis à ocorrência de epidemias (Fronza et al., 2007).

2.2 O Silício no controle de doenças de plantas

O silício (Si) é um elemento mineral presente em grandes quantidades nos solos. Segundo Elawad & Green (1979), perde para o oxigênio, ocupando 27%, em massa, da composição da crosta terrestre. Sua disponibilidade às plantas contribui para o aumento de produtividade e crescimento de gramíneas como arroz, trigo, sorgo, cana-de-açúcar, milheto, aveia, milho, grama kikuyu, grama bermuda, entre outras e algumas espécies de dicotiledôneas como tomate, alface, feijão, repolho e alface (Elawad & Green, 1979).

O Si é o principal constituinte mineral de plantas (Epstein, 1994), o que pode ser observado na cana-de-açúcar onde aparece em altas concentrações e sua deficiência pode ser constatada pela presença de sintoma denominado “freckling” (Korndörfer & Datnoff, 1995). Entretanto, o Si não é considerado essencial às plantas, pois não atende os critérios de essencialidade estabelecidos, principalmente por estar amplamente distribuído na natureza, o que dificulta a comprovação científica da sua essencialidade (Epstein, 1994). No entanto, relato de quedas na produção de plantas de trigo desprovidas de Si é registrado na literatura (Rafi et al., 1997). Em virtude da importância do Si para muitas culturas, autores já o classificam como um elemento quase-essencial (Epstein & Bloom, 2005). No Brasil, o Decreto Lei número 4954 (que regulamenta a lei 6894 de 16/01/1980) aprovado em 14 de janeiro de 2004, que dispõe sobre a legislação de fertilizantes, inclui o Si nas formulações dos fertilizantes.

Em plantas de arroz, acredita-se que genes aditivos ou não aditivos, podem estar envolvidos na absorção do Si (Majumder et al., 1985). Ma et al. (2006) identificou genes que são responsáveis pelo transporte e acúmulo de Si em plantas de arroz. As dicotiledôneas acumulam menos de 0,1% de Si; os cereais de inverno (como o trigo, a aveia, o centeio e a cevada) e a cana de açúcar chegam a acumular mais de 1%, e as gramíneas de ambiente aquático, como o arroz, acumulam acima de 5% de Si na matéria seca (Epstein, 1994). Espécies vegetais capazes de concentrar mais de 1% de Si na matéria seca são tidas como acumuladoras de Si (Epstein, 1994). De acordo com Epstein (1999), a concentração de Si nas plantas pode variar de 0,1 até 10%.

É provável que o trigo, por ser uma gramínea, acumule razoáveis quantidades de Si (Casey et al., 2003; Jarvis, 1987; Rafi & Epstein, 1999). Rains et al. (2006) ao estudarem a absorção de Si por plantas de trigo, confirmaram as observações de Rafi & Epstein (1999) e Casey et al. (2003), de que a absorção de Si pelo trigo se baseia na saturação e na concentração de 1 mM. Pode-se observar isso também em outras espécies (Rodrigues, 2001b), bem como no arroz, o que evidencia que as diferenças em acúmulo são com relação a níveis de absorção.

O Si é depositado nas plantas na forma de sílica gel amorfa ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), sendo absorvido a partir da solução do solo na forma de ácido monossilícico (H_4SiO_4) (Tisdale et al., 1993). Na planta, a maior parte do Si acumulado (cerca de 99%) é encontrado na forma de ácido monossilícico polimerizado, de difícil solubilização. O restante é encontrado na forma coloidal ou iônica, sendo menos de 1% do Si total absorvido (Yoshida, 1975). A polimerização de Si na superfície inferior da folha, processo denominado de silicificação, é comum em gramíneas (Lux et al., 2002) e pode ocorrer em algumas dicotiledôneas (Epstein, 1999). De acordo com Korndörfer & Pereira (2001), o Si concentra-se nos tecidos de suporte do caule e das folhas das plantas, o que confere estrutura e resistência ao acamamento, podendo também ser encontrado em pequenas quantidades em grãos e frutos.

O aumento do teor de fósforo nos tecidos; o incremento na resistência mecânica das células; as folhas mais eretas, o que favorece a incidência de luz, maior absorção de CO_2 e redução da transpiração excessiva, permitindo um incremento da taxa fotossintética; a redução da toxidez por Fe, Al e Mn; a redução no número de grãos quebrados, o acamamento das plantas e a interferência na ação de algumas pragas, são os benefícios atribuídos à disponibilidade de Si às plantas, principalmente

às gramíneas (Elawad & Green, 1979; Savant et al., 1997). Como função estrutural, as mudanças anatômicas nos tecidos, como células epidérmicas com a parede celular mais espessa devido à deposição de sílica, favorecem a melhor arquitetura das plantas, aumentando a capacidade fotossintética e a resistência às doenças (Bélanger & Menzies, 2003).

A fertilização silicatada auxilia no controle de doenças, principalmente de etiologia fúngica, como brusone, mancha parda, escaldadura, mancha estreita, podridão do colmo e mancha dos grãos em plantas de arroz (Datnoff et al., 1997; Rodrigues et al., 2001a, Datnoff & Rodrigues, 2005). O Si apresentou resultados positivos também no controle do míldio pulverulento em alguns cereais de inverno como o trigo, a cevada e o centeio (Rodgers-Gray & Shaw, 2000).

O Si é capaz de reduzir a intensidade de doenças em diversos patossistemas (Datnoff et al., 2007). Desenvolvendo pesquisas em solos orgânicos no sul da Flórida (EUA), Datnoff et al. (1990, 1991) demonstraram que a fertilização silicatada, na cultura do arroz, gerou uma redução na incidência da brusone de 17 a 31% e da mancha-parda de 15 a 32% com relação ao tratamento que não recebeu Si. Trabalhos têm demonstrado o efeito da adubação silicatada em arroz como um eficiente método de controle de doenças foliares (Rodrigues et al., 2004 e 2005). Assim, o Si pode ser utilizado como uma estratégia a ser empregada no manejo de doenças visando à eliminação ou à redução no número de aplicações de fungicidas (Datnoff et al., 2007).

O efeito profilático do Si pode ocorrer devido à formação de barreira mecânica ou através de respostas a nível bioquímico (Menzies et al., 1991; Chérif et al., 1992, 1994; Fawe et al., 1998, Bélanger et al. 2003; Rodrigues et al., 2004; 2005). A silicificação das células epidérmicas também funciona como uma barreira física ao ataque de insetos fitófagos (Savan et al., 1997). A associação do Si com constituintes da parede celular, tornando-as menos acessíveis às enzimas de degradação produzidas pelo patógeno (Rodrigues et al., 2003a) pode ocorrer, pois esse elemento é capaz de elevar os conteúdos de hemicelulose e lignina, aumentando a rigidez da parede celular (Adata & Besford, 1986). No patossistema arroz-*R. solani*, Rodrigues et al. (2001) observaram que, do ponto de vista morfológico, o aumento da resistência foi atribuído à deposição e à polimerização do Si abaixo da cutícula, o que seria responsável pelo impedimento na penetração dos apressórios e das almofadas de infecção produzidos pelo fungo na superfície da bainha.

Rodrigues et al. (2003a) por meio de estudos citológicos, evidenciaram que plantas de arroz supridas com Si apresentaram um maior grau de resistência à brusone devido ao acúmulo de compostos fenólicos. Observaram que as hifas do fungo colonizando células da epiderme, mesófilo e xilema apresentaram-se vazias e circundadas por material de natureza eletro-densa de natureza fenólica, o que não foi observado nas células das folhas de plantas não supridas com esse elemento, onde o fungo desenvolveu-se normalmente. Ainda estudando este patossistema, Rodrigues et al. (2004) observaram um acúmulo de fitoalexinas momilactonas A e B nos sítios de infecção, além da expressão de genes da glucanase, peroxidase e PR1 (Rodrigues et al., 2005).

Rémus-Borel et al. (2005) observaram que no patossistema trigo-*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*, a severidade do míldio pulverulento em plantas supridas com Si foi reduzida comparando-se às plantas que não receberam Si. Bélanger et al. (2003) evidenciaram que a resistência de plantas de trigo ao míldio pulverulento (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) mediada pelo Si na fase de penetração e colonização do fungo ocorreu através de formação de papilas e acúmulo de compostos fenólicos. Fauteux et al. (2006) estudando o patossistema *Arabidopsis-Erysiphe cichoracearum* observaram por meio de análises da expressão gênica, que em plantas inoculadas e supridas com Si a expressão dos genes envolvidos no metabolismo primário (ligados à fotossíntese e vias energéticas) foi menos afetada do que em plantas não supridas com Si, nas quais ocorreu uma redução na expressão de muitos desses genes. No patossistema pepino-*Podosphaeria xanthii*, as plantas que receberam Si apresentaram maior concentração de compostos fenólicos e fitoalexinas (Menzies et al., 1991). Não há registro na literatura sobre o efeito do Si sobre os componentes de resistência do trigo à brusone, bem como alterações fisiológicas e bioquímicas que possam estar envolvidas na defesa das plantas ao ataque por *M. grisea*.

3. MATERIAL & MÉTODOS

3.1 Localização do experimento: os experimentos foram instalados e conduzidos em condições de casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia (DFP) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), localizada no município de Viçosa, na região da Zona da Mata, do Estado de Minas Gerais com latitude 20° 45' 14'' S e longitude 42° 52' 53'' W.

3.2 Material de solo: foram utilizados os primeiros 20 cm de solo pertencente à classe Latossolo Amarelo ácrico típico (Embrapa, 1999), de textura argilosa, coletado no município de Uberlândia, Minas Gerais. A escolha desta classe de solo, dentre outros fatores, foi devido a baixo teor de Si disponível (11,8 mg/Kg), natureza ácrica e alto índice de intemperismo, características específicas de um solo deficiente em Si e adequadas para estudos utilizando a fertilização silicatada. As análises físicas e químicas do solo foram realizadas segundo metodologia descrita por Silva (1999).

Tabela 1. Características físicas do solo do Latossolo Amarelo ácrico típico na camada de 0 a 20 cm.

Análise Granulométrica				
Areia grossa	Areia fina	Silte	Argila	Classe Textural
dag/Kg				
34	6	7	53	Argiloso

Tabela 2. Características químicas do material de solo do Latossolo Amarelo ácrico típico na camada de 0 a 20 cm.

Análise Química													
pH	Si	P	K	Al	Ca	Mg	H+Al ⁺³	SB	t	T	V	m	M.O
KCl	mg/Kg			-----cmol _c .dm ³ -----							-----%-----		dag/Kg
		mg.dm ³ -					-						
4,8	11,8	0,5	13	0,1	0,0	0,0	3,8	0,1	0,2	3,9	2,0	40,5	2,3

3.3 Suprimento de Si às plantas de trigo: como fonte de Si, utilizou-se o produto comercial Vansil W-10 (volastonita, CaSiO₃, Ipiranga Comercial Química, localizada em São Paulo). Este produto é livre de contaminantes como o ferro e o fósforo, além de ser frequentemente empregado em trabalhos de pesquisa envolvendo Si (Rodrigues, 2000). As características químicas desse produto são: Poder Relativo de Neutralização Total (PRNT) de 77%, teor total em SiO₂ de 51,9%

(correspondendo a 24,2% de Si), e teor total em CaO de 43,4% (correspondendo a 31% de Ca). As plantas de trigo foram crescidas em condições de fornecimento (+Si) ou não (-Si) de Si, que corresponderam, respectivamente, à adição de 0 ou 1,25 g de volastonita por Kg de solo. Isso correspondeu, respectivamente, à 0 e 0,30 g Si por Kg de solo.

Foi adicionado 0,97 g de carbonato de cálcio (CaCO_3) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) (PRNT 100%; 40% de Ca) nos vasos que receberam 0 g de volastonita com o objetivo de equilibrar o teor de cálcio presente nestes vasos com o teor de cálcio contido nos vasos que receberam a aplicação de 1,25 g de volastonita. Com este procedimento, o teor de cálcio, oriundo da volastonita e do carbonato de cálcio, ficou padronizado para $0,39 \text{ g vaso}^{-1}$. Somente o teor de Si sofreu variação nos tratamentos.

A acidez do solo foi corrigida utilizando-se o silicato de cálcio (volastonita) e/ou carbonato de cálcio, conforme os tratamentos descritos na Tabela 3, com o objetivo de elevar a saturação de bases (V) a 30%. O material de solo, presente em cada vaso, que recebeu volastonita e/ou carbonato de cálcio, foi incubado por 30 dias. Durante este período, a umidade dentro de cada vaso foi mantida constante adicionando-se água sempre que necessário. Após incubação, foi realizada a homogeneização do material de solo, colocando o solo em um saco de polietileno. Amostras de material de solo foram coletadas desses vasos e utilizadas para obter uma amostra composta que foi submetida à análise química (Tabela 4).

Tabela 4. Características químicas determinadas após o período de incubação do material de solo do Latossolo Amarelo ácrico com as doses de volastonita e de carbonato de cálcio.

Análise Química													
volastonit a	CaCO ₃	pH	P	K	Ca ²	Mg ₂	Al ₃	H+A ₁	SB	CT C (t)	CT C (T)	V	m
-----g/vaso-----		H ₂ O	mg/dm ₃					cmol _c /dm ³				-----%-----	
0,00	0,976	6,2	1, 1	9	1,1 9	0,0	0,0	3,7	1,2 1	1,21	4,91	24, 6	0, 0
1,25	0,000	5,8	1, 1	9	1,1 9	0,0	0,0	4,0	1,0 2	1,02	5,02	20, 3	0, 0

3.4 Crescimento das plantas de trigo e adubação: à cada vaso, com capacidade para 1 Kg de material de solo, foi adicionado, no dia da semeadura, 1,63 g de fosfato de cálcio monobásico (Ca₂(H₂P₄)₂). Em seguida, seis sementes de trigo foram semeadas em cada vaso. Após a emergência das plântulas, efetuou-se o desbaste deixando-se apenas duas plantas por vaso. As plantas foram adubadas com 50 ml de solução nutritiva 192 mg de KCl (cloreto de potássio), 104,42 mg de K₂SO₄ (sulfato de potássio), 150,35 mg de MgSO₄ (sulfato de magnésio), 61 mg de uréia, 0,27 mg de molibdato de amônio (NH₄MO₇O₂₄), 1,61 mg de ácido bórico (H₃BO₃), 6,67 mg de sulfato de zinco (ZnSO₄), 1,74 mg de sulfato de cobre (CuSO₄) e 4,10 mg de cloreto de magnésio (MgCl₂) e essa mesma foi solução foi aplicada na segunda e na terceira semana após a semeadura.

3.5 Cultivares de trigo, manutenção do isolado de *M. grisea* e inoculação: as cultivares de trigo utilizadas nesse estudo foram Aliança e BH 1146. As sementes de trigo e o isolado monospórico de *M. grisea* (CNPAF-8897) foram cedidos pela EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, Goiânia, GO. O isolado, armazenado em tubos de ensaio contendo meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e óleo mineral, foi submetido, previamente, a um teste para verificar a sua patogenicidade. Após confirmada a patogenicidade, o isolado foi mantido em sementes autoclavadas de cevada (*Hordeum vulgare* L.) conforme metodologia de Urashima et al. (1993).

Sementes de cevada colonizadas pelo fungo foram colocadas em placas de Petri contendo meio BDA com tetraciclina (300 mg/100 ml) para o crescimento do fungo. Após a repicagem, as placas foram colocadas em incubadora do tipo B.O.D, a

25°C e fotoperíodo de 12 h. Após crescimento das colônias, estas foram repicadas para meio aveia-ágar (aveia 75 g/L; ágar 17 g/L) e mantidas sob as mesmas condições de temperatura e luminosidade seguindo metodologia descrita por Filippi & Prabhu (2001). Após o crescimento do fungo na placa, cerca de dez dias após a repicagem, o micélio aéreo foi retirado com o auxílio de uma alça de Drigalsky para induzir a produção de conídios. As placas permaneceram na incubadora por aproximadamente seis dias.

O inóculo foi preparado adicionando-se 10 ml de água destilada esterilizada contendo gelatina 1% (p/v) a cada placa, seguida de raspagem superficial utilizando-se um pincel de cerdas macias para a liberação dos conídios. A suspensão foi filtrada em camada dupla de gaze para eliminação de fragmentos de micélio e meio de cultura. Após a filtragem, a concentração da suspensão foi ajustada para 10^5 conídios/mL por meio de contagens em hemacitômetro. À suspensão de conídios foi adicionado Tween 20 (0,1 mL/100 mL de suspensão).

Plantas com 45 dias após a emergência (estádio de crescimento 45, segundo Zadoks (1974)) foram inoculadas pulverizando-se 25 ml de suspensão de conídios por planta, utilizando-se De Vilbiss n. 15. Após a inoculação, as plantas foram cobertas com sacos de polietileno molhados e transferidas para câmara de nevoeiro a 25°C com 95% de umidade relativa onde permaneceram por 24 h no escuro. Após esse período, retiraram-se os sacos plásticos e os vasos foram colocados em bandejas contendo areia umedecida e transferidos para câmara de crescimento com temperatura de 26°C e umidade relativa variando de 45 a 60%. As plantas foram mantidas nessas condições até o final das avaliações.

3.6 Avaliação dos componentes de resistência

Para avaliação dos componentes de resistência foram marcadas, com fita de lã colorida, as quatro folhas abaixo da folha bandeira das plantas da repetição de cada tratamento, totalizando oito folhas por vaso. Os seguintes componentes de resistência foram avaliados:

Período de incubação (PI): as avaliações foram realizadas a cada 24 HAI, iniciando-se às 24 HAI até o momento em que 100% das folhas avaliadas apresentaram lesões necróticas.

Número de lesões (NL) por cm² de área foliar: às 96 HAI foi contado o NL em quatro pontos ao acaso nas folhas das plantas da repetição de cada tratamento utilizando-se um pedaço de cartolina de 1 x 1 cm.

Tamanho de lesões (TL): às 96h após a inoculação, o tamanho de quatro lesões escolhidas ao acaso nas folhas avaliadas foi medido utilizando-se um paquímetro digital com precisão de 0,01 mm (Worker, USA).

Severidade da brusone: a severidade da brusone foi avaliada às 48, 72, 96 e 120 HAI utilizando-se escala de severidade (Fig. 1).

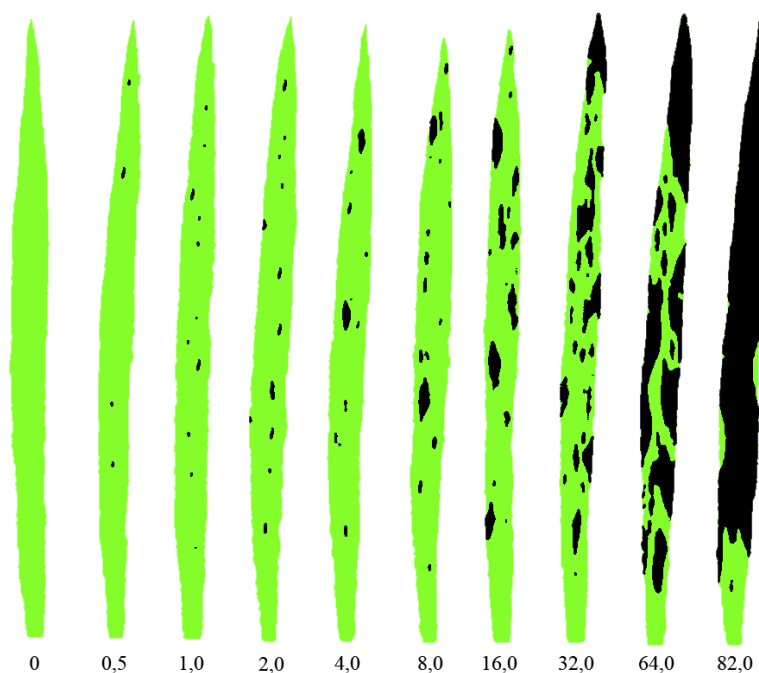


Figura 1. Escala diagramática (porcentagem de área foliar lesionada) utilizada para avaliação da severidade da brusone em folhas de plantas de trigo (Notteghem, 1981).

A área abaixo da curva do progresso da brusone (AACPB) foi obtida pela integração trapezoidal das curvas de progresso da severidade da brusone nos diferentes tratamentos de acordo com a fórmula proposta por Shaner & Finney (1977).

Severidade final: a severidade final foi avaliada às 120 HAI utilizando-se a escala representada na Fig. 1.

Avaliação da severidade real utilizando-se o programa QUANT 1.0: ao término das avaliações da severidade, as quatro folhas marcadas das plantas das repetições de cada tratamento foram coletadas e suas respectivas imagens foram obtidas em scanner na resolução de 300 dpi. As imagens foram processadas no programa QUANT 1.0 (Vale et al., 2003; Liberato, 2003) para estimar a severidade real.

3.7 Análise da concentração foliar de Si e cálcio (Ca): no final dos experimentos, amostras de folhas, incluindo as que foram avaliadas para a severidade real, das repetições de cada tratamento, foram coletadas para a determinação da concentração foliar de Si e Ca. As folhas foram secas em estufa a 70°C até atingir o peso constante e, posteriormente, triturado em moinho tipo Wiley. A concentração foliar de Si foi determinada através da metodologia proposta por Korndörfer et al. (2004). As análises da concentração de Si foram realizadas no Laboratório de Análise Foliar e de Fertilizantes do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia. A determinação da concentração foliar de Ca foi obtida por digestão nitroperclórica e espectrofotometria de absorção atômica (Silva et al., 1999).

3.8 Microanálise de raios-X para determinar a deposição de Si em folhas de trigo: fragmentos de folhas de $\approx 0,25 \text{ cm}^2$ (0,5 x 0,5 cm) foram coletados, ao acaso, das plantas de trigo de cada repetição dos tratamentos suplementado ou não de Si e cultivares de trigo às 120 HAI com *M. grisea*. Os fragmentos foram transferidos para frascos de vidro contendo 10 mL de fixativo (glutaraldeído 3% (vol/vol) preparado em tampão cacodilato de sódio (0,05 M, pH 7,2) e imediatamente armazenados em geladeira a 4°C. Os fragmentos de folhas foram lavados três vezes em água destilada, liofilizados, montados sobre suporte de alumínio e cobertos com um filme de ouro paládio por meio de pulverização catódica. As amostras foram observadas no microscópio eletrônico de varredura CAMECA SX-100 Universal EPMA acoplado a um dispersor de raios-X (Cameca Instruments Inc., Trumbull, USA) operando entre 15-20 kV com corrente de 20nA. No mínimo três imagens digitais foram obtidas de dois fragmentos de folhas de cada tratamento. Os fragmentos de folhas liofilizados foram enviados ao Prof. Dr. Richard R. Bélanger do Departamento de Fitopatologia

da Université Laval (Sainte-Foy, Québec, Canadá) para serem observados no microscópio eletrônico de varredura acoplado a um dispersor de raios-X e obtenção das imagens digitais.

3.9 Determinação do extravasamento de eletrólitos (EE): seguindo a metodologia descrita por Lima et. al. (2002), com algumas adaptações, foram coletadas amostras das folhas das plantas de trigo (23 discos com 8 mm de diâmetro) da repetição de cada tratamento. Esses discos foram previamente lavados em água deionizada e incubados em pesa-filtros contendo 60 mL de água deionizada em temperatura ambiente ($\approx 25^{\circ}\text{C}$) por quatro horas. Em seguida, foi realizada a primeira leitura de condutividade (CE1) em um condutivímetro de bancada (Tecnonon *mCA-150* - MS Tecnonon Instrumentação Científica). Após a leitura, as amostras foram transferidas para estufa na temperatura de 90°C por duas horas obtendo-se, após esse período, uma nova leitura (CE2). Com os dados das duas leituras (inicial e final) calculou-se o extravasamento de eletrólitos das células, em porcentagem, em relação aos eletrólitos totais a partir da seguinte fórmula:

$$EE(\%) = \left(\frac{CE1}{CE2} \right) \times 100$$

3.10 Determinação da taxa de fotossíntese em folhas de plantas de trigo supridas ou não com Si

As avaliações da taxa fotossintética nas folhas das plantas de trigo, supridas ou não com Si, foram realizadas às 0, 60, 84 e 106 HAI com *M. grisea*. Todas as avaliações foram realizadas sempre no mesmo horário, entre as 9 e as 11 horas da manhã, utilizando-se o aparelho analisador de gás por infravermelho portátil - IRGA, modelo *LI 6400* (LI-COR, USA) que permite obter leituras instantâneas da taxa líquida de CO_2 ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) em resposta à irradiância de $1.000 \mu\text{mol}$ de fótons $\text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ na temperatura de 25°C . Foi selecionada e marcada a primeira folha abaixo da folha bandeira de cada planta das repetições de cada tratamento. Antes das avaliações, as plantas foram retiradas da câmara de crescimento e expostas às condições ambientais naturais por aproximadamente 30 minutos. Após esse período, a taxa fotossintética foi avaliada. O terço médio de cada folha foi inserido numa câmara ventilada ajustada para 3 cm^2 , sendo a face superior iluminada por luz

artificial ($900 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de radiação fotossinteticamente ativa) seguindo metodologia adaptada de Jesus Júnior (2001).

3.11 Determinação da concentração de compostos relacionados à resposta de defesa das plantas de trigo à brusone

Para a determinação da concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFST) e derivados da lignina ácido-tioglicólico (LATG), amostras de folhas de plantas de trigo das repetições de cada tratamento foram coletadas às 0, 12, 24, 48, 72 e 96 HAI. Folhas das três plantas de cada tratamento foram utilizadas em cada época de coleta. Imediatamente após a coleta, as folhas foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em -80°C até análise. As metodologias utilizadas estão descritas a seguir.

3.11.1 Determinação da CFST

Amostras de 0,1 g representativas do material foram maceradas em nitrogênio líquido. O macerado foi transferido para microtubos eppendorf, homogeneizado com 1,5 ml de metanol 80% e extraído durante 12 h em mesa agitadora orbital (150 rpm) a temperatura ambiente ($\approx 25^{\circ}\text{C}$). Os microtubos eppendorf foram cobertos com papel alumínio para proteger o extrato metanólico da oxidação pela luz. O extrato metanólico verde escuro foi centrifugado a $12.000 \times g$ por 5 min e, após a centrifugação, o sobrenadante foi transferido para um novo eppendorf e o resíduo mantido a -80°C até a determinação do teor de derivados da lignina-ácido tioglicólico. A metodologia proposta por Zieslin e Ben-Zaken (1993), com modificações, foi usada para determinação do teor de compostos fenólicos solúveis totais, a saber: Adicionou-se 150 μl do reagente “Folin & Ciocalteu’s Phenol” 0,25 N (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) a 150 μl do extrato metanólico. A mistura foi homogeneizada e mantida a temperatura ambiente ($\approx 25^{\circ}\text{C}$) por 5 min. Posteriormente, 150 μl de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 1M foram adicionados à mistura, a qual foi homogeneizada novamente e mantida a temperatura ambiente. Após 10 min, adicionou-se 1 ml de água destilada à mistura que permaneceu em temperatura ambiente ($\approx 25^{\circ}\text{C}$) por 30 min. A absorbância das amostras foi medida a 725 nm em espectrofotômetro (Spectrophotometer SP 2000UV – BEL Photonics). A

concentração de compostos fenólicos solúveis totais foi expresso em mg de compostos fenólicos (expresso em catecol) por kg de folha fresca.

3.11.2 Determinação da concentração dos derivados da LATG

Um volume de 1,5 ml de água estéril destilada foi adicionado ao resíduo obtido após a extração dos compostos fenólicos solúveis totais. Após a homogeneização, a mistura foi centrifugada a 12,000 x g por 5 min. O sobrenadante foi descartado e o resíduo seco a 65°C por \approx 12 h. O resíduo alcoólico-insolúvel seco, contendo lignina e ácidos fenólicos associados à parede celular, foram usados para determinação de lignina de acordo com os métodos de Barber & Ride (1988). Um volume de 1,5 ml da solução de ácido tioglicólico (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) e HCl 2N 1:10 foram adicionados ao resíduo seco. Os tubos eppendorf foram levemente agitados para hidratar o resíduo e, em seguida, colocados em banho-maria (100°C) por 4 h. Após esse período, os tubos eppendorf foram colocados no gelo por 10 min. A mistura foi então centrifugada a 12,000 x g por 10 min, o sobrenadante descartado e o precipitado lavado com 1,5 ml de água destilada estéril com centrifugação a 10,000 x g por 10 min. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspensionado em 1,5 ml de NaOH 0,5N. A mistura foi agitada a 150 rpm em temperatura ambiente (\approx 25°C) por 12h. A mistura foi centrifugada a 10,000 x g por 10 min e o sobrenadante transferido para um novo tubo eppendorf. Após a adição de 200 μ l de HCL concentrado ao sobrenadante, os tubos eppendorf foram transferidos para uma bandeja com gelo e mantidos em geladeira (4°C) por 4 h para precipitação dos derivados da lignina-ácido tioglicólico. Após a centrifugação a 10,000 x g por 10 min, o sobrenadante foi descartado e o precipitado, de cor laranja-amarronzado, dissolvido em 2 ml de NaOH 0,5N. A leitura da absorbância foi realizada a 290 nm em espectrofotômetro (Spectrophotometer SP 2000UV – BEL Photonics). A concentração dos derivados da LATG foi expressa em mg kg⁻¹ de tecido seco de folha utilizando-se uma curva padrão obtida com diferentes concentrações de lignina alcalina, éter 2-hidroxipropil (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO).

3.12 Determinação da atividade de enzimas relacionadas com a defesa das plantas de trigo à brusone

Para a determinação da atividade das enzimas peroxidases, polifenoloxidasas e quitinases, amostras de folhas de plantas de trigo das repetições de cada tratamento foram coletadas às 0, 12, 24, 48, 72 e 96 HAI. Folhas de três plantas de cada tratamento foram utilizadas em cada época de coleta. Imediatamente após a coleta, as folhas foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em -80°C até análise. As metodologias utilizadas estão descritas a seguir.

3.12.1 Quitinases (QUI, EC 3.2.1.14)

O extrato enzimático bruto foi obtido conforme metodologia descrita por Lanna et al. (1996). Foi macerado 0,5 g da amostra de folha em N líquido dentro de almofariz com pistilo, ambos de porcelana, seguido de homogeneização com 1% (p/v) de PVPP em 1,5 mL de solução de extração constituída de PMSF 1 mM e tampão fosfato de sódio 50 mM, em pH 6,5. O homogeneizado foi filtrado em gaze e então centrifugado por 25 minutos a 20,000 g. O sobrenadante foi utilizado no teste enzimático. Todas as etapas do processo foram executadas a 4°C ou em gelo. A atividade da QUI no tecido foliar foi determinada pelo método de Roberts & Selitrennikoff (1988) modificado por Harman et al. (1993). Alíquotas de 20 μL do sobrenadante foram adicionados a uma mistura de reação composta de 470 μL tampão acetato de sódio 50 mM em pH 5,0 e 10 μL de substrato p-nitrofenil- β -D-N-N'-diacetilquitobiose (PNP) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) 2 mg mL^{-1} . Após incubação por 2 horas na temperatura de 37°C , a reação foi interrompida com adição de 500 μL de carbonato de sódio 0,2 M. Para cada tratamento e época de coleta do tecido foliar, foi preparado um tubo controle contendo 470 μL tampão acetato de sódio 50 mM em pH 5,0 e 10 μL de substrato PNP 2 mg mL^{-1} e 20 μL do sobrenadante. Neste tubo, o carbonato de sódio foi adicionado imediatamente após a adição do sobrenadante e também incubado por 2 horas na temperatura de 37°C . As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro digital (Spectrophotometer SP 2000UV – BEL Photonics) a 410 nm imediatamente após a parada da reação. A atividade da QUI foi determinada considerando a diferença de

absorbância entre as reações de 2 horas e a do tubo controle. Foi utilizado para o cálculo o coeficiente de extinção molar de $7 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Yedidia et al., 1999).

3.12.2 Peroxidases (POX, EC 1.11.1.7)

O extrato enzimático bruto foi obtido conforme metodologia descrita por Peixoto (1998). Foi macerado 0,5 g da amostra de folha em N_2 líquido dentro de almofariz com pistilo, ambos de porcelana, seguido de homogeneização com 1% (p/v) de polivinilpolipirrolidona (PVPP) em 10 mL solução de extração constituída de ácido fenil-metil-sulfonil-fluorídrico (PMSF) 1 mM, ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA) 0,1 mM e tampão fosfato de potássio 100 mM, em pH 6,8. O homogeneizado foi filtrado em gaze e então centrifugado por 15 minutos a 12000 g. O sobrenadante foi utilizado no teste enzimático. Todas as etapas do processo foram executadas a 4°C ou em gelo. A atividade da POX no tecido foliar foi determinada pelo método de Kar & Mishra (1976). Aliquotas de 100 μL do sobrenadante foram adicionados a uma mistura de reação composta de 950 μL de água destilada, 750 μL de tampão fosfato de potássio 100 mM e pH 6,8, 600 μL de pirogallol 100 mM e 600 μL de peróxido de hidrogênio 100 mM, a temperatura de 25°C . O início da reação ocorreu com a adição do sobrenadante a mistura de reação. As leituras de absorbância foram realizadas em espectrofotômetro digital (Spectrophotometer SP 2000UV – BEL Photonics) a 420 nm a cada 60 segundos durante 5 minutos, totalizando cinco leituras. A atividade da POX foi determinada pela medição da quantidade de purpurogalina formada entre dois e cinco minutos de reação utilizando-se, para o cálculo, o coeficiente de extinção molar de $2,47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Chance & Maehley, 1955). Durante todas as etapas, os tubos de ensaio foram envolvidos com papel alumínio e tampados.

3.12.3 Polifenoloxidasas (PFO, EC 1.10.3.1)

O extrato enzimático bruto foi obtido conforme metodologia descrita por Peixoto (1998). Foi macerado 0,5 g da amostra de folha em N_2 líquido dentro de almofariz com pistilo, ambos de porcelana, seguido de homogeneização com 1% (p/v) de PVPP em 5 mL solução de extração constituída de PMSF 1 mM, EDTA 0,1 mM e tampão fosfato de potássio 100 mM, em pH 6,8. O homogeneizado foi filtrado

em gaze e depois centrifugado por 15 minutos a 12,000 g. O sobrenadante foi utilizado no teste enzimático. Todas as etapas do processo foram executadas a 4°C ou em gelo. A atividade da PFO no tecido foliar foi determinada conforme descrito para a POX, exceto que foi utilizado o peróxido de hidrogênio para a POX.

3.12.4 Determinação da concentração total de proteínas

Para todas as enzimas analisadas, a concentração de proteínas do extrato enzimático bruto foi determinada pelo método de Warburg & Christian (1941) diluindo-se 20 µL do sobrenadante desse extrato em 980 µL de água destilada seguido de leituras de absorbância em 260 e 280 nm.

3.13 Delineamento experimental e análises estatísticas: Para avaliação dos componentes de resistência, o experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado, adotando-se um arranjo fatorial 2x2 com sete repetições. Os fatores estudados foram: Si (0 e 0,35 g de Si por kg de material de solo) e duas cultivares de trigo, Aliança e BH1146. Cada unidade experimental foi composta de um vaso plástico contendo 1 kg de solo, com duas plantas. O experimento foi conduzido em duas épocas diferentes, um em julho e outro em agosto. Os dados referentes a cada variável avaliada nos experimentos foram combinados, após confirmada a homogeneidade de variância pelo teste de Bartlett (Gomez & Gomez, 1994). Utilizou-se o programa ESTAT (Banzatto & Kronka, 1997) para análise de variância (ANOVA) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F quando não houve interação entre os fatores. Foi feita a análise correlação de Pearson entre a concentração foliar de Si e alguns componentes de resistência utilizando-se o programa STATISTICA (STATSOFT, 2001). Os dados das variáveis TF, CFST, DLATG, atividade das enzimas POX PFO e QUI em cada época de coleta nos tratamentos plantas inoculadas ou não e supridas ou não com Si foram comparadas pelo teste-*t* de Student ao nível de 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS

4.1 Concentração foliar de Ca e Si: não houve diferença significativa quanto à concentração foliar de Ca para o fator suprimento ou não de Si (Tabela 5). Houve diferença significativa na concentração de Si entre as plantas supridas ou não com esse elemento (Tabela 5). Observou-se um incremento de 58% na concentração de Si nas folhas de plantas supridas com esse elemento.

Tabela 5. Concentração foliar de Cálcio (Ca) e Silício (Si) em plantas das cultivares de trigo Aliança e BH-1146 supridas (+Si) ou não (-Si) com Silício.

Fatores	Concentração (%)	
	Ca	Si
Silício		
-Si	0,78	0,42
+Si	0,83	1,04
Valor de F	2.1919 ^{NS}	326.3087 ^{**}
Cultivares		
ALIANÇA	0,76	0,74
BH-1146	0,85	0,71
Valor de F	8.1510 ^{**}	.8990 ^{NS}
C.V. (%)	13	11

Dados de dois experimentos combinados. C.V. = coeficiente de variação. ** = significativo ao nível de 1% de probabilidade. ^{NS} = não significativo.

Houve diferença significativa nas concentrações foliares de Ca entre as cultivares. Na cultivar BH 1146 a concentração de Ca foi 10,33% maior do que na cultivar Aliança. Não houve diferença estatística entre as cultivares quanto à concentração de Si.

4.2 Microanálise de raios-X para determinar a deposição de Si em folhas de trigo: foram observados diferentes padrões de coloração (tons de azul a tons mais intensos de vermelho) que indicam diferenças na intensidade de deposição de Si na superfície foliar de plantas de trigo das duas cultivares supridas ou não com esse elemento. Nas folhas das plantas dessa duas cultivares não supridas com Si (Figs. 1A e C), observou-se que esse elemento foi depositado ao longo de uma linha específica a qual correspondeu às células silicatadas. Nas folhas das plantas das duas cultivares

supridas com Si, observou-se uma maior deposição desse elemento ao longo de todas as linhas formadas pelas células silicatadas, o que é retratado pela intensidade da coloração vermelha, principalmente na cultivar Aliança (Figs. 1B e D). Verificou-se um padrão diferenciado na deposição de Si entre as cultivares. Na cultivar Aliança, o Si depositou-se mais nas células silicatadas; já na cultivar BH1146, esse elemento, além de depositar nessas células, ocorreu de forma dispersa na superfície foliar como pode ser visto pelas manchas em tons de azul (Figs. 1B e D).

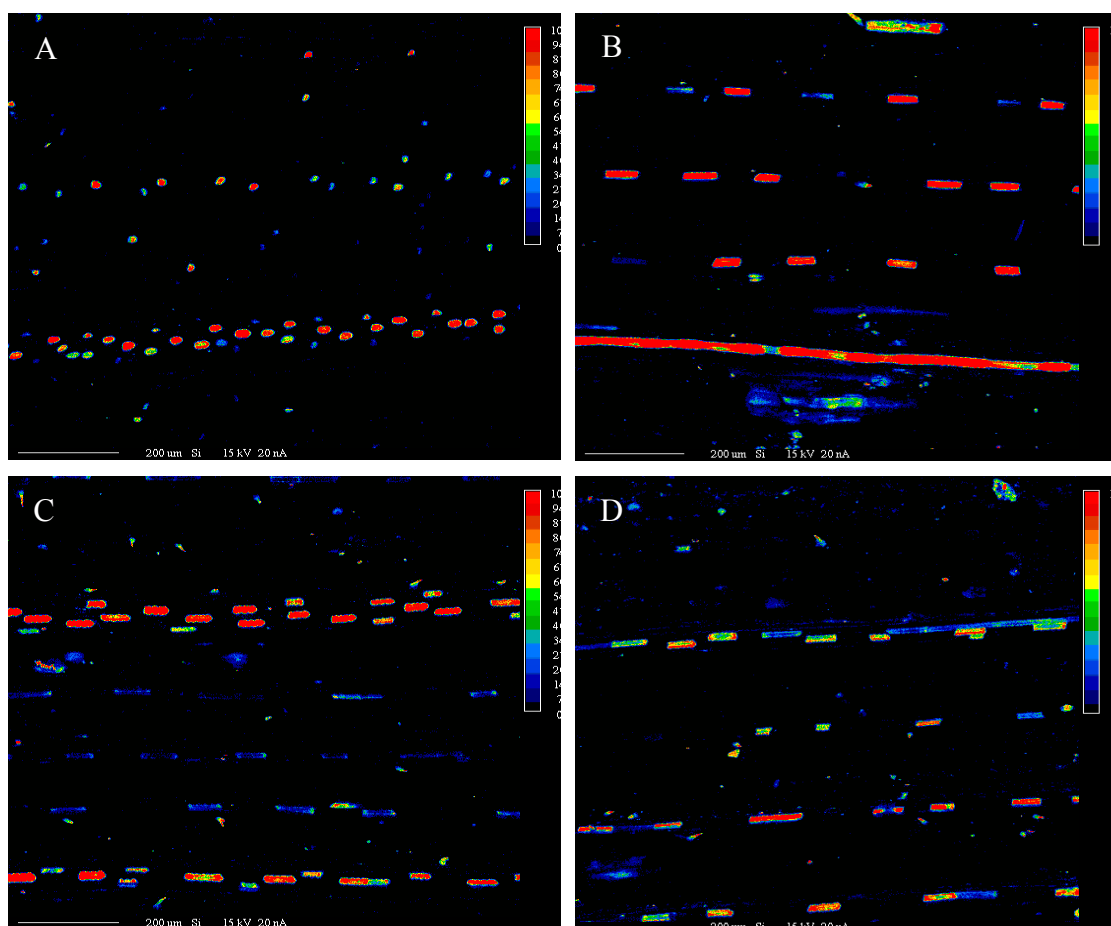


Figura 2. Detecção da deposição de silício por microanálise de raios-X em folhas de plantas de trigo das cultivares Aliança (A e B) e BH 1146 (C e D) cultivadas na ausência (A e C) ou presença (B e D) desse elemento e inoculadas com *M. grisea*. A escala indica a intensidade na deposição de Si foliar

4.3 Sintomas da brusone em folhas de plantas de trigo de duas cultivares supridas ou não com Si: independente do nível de resistência das cultivares estudadas, os sintomas da brusone foram semelhantes nas plantas não supridas com Si (Fig. 3), com lesões necróticas maiores e intensa clorose, o que ocasionou o

crestamento foliar. Nas plantas supridas com Si, as lesões foram menores e o halo clorótico reduzido, principalmente na cultivar Aliança.

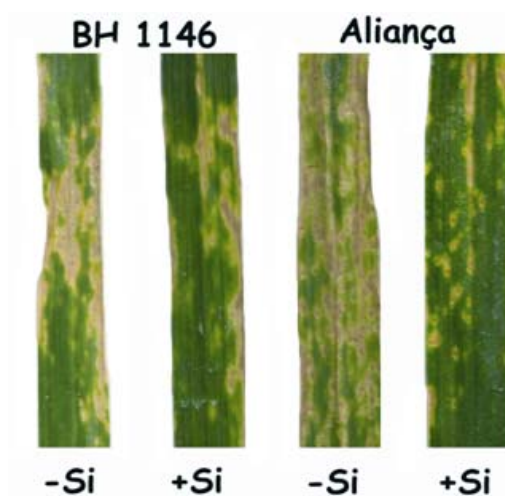


Figura 3. Lesões de brusone, causadas por *M. grisea*, em folhas de plantas de trigo das cultivares BH 1146 e Aliança supridas (+Si) ou não (-Si) com silício.

4.4 Efeito do Si nos componentes de resistência

Período de Incubação: A aplicação de Si aumentou o PI em até 15 horas (Tabela 6). O PI foi significativamente maior na cultivar Aliança com um acréscimo médio de 7,5 h em relação a cultivar BH 1146.

Tabela 6. Período de incubação (PI) em horas da brusone em folhas de plantas de trigo das cultivares Aliança e BH 1146 supridas (+Si) ou não (-Si) com Si.

Fatores	Período de Incubação (horas)	
	Exp 1	Exp. 2
Silício		
-Si	55.37	49.39
+Si	69.62	64.39
Valor de F	41.3885 **	33.4779 **
Cultivares		
ALIANÇA	66.75	60.64
BH-1146	58.25	53.44
Valor de F	14.7261 **	7.4210*
C.V. (%)	8.68	12,2

Dados de dois experimentos. C.V. = coeficiente de variação. ** = significativo ao nível de 1% de probabilidade. * = significativo ao nível de 5% de probabilidade. ^{ns} = não significativo.

Tamanho de lesões: Os fatores, suprimento ou não de Si, cultivares e a interação suprimento ou não de Si x cultivares foram significativos ($P \leq 0,05$) para os dois experimentos. No experimento 1, o TL foi significativamente menor nas folhas das plantas supridas com Si independente da cultivar (Tabela 7).

Independente da presença de Si, a cultivar Aliança foi a que apresentou o menor TL. No experimento 2, o NL foi significativamente menor nas folhas das plantas supridas com Si apenas da cultivar Aliança. Na presença de Si, o menor TL foi observado para a cultivar Aliança; enquanto que na ausência desse elemento não houve diferença estatística entre as cultivares (Tabela 7).

Tabela 7. Tamanho de lesões (cm) de brusone em folhas de plantas de trigo das cultivares Aliança e BH 1146 supridas (+Si) ou não (-Si) com silício.

Suprimento de Si	Experimento 1		Experimento 2	
	Cultivares		Cultivares	
	Aliança	BH 1146	Aliança	BH 1146
-Si	2,01	2,75	2,39	2,54
+Si	0,98	1,36	1,55	2,69
Valor de F (Si)	323.0688**		6.8572*	
Valor de F (Cult)	69.0574**		23.1597**	
Valor de F (Int. Si x Cult)	7.0003*		14.0460**	
C. V. (%)	9,25		15,09	

Dados de dois experimentos. C.V. = coeficiente de variação. ** = significativo ao nível de 1% de probabilidade. * = significativo ao nível de 5% de probabilidade. ^{ns} = não significativo.

Número de lesões por cm² de área foliar: após o agrupamento dos dados de cada tratamento, referente aos dois experimentos foi constatado pela análise de variância efeito significativo apenas para o suprimento ou não de Si. Na presença do Si, o NL foi significativamente reduzido em 48% (Tabela 8).

Progresso da brusone em folhas de plantas de trigo de duas cultivares supridas ou não com Si: observa-se que a severidade da brusone das 48 às 120 HAI foi crescente, independente do experimento, nas plantas das duas cultivares (Fig. 4).

Tabela 8. Número de lesões de brusone em folhas de plantas de trigo das cultivares Aliança e BH 1146 supridas (+Si) ou não (-Si) com silício.

Fatores	NL
-Si	8.77
+Si	4.85
Valor de F	2.0145 ^{NS}
Cultivares	
ALIANÇA	6.96
BH-1146	6.99
Valor de F	.4608 ^{NS}
C.V. (%)	41.33

Dados de dois experimentos. C.V. = coeficiente de variação. ^{NS} = não significativo.

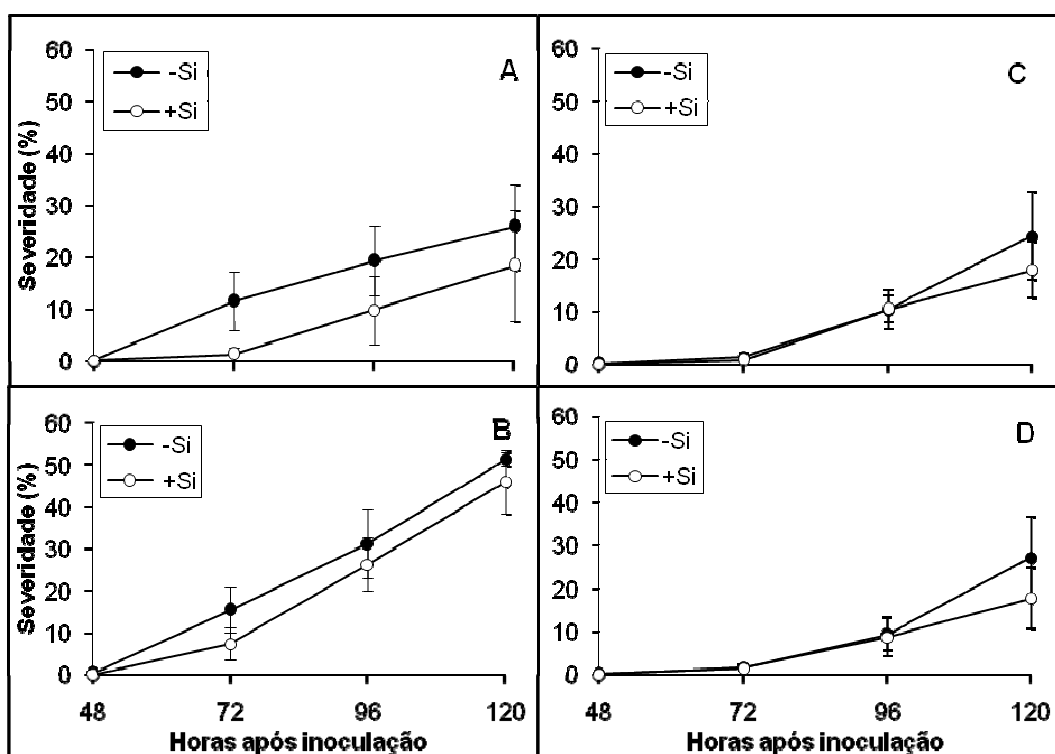


Figura 4. Progresso da brusone em folhas de plantas de trigo das cultivares Aliança (A e C) e BH 1146 (B e D) supridas (+Si) ou não (-Si) com silício. Dados do experimento 1 (A e B) e 2 (C e D).

Para a AACPB, houve diferença apenas para os fatores suprimento ou não de Si e cultivares ($P \leq 0,05$). A aplicação do Si reduziu significativamente a AACPB em

29%. A cultivar Aliança, na presença de Si, teve a AACPB reduzida em 39% em relação a cultivar BH 1146 (Fig 5).

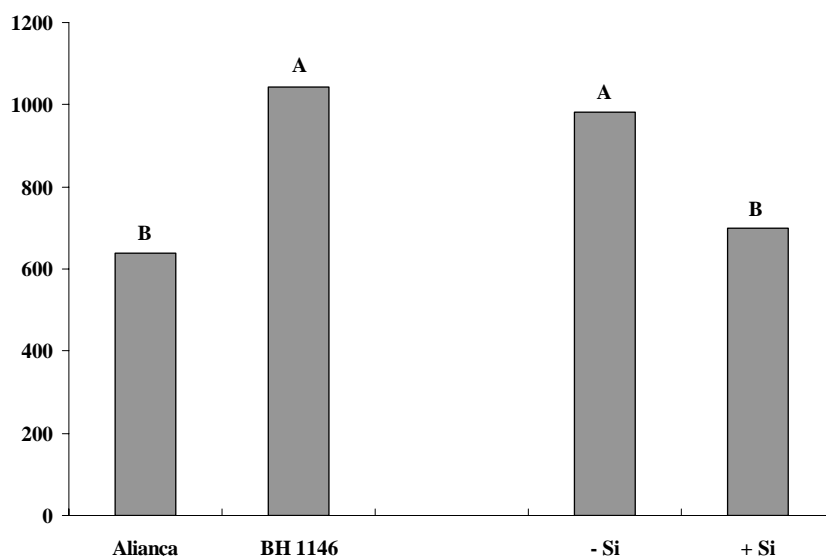


Figura 5. Área abaixo da curva de progresso da brusone (AACPB) em folhas de plantas de trigo das cultivares Aliança e BH1146 supridas (+Si) ou não (-Si) com silício. Dados referentes aos dois experimentos.

Severidade final (SF): os dados de ambos os experimentos foram combinados e através da análise de variância, pelo teste F, foram constatadas diferenças significativas apenas para o fator suprimento ou não de Si e cultivares ($P \leq 0,05$).

Tabela 9. Severidade final (SF) e severidade real (SR) da brusone em folhas de plantas de trigo das cultivares Aliança e BH1146 supridas (+Si) ou não (-Si) com silício.

Tratamento	SF (%)	SR (%)
Suprimento de Si		
-Si	32,20	35,15
+Si	25,03	26,72
Valor de F	4.2474*	4.1142*
Cultivares		
ALIANÇA	21,60	23,98
BH 1146	35,63	37,89
Valor de F	16.2745**	11.1909**
C.V. (%)	43,34	47,92

Dados de dois experimentos. C.V. = coeficiente de variação. ** = significativo ao nível de 1% de probabilidade. * = significativo ao nível de 5% de probabilidade.

A SF foi reduzida com a aplicação de Si, independente do experimento (Tabela 9). Na cultivar Aliança, a SF foi significativamente menor comparada com a cultivar BH 1146.

Severidade real: após o agrupamento dos dados dos dois experimentos, houve diferenças significativas apenas para o fator suprimento ou não de Si e cultivares ($P \leq 0,05$). A aplicação de Si reduziu em 24% a SR (Tabela 9). O menor valor de SR foi observado na cultivar Aliança.

4.5 Extravasamento de eletrólitos (EE): a porcentagem de EE foi significativamente maior nas folhas das plantas da cultivar Aliança não supridas com Si às 72 e 120 HAI (Fig. 6). Não houve diferença entre as plantas dessa cultivar, supridas ou não com Si, antes da inoculação com *M. grisea*.

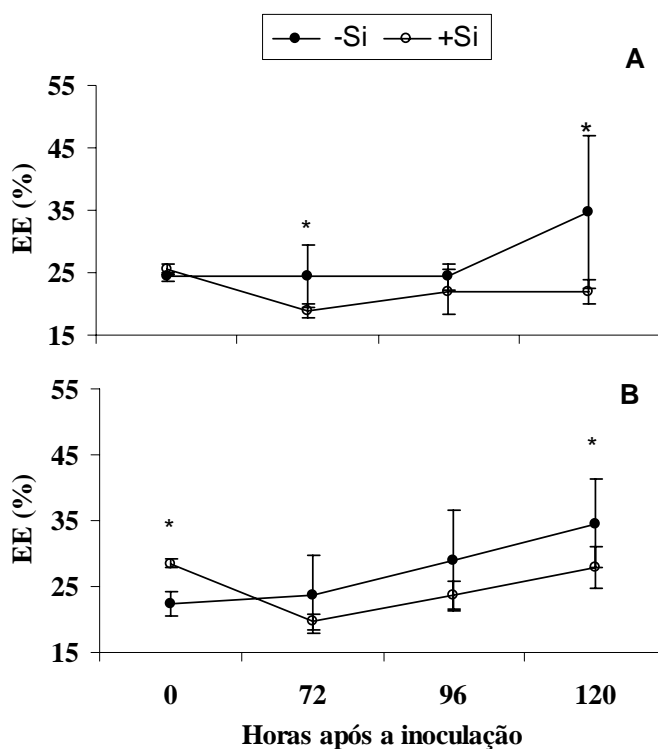


Figura 6. Extravasamento de eletrólitos (EE) em folhas de plantas de trigo das cultivares Aliança (A) e BH 1146 (B) supridas (+Si) ou não (-Si) com silício após a inoculação com *Pyricularia grisea*.

Para a cultivar BH 1146, a porcentagem de EE em plantas não inoculadas com *M. grisea* foi significativamente maior na presença de Si (Fig. 6). A partir das 72 HAI, a porcentagem de EE foi crescente com os maiores valores ocorrendo nas plantas não supridas com Si, porém com diferença estatística para as plantas supridas com esse elemento somente às 120 HAI.

4.6 Análise de correlação de Pearson: não houve correlação significativa entre a concentração foliar de Si e a concentração foliar de cálcio ($r = 0,07$). Houve correlação significativa positiva entre a concentração foliar de Si com o PI ($r = +0,70$) e significativa e negativa dessa variável com o TL ($r = -0,60$), NL ($r = -0,56$), AACPB ($r = -0,30$). Houve correlação positiva e significativa entre os valores de severidade e a EE ($r = +0,40$).

Tabela 9. Coeficientes de correlação de Pearson entre a concentração foliar de Silício e os componentes de resistência período de incubação (PI), área abaixo da curva de progresso da brusone (AACPB), tamanho de lesão (TL), número de lesões (NL) e extravasamento de eletrólitos (EE) e a concentração foliar de Cálcio.

Componentes de resistência x Concentração de Si	Coefficiente de correlação (r)
PI	+0.70*
AACP	-0,30*
TL	-0,60*
NL	-0,56*
EE	+0,40*
Ca	0,07 ^{ns}

*= significativo ao nível de 1% de probabilidade. ^{ns} = não significativo.

4.7 Avaliação da taxa fotossintética em folhas de plantas de trigo supridas ou não com Si

A taxa fotossintética foi maior em folhas das plantas supridas com Si independente da cultivar (Figura 1A e B). Às 60 HAI, a taxa fotossintética nas folhas

das plantas das duas cultivares decresceu abruptamente, principalmente nas folhas das plantas não supridas com Si. Nessa época, diferenças significativas na taxa fotossintética entre as folhas das plantas supridas ou não com Si ocorreram apenas para a cultivar Aliança (Fig. 1A). A partir das 60 HAI, a taxa fotossintética aumentou em folhas das plantas de trigo das duas cultivares, independente da presença ou ausência de Si, porém os maiores valores foram observados em folhas de plantas supridas com esse elemento. Diferenças significativas na taxa fotossintética entre as folhas das plantas supridas ou não com Si ocorreram apenas para a cultivar BH 1146 às 84 HAI (Fig. 1B).

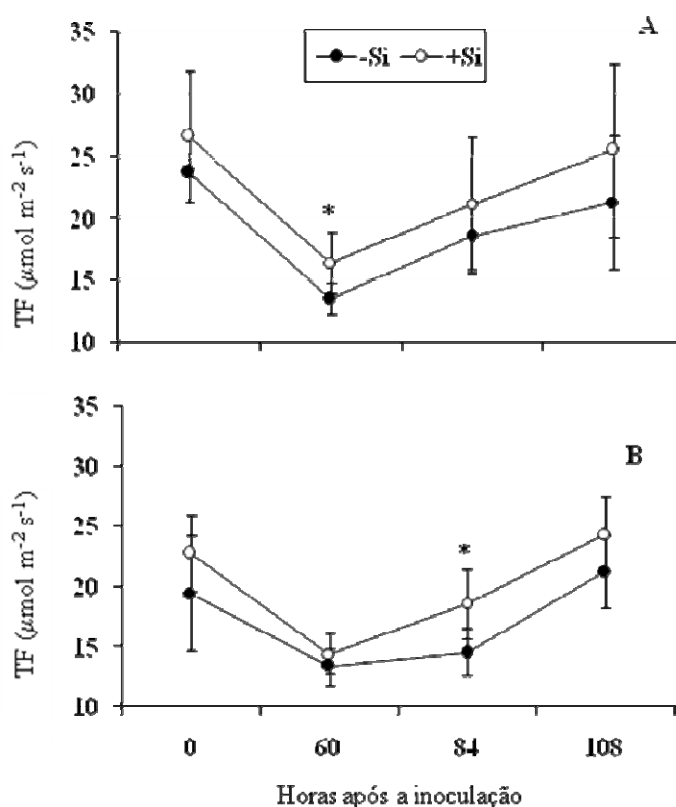


Figura 7. Taxa fotossintética (TF) em folhas de plantas de trigo das cultivares Aliança (A) e BH 1146 (B) supridas (+Si) ou não (-Si) com silício e inoculadas com *Magnaporthe grisea*. Asteriscos indicam diferenças significativas pelo teste *t* ao nível de 5% de probabilidade em cada época de avaliação.

4.8 Determinação da concentração de CFST

Para as duas cultivares de trigo, houve diferença significativa ($P \leq 0,05$) na concentração de CFST entre plantas supridas ou não com Si e não inoculadas com *P*.

grisea, sendo os maiores valores observados em plantas supridas com esse elemento (Fig. 2). Não houve diferença significativa na concentração de CFST das 12 às 72 HAI entre as plantas das duas cultivares supridas ou não com Si. A concentração de CFST foi maior em plantas supridas com Si das duas cultivares às 48 HAI, embora sem diferença significativa para plantas não supridas com esse elemento. Às 96 HAI, a concentração de CFST foi significativamente diferente entre as plantas supridas ou não com Si independente das cultivares, sendo os maiores valores observados em plantas não supridas com esse elemento (Fig. 2).

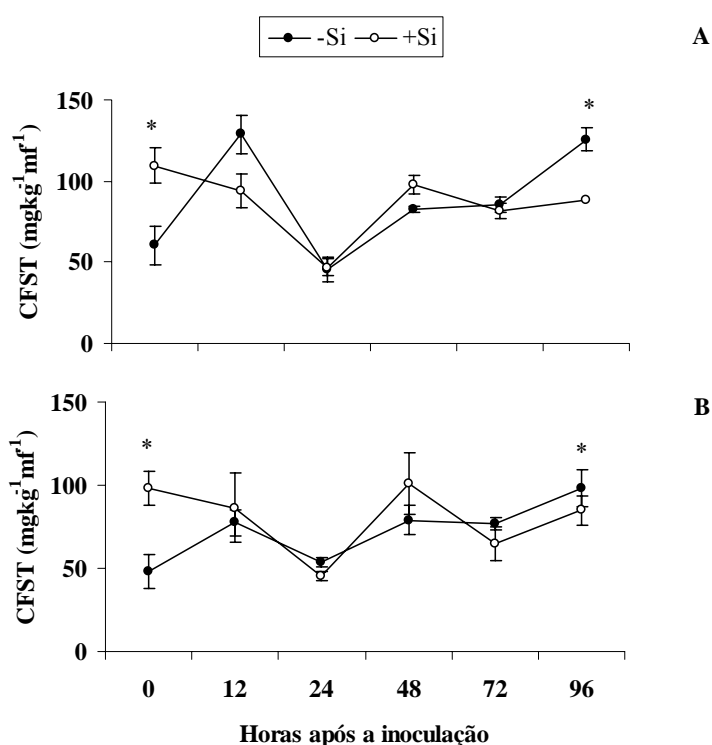


Figura 8. Concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFST) em folhas de plantas de trigo das cultivares Aliança (A) e BH 1146 (B) supridas (+Si) ou não (-Si) com silício em diferentes épocas após a inoculação com *Pyricularia grisea*. Asteriscos indicam diferenças significativas pelo teste *t* ao nível de 5% de probabilidade entre os tratamentos para cada época de coleta. Barras representam o desvio padrão da média.

4.9 Determinação da concentração de derivados da lignina-ácido tioglicólico (LATG)

A concentração de derivados da LATG foi significativamente maior ($P \leq 0,05$) em plantas da cultivar Aliança supridas com Si apenas às 24, 48 e 72 HAI e às 12

HAI para a cultivar BH 1146 (Fig. 3). Para a cultivar BH 1146, a concentração de derivados da LATG foi maior em plantas supridas com Si das 24 às 96 HAI, embora sem diferenças significativas para as plantas não supridas com esse elemento.

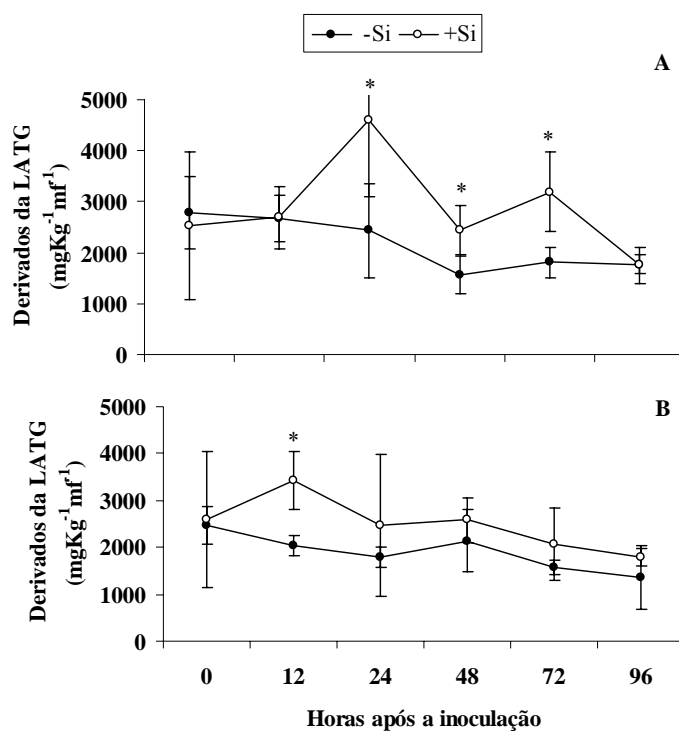


Figura 9. Concentração de derivados da lignina-ácido tioglicólico (LATG) em folhas de plantas de trigo das cultivares Aliança (A) e BH 1146 (B) supridas (+Si) ou não (-Si) com silício e inoculadas com *Pyricularia grisea*. Asteriscos indicam diferenças significativas pelo teste *t* ao nível de 5% de probabilidade para cada época de coleta. Barras representam o desvio padrão da média.

4.10 Atividades de enzimas relacionadas com a defesa de plantas a patógenos

4.10.1 Quitinases

A atividade de quitinases foi significativamente diferente ($P \leq 0,05$) entre as plantas supridas ou não com Si independente da cultivar das 0 às 96 HAI (Fig. 4). Em plantas supridas com Si e não inoculadas com *P. grisea*, independente da cultivar, a atividade de quitinases foi significativamente superior em relação às plantas não supridas com esse elemento. Picos na atividade de quitinases em plantas

supridas com Si ocorreram às 12 e 72 HAI para a cultivar Aliança (Fig. 4A) e às 24 e 72 HAI para a cultivar BH 1146 (Fig. 4B).

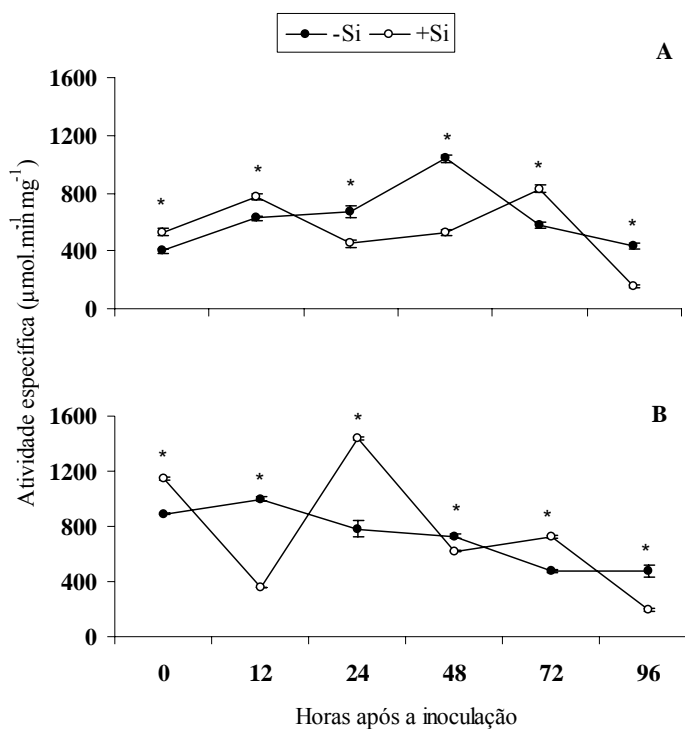


Figura 10. Atividade de quitinases em folhas de plantas de trigo das cultivares Aliança (A) e BH 1146 (B) supridas (+Si) ou não (-Si) com silício em diferentes épocas após a inoculação com *Pyricularia grisea*. Asteriscos indicam diferenças significativas pelo teste *t* ao nível de 5% de probabilidade para cada época de coleta. Barras representam o desvio padrão da média.

4.10.2 Peroxidases

Em folhas das plantas da cultivar de trigo Aliança supridas com Si, a atividade de peroxidases foi significativamente superior ($P \leq 0,05$) às 12, 24 e 96 HAI em relação as plantas não supridas com esse elemento (Fig. 5A). Embora tenham ocorrido diferenças na atividade de peroxidases entre plantas supridas ou não com Si da cultivar BH 1146, essas diferenças foram mínimas (Fig. 5B). Um pico na atividade de peroxidases em plantas da cultivar BH 1146 supridas com Si ocorreu as 96 HAI, o qual foi significativamente diferente do valor observado para as plantas dessa mesma cultivar não supridas com Si. Independente da cultivar, não houve diferença estatística na atividade de peroxidases entre plantas supridas ou não com Si e não inoculadas com *P. grisea* (Fig. 5).

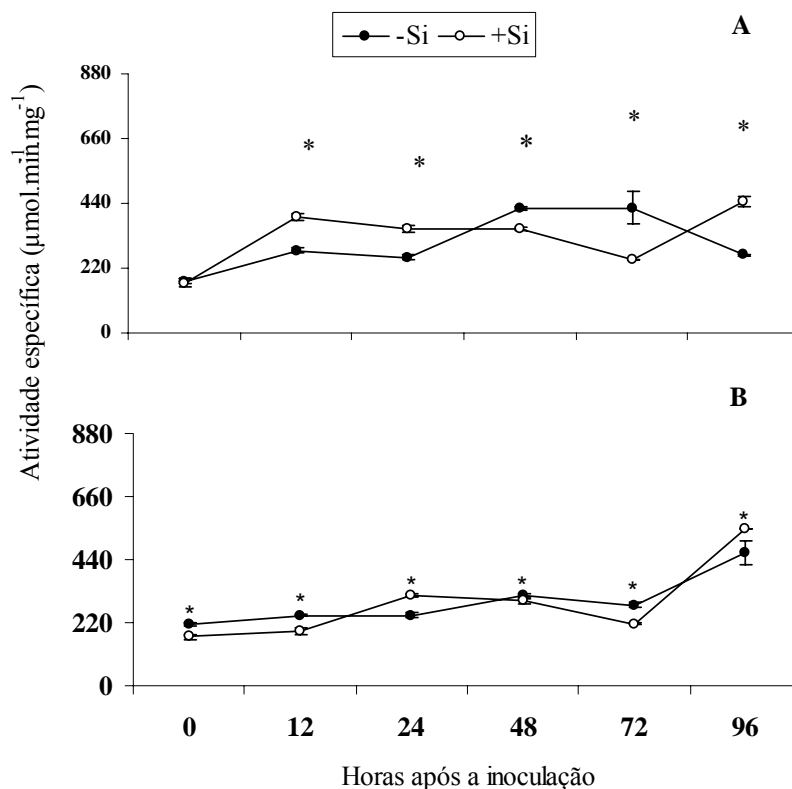


Figura 11. Atividade de peroxidases em folhas de plantas de trigo das cultivares Aliança (A) e BH 1146 (B) supridas (+Si) ou não (-Si) com silício em diferentes épocas após a inoculação com *Pyricularia grisea*. Asteriscos indicam diferenças significativas entre os tratamentos para cada época de coleta pelo teste *t* ao nível de 5% de probabilidade. Barras representam o desvio padrão da média.

4.10.3 Polifenoloxidasas

A atividade de polifenoloxidasas entre as plantas das cultivares Aliança e BH 1146, supridas ou não com Si, foi significativamente diferente ($P \leq 0,05$) apenas às 24, 48 e 72 HAI e às 24 e 72 HAI, respectivamente (Fig. 6). Picos na atividade de polifenoloxidasas em plantas das cultivares Aliança e BH 1146 supridas com Si ocorreram apenas às 24 e 72 HAI, respectivamente.

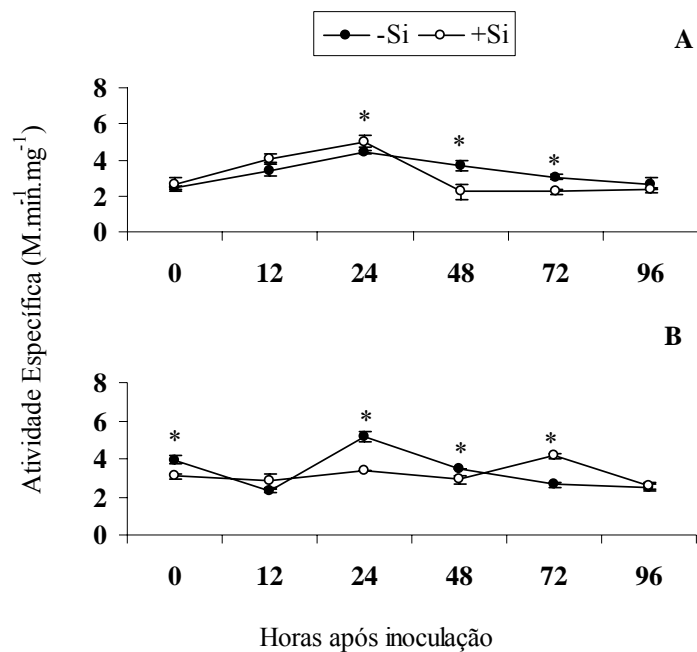


Figura 12. Atividade de polifenoloxidasas em folhas de plantas de trigo das cultivares Aliança (A) e BH 1146 (B) supridas (+Si) ou não (-Si) com silício em diferentes épocas após a inoculação com *Pyricularia grisea*. Asteriscos indicam diferenças significativas entre os tratamentos para cada época de coleta pelo teste *t* ao nível de 5% de probabilidade. Barras representam o desvio padrão da média.

5. DISCUSSÃO

Demonstrou-se, pela primeira vez, o efeito da aplicação de Si sobre alguns componentes de resistência do trigo à brusone. Resultados semelhantes já foram relatados para o patossistema arroz-*M. grisea* (Seebold et al., 2001), bem como para vários outros (Datnoff et al., 1991; Rodrigues et al., 2001a, 2003; Rodgers-Gray & Shaw, 2000, 2004; Resende, 2007). Plantas de trigo das cultivares Aliança e BH 1146, crescidas na presença de Si, apresentaram uma maior concentração desse elemento nas folhas. Comparado com Rodrigues et al. (2001b), o trigo foi capaz de concentrar até 1% Si nas folhas quando as plantas foram crescidas em um solo deficiente nesse elemento contendo uma dose máxima de 800 Kg de SiO₂ ha⁻¹. Hodson et al. (2005) também observaram que o trigo chega a acumular pouco mais de 1% de Si na matéria seca. De acordo com Epstein (1994), plantas acumuladoras de Si têm a capacidade de concentrar acima de 1% de Si na matéria seca, sendo que, em geral, as gramíneas acumulam de 1 a 10% de Si na matéria seca (Epstein, 1999). Através da microanálise de raios-X observou-se uma abundante deposição desse elemento nas folhas das plantas supridas com Si principalmente nas células silicatadas. Guével et al. (2007) também observaram através de microanálise de raios-X, intensa deposição de Si em folhas de plantas de trigo que receberam aplicação foliar e no solo de diferentes fontes desse elemento. A aplicação do Si via solo foi a que garantiu a maior deposição de Si na superfície foliar, o que resultou no controle eficiente do míldio pulverulento. Embora as cultivares Aliança e BH 1146 não apresentaram diferença significativa quanto à concentração foliar de Si, houve uma diferença qualitativa entre essas cultivares conforme revelado pela microanálise de raios-X.

Pode-se afirmar que o Si foi o responsável pela redução nos componentes de resistência avaliados, a exceção do PI que foi prolongado, pois as concentrações foliares de Ca nas plantas crescendo na presença ou ausência de Si não diferiram. Observou-se que o Si retardou o PI em 14,5 horas, o que se deve, muito provavelmente, há deposição desse elemento na superfície foliar das plantas de trigo. É sábio que o ácido monossilícico ao se polimerizar abaixo da cutícula cria uma barreira física que acaba evitando ou atrasando a penetração de certos patógenos e quando depositado na parede celular acaba reduzindo colonização e a difusão de toxinas e enzimas líticas (Yoshida et al., 1962; Carver et al., 1987; Chérif et al.,

1992, 1994; Kim et al., 2002; Rodrigues et al., 2003). Plantas da cultivar Aliança apresentaram um PI prolongado em 7,5 horas em relação à cultivar BH 1146. Partindo deste princípio, é provável que uma maior deposição de Si na superfície foliar das plantas da cultivar Aliança contribuiu para dificultar ainda mais a penetração de *M. grisea*. Seebold et al. (2001) e Rodrigues et al. (2003b) observaram que aumentando a disponibilidade de Si no solo, o PI da brusone e da queima-das-bainhas foi prolongado. Resende (2007) também observou que no patossistema sorgo-*Colletotrichum sublineolum*, o PI da antracnose em uma linhagem suscetível aumentou com o incremento do teor de Si no solo (Resende, 2007).

O Si afetou de forma negativa todos os demais componentes de resistência avaliados, principalmente na cultivar Aliança. Nas folhas das plantas das duas cultivares, na presença de Si, as lesões da brusone foram menores e mais delimitadas, apesar de apresentarem tamanho reduzido. O número de lesões de brusone na cultivar BH 1146 não foi afetado pelo Si, talvez devido à aleatoriedade na escolha delas durante as avaliações, muito embora essas foram de tamanho menor e mais delimitadas entre as nervuras. Alguns autores atribuem ao Si a capacidade de interagir com substâncias de natureza fenólica presentes na parede das células da epiderme e com isso proporcionar a formação de células mais rígidas, o que desfavorece expansão de lesões como também a colonização do patógeno (Rodrigues et al., 2001a). O número de lesões nas folhas das duas cultivares também foi influenciado pela aplicação de Si. De acordo com Vale et al. (2004), o número e a área de lesões, quando essas são circulares, são componentes influenciados pelo nível de resistência da planta. Rodrigues et al. (2003b) observaram que o número de lesões da queima-das-bainhas em plantas de arroz decresceu à medida em que o teor de Si no solo aumentou. Volk et al. (1958) mostraram que plantas de arroz fertilizadas com Si apresentaram um número reduzido de lesões esporulantes de brusone ao contrário do observado em plantas que não receberam esse elemento. Seebold et al. (2001) também observaram que em plantas de arroz de cultivares suscetíveis e com alto nível de resistência parcial à brusone, supridas com Si, apresentaram lesões de menor tamanho e em número reduzido.

A área abaixo da curva do progresso de uma doença é uma variável epidemiológica importante (Bergamin Filho & Amorim, 1996). Através dessa variável, obtêm-se informações quantitativas da expressão da resistência de uma espécie de planta à determinada doença (Campbell & Madden, 1990). Um fato

interessante no presente estudo foi que os valores da severidade final muito se assemelharam aos observados para a severidade real estimada pelo software QUANT, o que valida de certa forma a escala diagramática utilizada. O aumento nas doses de Si no solo ocasionou uma redução na severidade da brusone (Seebold et al., 2001) e da queima-das-bainhas (Rodrigues et al., 2001b) em arroz. A área abaixo da curva de progresso da brusone, a qual sumariza o progresso dessa doença nas folhas das plantas de trigo das duas cultivares, foi significativamente reduzida com a adição de Si no solo. Rodrigues et al. (2001b) também observaram o efeito do Si em reduzir a área abaixo da curva de progresso das lesões de *Rhizoctonia solani* nas bainhas de várias cultivares de arroz.

Folhas das plantas de trigo não supridas com Si, independente da cultivar, apresentaram uma alta porcentagem de extravasamento de eletrólitos, reflexo da maior severidade. Porém, na presença de Si, esses valores foram substancialmente reduzidos. A membrana plasmática está associada com o transporte de íons, logo a perda de eletrólitos indica estar ocorrendo comprometimento na sua funcionalidade (Taiz & Zeiger, 2004). Rodrigues et al. (2005), observaram que a maior severidade da brusone nas folhas de uma cultivar de arroz suscetível foi devido ao maior dano de *M. grisea* aos tecidos das plantas através da ação de toxinas e enzimas líticas. O fungo *M. grisea* tem uma grande capacidade de produzir toxinas durante o processo de infecção cujo alvo é estruturas celulares ricas em lipídeos a exemplo da membrana plasmática (Ou, 1985). O efeito salino causado pelo cloreto de sódio a nível da membrana plasmática de células de folhas de pepino, estimado pela perda de eletrólitos, foi reduzido na presença de Si (Zhu et al., 2004). Ibeagha et al. (2005) estudando a resistência de alguns genótipos de trigo à mancha marrom, observaram estreita associação entre a quantidade de perda de eletrólitos e a suscetibilidade dos genótipos testados. Os genótipos que apresentaram maior severidade da doença (lesões maiores com intensa clorose) foram os que apresentaram um aumento no extravasamento de íons no fluido do apoplasto. A deposição de Si na parede celular, fortalecendo-a contra o ataque de enzimas e a difusão de toxinas, e ao mesmo tempo protegendo a membrana plasmática, pode ter contribuído para diminuir o extravasamento de eletrólitos.

Evidências de que alterações de natureza fisiológica e bioquímica em plantas de trigo infectadas por *M. grisea* foram afetadas pelo Si são apresentadas nesse estudo. Diversos trabalhos registram a potencialização de mecanismos de defesa de

natureza bioquímica pelo Si nos patossistemas arroz-*M. grisea*, trigo-*B. graminis* f.sp. *tritici* e pepino-*Pythium ultimum* (Chérif et al., 1992; Rodrigues et al., 2003, 2005; Belanger et al., 2003).

Vários trabalhos na literatura mostram que a eficiência fotossintética de algumas culturas quando infectadas por patógenos é substancialmente afetada (Rabbinge et al., 1985; Bastiaans et al. 1991; Shtienberg 1992; Goodwin 1992; Bassanezi et al., 2001; Lopes & Berger 2001; Canteri & Godoy 2005). Bastiaans et al. (1991) verificaram que em plantas de arroz com brusone ocorram reduções na área foliar verde, bem como na fotossíntese em tecidos que ainda permaneciam saudáveis. No presente estudo, a capacidade fotossintética das plantas de trigo foi maior em plantas supridas com Si devido, provavelmente, à redução na área foliar necrótica em função da menor severidade de brusone. Gong et al. (2005) observou que não houve redução na concentração de pigmentos em plantas de trigo submetidas ao estresse hídrico supridas com Si. Com uma maior produção de fotoassimilados, as plantas têm maior disponibilidade de carbono e são capazes de responder de forma mais eficiente ao processo infeccioso, ativando o metabolismo secundário para síntese de compostos fenólicos, lignina, fitoalexinas e proteínas relacionadas com a patogênese (Shenck et al., 2000).

As plantas ativam diversas rotas metabólicas para a síntese de compostos relacionados com a defesa a patógenos. A rota dos fenilpropanóides é uma importante via, pois é através dela que ocorre a síntese de vários compostos fenólicos e da lignina (Medeiros et al., 2003). No presente estudo, a produção de compostos fenólicos solúveis totais não foi um mecanismo de defesa eficiente para conter a infecção por *M. grisea*, independente do suprimento ou não com Si e das cultivares utilizadas. Ao contrário, observou-se que a produção de derivados da lignina-ácido tioglicólico mostrou ser um mecanismo de defesa potencializado pelo Si durante o curso de infecção por *M. grisea*. Rodrigues et al. (2005) também observaram que ao contrário da lignina, os compostos fenólicos não tiveram participação detrimental para explicar a maior resistência de plantas de arroz a brusone. Bélanger et al. (2003) observaram a formação de papilas nas paredes das células de plantas de trigo supridas com Si, as quais foram dificilmente penetradas pelo fungo, devido principalmente também pelo acúmulo de material osmiofílico envolvendo o haustório. De acordo com Kumar et al. (2002), a atividade da fenilalanina amônia-liase, a qual promove a primeira etapa enzimática de conversão da fenilalanina para

ácido cinâmico até chegar na lignina, foi aumentada em folhas de trigo após a inoculação com diferentes isolados de *B. sorokiniana*.

As alterações na atividade de enzimas como resposta de defesa das plantas à presença de patógenos também é uma estratégia de defesa utilizada pelas plantas (Leite & Pasholati, 1995). As quitinases são enzimas que hidrolisam quitina e ocorrem normalmente nas plantas. O aumento na atividade dessas enzimas está relacionado com a infecção por patógenos (Lee & Hwang, 1996; Neuhaus, 1999). Vários trabalhos indicam que as formas extracelulares das quitinases possuem ação direta sobre as hifas fúngicas. Neste estudo foi observado aumento na atividade de quitinases em plantas da cultivar Aliança e da cultivar BH 1146 supridas com Si, indicando que esta enzima pode estar envolvida no aumento da resistência das plantas de trigo à brusone. No entanto, Rodrigues et al. (2003; 2005) não observaram mudanças na expressão de três genes que codificam para quitinases em folhas de plantas de arroz supridas com Si e infectadas por *M. grisea* e nem mesmo alterações na deposição de quitina na parede das hifas desse fungo. Chérif et al. (1994) já relatam aumento na atividade de quitinases em folhas de plantas de pepino supridas com Si e inoculadas com *Pythium ultimum*. As peroxidases catalisam a oxidação de componentes celulares, como o peróxido de hidrogênio ou peróxidos orgânicos (Kvaratskhelia et al., 1997). A atividade de peroxidases pode aumentar em plantas submetidas a diversos tipos de estresse (Rossi & Lima, 2001) como, por exemplo, o ataque por patógenos (Kumar et al, 2002). Sugere-se que as diferentes formas de peroxidases que tem sua atividade aumentada durante a infecção atuam inibindo o crescimento dos patógenos, talvez através da participação na biossíntese de compostos fenólicos (SeEVERS et al., 1971), ou favorecem a formação da lignina (Walton, 1997). Neste trabalho a atividade de peroxidases foi maior em plantas da cultivar Aliança supridas com Si, sugerindo a sua possível participação na formação da lignina. Já para a cultivar BH 1146, a atividade das peroxidases não foi expressiva em plantas supridas com Si. As peroxidases podem oxidar fenóis para formar quinonas, compostos mais tóxicos que os primeiros e que também exercem papel importante dentro do sistema de defesa das plantas (Gogoi et al., 2001). As polifenoloxidasas são enzimas que freqüentemente aumentam sua atividade em resposta ao estresse para promover a proteção da célula (Soares et al., 2004). A importância da atividade das polifenoloxidasas na resistência das plantas às doenças deve-se provavelmente à propriedade de oxidar compostos fenólicos em quinonas

(Pereira, 2007). Os resultados do presente estudo revelaram que a atividade dessa enzima não foi importante na resistência do trigo a brusone, independente da presença de Si.

Considerando a importância da brusone no contexto atual, os resultados desse estudo abrem perspectivas da utilização do Si no manejo dessa doença devido o seu efeito em reduzir de forma expressiva os componentes de resistência avaliados no presente estudo. Este trabalho apresenta os primeiros resultados de que plantas de trigo supridas com Si foram mais resistentes a brusone por apresentarem uma melhor resposta fotossintética associada à potencialização de alguns mecanismos de defesa de natureza bioquímica.

6. CONCLUSÕES GERAIS

- 1) O período de incubação da brusone do trigo foi prolongado, o tamanho médio das lesões e o número médio de lesões por cm² foram afetados de forma negativa em virtude da presença de silício em plantas de trigo;
- 2) A área abaixo da curva de progresso de progresso da brusone do trigo foi reduzida em plantas tratadas com Si;
- 3) A severidade final da brusone em folhas de plantas de trigo foi reduzida na presença de silício;
- 4) A taxa líquida de fotossíntese foi maior em plantas supridas com silício e inoculadas com *Magnaporthe. grisea*;
- 5) A concentração de compostos fenólicos solúveis totais está relacionada à resistência de plantas de trigo à brusone;
- 6) A concentração dos derivados da lignina-ácido tioglicólico foi maior em plantas das duas cultivares de trigo, Aliança e BH 1146 supridas com silício;
- 7) Em plantas de trigo supridas com silício, a atividade da quitinase elevada em determinados momentos da patogênese de *M. grisea*, contribuiu para a redução da severidade da brusone. É provável que a atividade das peroxidases estejam envolvidas na formação de lignina nas células das plantas da cultivar Aliança supridas com silício, bem como compostos tóxicos ao fungo. No entanto, a atividade desta enzima, não é alta na cultivar BH1146. As polifenoloxidasas não apresentaram papel importante no aumento da resistência de plantas de trigo supridas com Si em nenhuma das cultivares testadas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABITRIGO – Associação Brasileira da Indústria do trigo. Disponível em: http://www.abitrigo.com.br/historia_do_trigo2a.asp Acesso em 10 de fevereiro de 2007.

ADATIA, M. H. & BESFORD, A. T. The effects of silicon on cucumber plants grown in recirculating nutrient solution. *Annals of Botany* 58:343-351, 1986.

ANJOS, J.R.N., SILVA, D.B., CHARCHAR, M.J.D. & RODRIGUES, G.C. Ocorrência de brusone (*Pyricularia grisea*) em trigo e centeio na região dos cerrados do Brasil Central. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.31, n.1, p.79-82. 1996.

ARRUDA, M.A., BUENO, C.R.N.C., ZAMPROGNO, K.C. LAVORENTI, N.A. & URASHIMA, A.S. Reaction of wheat to *Magnaporthe grisea* at different stages of host development. *Fitopatologia Brasileira*. vol.30, no. 2, p.121-126. 2005.

BANZATTO, D. A. & S. N. KRONKA. Experimentação Agrícola, FUNEP, Jaboticabal. 1995.

BASSANEZI, R. B.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Eficiência fotossintética de folhas de feijoeiro infectadas com o vírus do mosaico-em-desenho, *Uromyces appendiculatus* e *Phaeosphaeria griseola*. *Summa Phytopathologica*, Jaguariuna, v. 27, p. 5-11, 2001.

BASTIAANS, L. Ratio between virtual and visual lesion size as a measure to describe reduction in leaf photosynthesis of rice due to leaf blast. *Phytopathology*, Saint Paul, v. 81, p. 611-615, 1991.

BARBER M. S., RIDE J. P. A quantitative assay for induced lignification in wounded wheat leaves and its use to survey potential elicitors of the response. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 32: 185-197. 1998.

BEDENDO, I.P. & PRABHU, A.S. Doenças do arroz. In: H. KIMATI, L. AMORIM, REZENDE, J. A. M., BERGAMIN FILHO, A. E CAMARGO, L. E. A. (Eds.) Manual de Fitopatologia. Doenças de Plantas Cultivadas. vol. 2, 4ª Edição. 2005. pp: 79-90.

BEDENDO, I.P. Ambiente e doenças. In: BERGAMIN FILHO, A., H. KIMATI, L. AMORIM. (Eds.) Manual de Fitopatologia. Princípios e conceitos. vol. 1, 3ª Edição. pp: 331-341. 1995.

BÉLANGER, R. R., BENHAMOU, N. & MENZIES, J. G. Cytological evidence of an active role of silicon in wheat resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*). *Phytopathology* 93:402-412, 2003.

BÉLANGER, R. R., BOWEN, P. A., EHRET, D. L. & MENZIES, J.G. Soluble silicon: Its role in crop and disease management of greenhouse crops. *Plant Disease* 70:329-335,

1995.

BERGAMIN FILHO, A & AMORIM L. A epidemiologia clássica: conceitos básicos In: BERGAMIN FILHO, A & AMORIM L. Doenças de plantas tropicais: epidemiologia e controle econômico. São Paulo. Ceres, 1996 pp 73-97.

BRUNO, A.C. & URASHIMA, A.S. Inter-relação sexual de *Magnaporthe grisea* do trigo com a brusone de outros hospedeiros. Fitopatologia Brasileira 26:21-26. 2001.

CAMARGO, C.E.O. & FERREIRA FILHO, A.W.P. Cultivo de trigo duro no Brasil. Informativo técnico o agrônomo. Campinas. 52:1. 2000.

CAMPBELL, C.L. & MADDEN, L.V. Introduction to plant disease epidemiology. New York. John Wiley & Sons. 1990.

CARVER, T. L. W., ZEYEN, R. J., AHLSTRAND, G. G. 1987. The relationship between insoluble silicon and success or failure of attempted primary penetration by powdery mildew (*Erysiphe graminis*) germlings on barley. . Physiological and Molecular Plant Pathology. 31:133-148.

CASEY, W. H., KINRADE S, D., KNIGHT, C.T.G., RAINS, D.W. & EPSTEIN, E. Aqueous silicate complexes in wheat, *Triticum aestivum* L. Plant Cell Environ. 27, 51–54, 2003.

CHANCE, B.; MAEHLEY, A. C. Assay of catalases and peroxidases. Methods in Enzymology. New York, v. 2, p. 764-775, 1955.

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

CHÉRIF, M., BENHAMOU, N.; MENZIES, J.G. & BÉLANGER, R.R. Silicon induced resistance in cucumber plants against *Pythium ultimum*. Physiological and Molecular Plant Pathology 41:411-425.1992.

CHUNG, H.S. & LEE, C.U. Detection and transmission of *Pyricularia oryzae* in germinating rice seed. Seed Science Technology 11:625-637.1983.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento) Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/index.php?PAG=131>. Acesso em 10 de fevereiro de 2008.

DATNOFF, L.E., RODRIGUES, F.Á. & SEEBOLD, K.W. Silicon and Plant Disease. In: DATNOFF, L.E. ELMER, W.H. & HUBER, D.M. Mineral Nutrition and Plant Disease. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 2007.278p.

DATNOFF, L. E. & RODRIGUES, F. Á. The role of silicon in suppressing rice diseases. Feature Article, February, The American Phytopathological Society (www.apsnet.org), 28p. 2005.

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

DATNOFF, L.E., RAID, R.N.; SNYDER, G.H.; JONES, D.B. Effect of calcium silicate on blast and brown spot intensities and yields of rice. *Plant Disease*, St. Paul, v.75, p.729-732, 1991.

DATNOFF, L.E.; RAID, R.N.; SNYDER, G.H., JONES, D.B. Evaluation of calcium silicate slag and nitrogen on brown spot, neck rot, and sheath blight development on rice. *Biological and Cultural Tests for Control of Plant Diseases*, St. Paul, v.5, p.65, 1990.

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

EMBRAPA Trigo disponível em <http://www.cnpt.embrapa.br/culturas/trigo/index.htm> acessado em 14/02/2008.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. Informações técnicas para o cultivo de trigo na região do Brasil central: safras 2005 e 2006. Embrapa Arroz e Feijão; Goiânia, GO; Embrapa Cerrados; Planaltina, DF; Embrapa Trigo; Passo Fundo, RS. Documentos 173. 2005. 82 p..

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. Sistema brasileiro de classificação de solos. Rio de Janeiro: 1999. 412 p.

EPSTEIN E. & BLOOM A. J. 2005. *Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives* (Sinauer, Sunderland, MA), 2nd Ed. 400p.

EPSTEIN, E. Silicon in plants: facts vs. concepts In: Datnoff, L.E., Snyder, G.H. and Korndörfer, G.H., (Eds.). *Silicon in Agriculture*. Elsevier, Amsterdam. 2001.pp. 1–16.

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

EPSTEIN, E. The anomaly of silicon in plant biology. *Proceedings of the National Academic Science* 91:11-17, 1994.

FAEP Federação de Agricultura do Estado do Paraná. Disponível em: http://www.faep.com.br/comissoes/graos/proposta_p_setor_triticola.pdf Acesso em 09 de fevereiro de 2008.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Food Outlook – Global Market Analysis*. Nº 1. Junho de 2006.

FAUTEUX, F., CHAIN, F. & BELZILE, F. The protective role of silicon in the *Arabidopsis*-powdery mildew pathosystem. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America 103 (46): 17554-17559. 2006.

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

FILIPPI, M.C. & PRABHU, A.S. Phenotypic virulence analysis of *Pyricularia grisea* isolates from Brazilian upland rice cultivars. Pesquisa Agropecuária Brasileira. V. 36. n. 1. p. 27-35. jan/2001.

FRONZA, V., SOUZA, M.A., MOLINA, R.M.S. & YAMANAKA, C.H. Trigo (*Triticum aestivum* L.) In: Paula Júnior, T.J. & Venzon, M. (Coord.). 101 Culturas: manual de tecnologias agrícolas. Belo Horizonte. EPAMIG. 2007. pp. 751-762.

GOGOI, R.; SINGH, D. V.; SRIVASTAVA, K. D. Phenols as a biochemical basis of resistance in wheat against Karnal bunt. Plant Pathology, v. 50, p. 470-476, 2001.

GOMEZ, K. A., GOMEZ, A. A. Statistical Procedures for Agricultural Research, 2nd Edition, Wiley, New York, USA. 1994.

GONG, H., ZHU, X., CHEN, S.W. & ZHANG, C. Silicon alleviates oxidative damage of wheat plants in pots under drought. Plant Science 169:313–321. 2005

GOULART, A.C.P. Perdas em trigo causadas pela Brusone. In: Vale, F.X.R. Workshop de epidemiologia de doenças de plantas. UFV: DFP. 27-28. 2005.

GOULART, A.C.P. & PAIVA, F.A. Perdas no rendimento de grãos de trigo causadas por *Pyricularia grisea*, nos anos de 1991 e 1992, no Mato Grosso do Sul. Summa Phytopathologica 26:279-282. 2000.

GOULART, A.C.P.; PAIVA, F.A.; MELO FILHO, G.A.; RICHETTI, A. Efeito da época e do número de aplicações dos fungicidas tebuconazole e mancozeb no controle da brusone (*Pyricularia grisea*) do trigo: viabilidade técnica e econômica. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.21, n.3, p.381-387. 1996.

GOULART, A.C.P.; PAIVA, F.A. Response of wheat cultivars and breeding lines to blast (*Pyricularia grisea*) under field conditions, 1991. Annual Wheat Newsletter, Fort Collins, v.39, p.109-112. 1993.

GOULART, A.C.P.; PAIVA, F.A. Incidência da brusone (*Pyricularia oryzae*) em diferentes cultivares de trigo (*Triticum aestivum*) em condições de campo. Fitopatologia brasileira, Brasília, v.17, n.3, p.321-325. 1992.

GOULART, A.C.P & PAIVA, F.A. Controle de *Pyricularia oryzae* e *Helminthosporium sativum* pelo tratamento de sementes de trigo com fungicidas. Pesquisa Agropecuária Brasileira 26:1983-1988. 1991.

GOULART, A.C.P.; PAIVA, F.A.; Mesquita, A.N. Ocorrência da brusone (*Pyricularia oryzae*) do trigo (*Triticum aestivum*) em Mato Grosso do Sul. Fitopatologia brasileira, Brasília, v.15, n.1, p.112-114. 1990.

GUÉVEL, M.H., MENZIES, J.G. & BÉLANGER, R.R. Effect of root and foliar applications of soluble silicon on powdery mildew control and growth of wheat plants. Eur J Plant Pathol 119:429–436. 2007.

HARMAN, G. E.; HAYES, C. K.; LORITO, M.; BROADWAY, R. M.; PIETRO, A. di.; PETERBAUER, C.; TRONSMO, A. Chitinolytic enzymes of *Trichoderma harzianum*: purification of chitobiosidase and endochitinase. Phytopathology, 83:313-318, 1993.

HAMMOND-KOSACK, K.E.; PARKER, J.E. Deciphering plant-pathogen communication: fresh perspectives for molecular resistance breeding. Current Opinion in Plant Biology 14: 177-193, 2003.

HAMMOND-KOZACK, K.; JONES, J.D.G. Responses to Plant Pathogens. In: BUCHANAN, B.B., GRUISSEM, W., JONES, R.L. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists. Rocket Ville, Maryland. 2000. 1367p.

HODSON, M.J., WHITE, P.J., MEAD, A. & BROADLEY, M.R. Phylogenetic Variation in the Silicon Composition of Plants. Annals of Botany 96: 1027–1046, 2005

IGARASHI, S. Update on wheat blast (*Pyricularia oryzae*) in Brazil. In: SAUNDERS, D.A., ed. Wheat for nontraditional warm areas: a proceedings of the International Conference, Foz do Iguaçu, Brazil, 1990. México: Cimmyt, p.480-483. 1991.

IGARASHI, S.; UTIAMADA, C.M.; IGARASHI, L.C.; KAZUMA, A.H.; LOPES, R.S. *Pyricularia* sp. em trigo. I. Ocorrência de *Pyricularia* sp. no estado do Paraná. Fitopatologia brasileira, Brasília, v.11, n.2, p.351. jun.1986. Ref. 150. Edição de Resumos do 19. Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Brasília, DF. 1986.

IBEAGHA, A.E., HÜCKELHOVEN, R., SCHÄFER, P., SINGH, D.P. & KOGEL, K.H. Model wheat genotypes as tools to uncover effective defense mechanisms against the hemibiotrophic fungus *Bipolaris sorokiniana*. Phytopathology 95:528-532. 2005.

JARVIS, S.C. The uptake and transport of silicon by perennial ryegrass and wheat. Plant Soil 97, 429–437, 1987.

JESUS JÚNIOR, W.C. Effects of angular leaf spot and rust on plant growth and yield of *Phaseolus vulgaris*. Tese de Doutorado em Fitopatologia. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, MG. 2001.

KATO, H. The perfect state of *Pyricularia* species. PlantProtection 10:20-28. 1977.

KIM, S. G., KIM, K. W., PARK, E. W, CHOI, D. Silicon-induced cell wall fortification of rice leaves: a possible cellular mechanism of enhanced host resistance to blast. *Phytopathology* 92:1095-1103. 2002.

KORNDÖRFER, G. H., PEREIRA, H. S., NOLA, A. Análise de silício: solo, planta e fertilizante. Uberlândia: GPSi-ICIAG-UFU. 34p. 2004. (Boletim técnico, 2).

KORNDÖRFER, G.H. & PEREIRA, H.S. Papel do silício na citricultura. *Citricultura Atual*. Cordeirópolis/SP. 4(25):16-18. 2001.

KORNDÖRFER, G.H. & I. LEPSCH. Effect of silicon on plant growth and yield. *Silicon in Agriculture*. Fort Lauderdale, FL. 26-30. 1999.

KORNDÖRFER, G.H. & DATNOFF, L.E. Adubação com silício: uma alternativa no controle de doenças da cana-de-açúcar e do arroz. *Informações Agronômicas*. Piracicaba. 70:1-5. Jun/1995.

KUMAR, J.; SCHÄFER, P.; HÜCKELHOVEN, R.; LANGEN, G.; BALTRUSCHAT, H.; STEIN, E.; NAGARAJAN, S.; KOGEL, KH. *Bipolaris sorokiniana*, a cereal pathogen of global concern: cytological and molecular approaches towards better control. *Molecular Plant Pathology* 3 (4), 185–195. 2002.

KUMAR, J., NELSON, R.J., ZEIGLER, R.S. Population structure and dynamics of *Magnaporthe grisea* in the Indian Himalayas. *Genetics* 152:971-984. 1999.

KVARATSKHELIA, M.; WINKEL, C.; THORNELEY, R. N. F. Purification and characterization of a novel class in peroxidase isoenzyme from tea leaves. *Plant Physiology*. 114:1237-1245, 1997.

LAMB, C. J.; LAWTON, M. A.; DRON, M.; DIXON, R. A. Signals and transduction mechanisms for activation of plant defenses against microbial attack. *Cell*, v. 56, p. 215-224, 1989.

LAMEY, H.A. *Pyricularia oryzae* on rice seed in the United States. *Plant Disease Rep.* 54:931-935. 1970.

LANNA, A. C.; OLIVEIRA, M. G. A.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Kinetic parameters of leaf lipoxygenases pool from normal soybean genotypes and from a line devoid of seed lipoxygenases. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, v. 8, p. 87- 92, 1996.

LASCA, C.C.; KRUPPA, P.C.; BARROS, B.C.; SCHIMIDT, J.R.; CHIBA, S. *Arq. Instituto Biológico*, São Paulo, v.68, n.1, p.55-63. 2001.

LEAH, R.; TOMMERUP, H.; SVENDSEN, I.; MUNDY, J. Biochemical and molecular characterization of three barley seed proteins with antifungal properties. *Journal of Biological Chemistry*, v. 266, p. 1564-1573, 1991.

LEBRUN, M.H., CAPY, M.P., GARCIA, N., DUTERTRE, M., BRYGOO, Y., NOTTEGHEM, J.L. & VALES, M. Biology and genetics of *Pyricularia oryzae* and *Pyricularia grisea* populations: current situation and development of RFLP markets. In: Rice Genetics conference. Los Baños, IRRI. Pages: 1-12. 1990.

LEE, Y.K.; HWANG, B. K. *Differential induction and accumulation of α -1,3-glucanase and chitinase isoforms in the intercellular space and leaf tissues of pepper by *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* infection.* Journal of Phytopathology, v. 144, p. 79-87, 1996.

LEE, T.S.; KWON, T.O.; PARK, K.H. Influence of nitrogen and silicon on the yield and the lodging related traits of paddy rice. Soil and Fertilizers, Wallingford, v.32, n.2, p.15-23. 1990.

LIANG, X.; DRON, M.; CRAMER, C.; DIXON, R. A.; LAMB, C. J. Differential regulation of phenylalanine ammonia-lyase genes during development and by environmental cues. Journal of Biological Chemistry, v. 264, p. 14486-14492, 1989.

LEUSCH, H.J., AND BUCHENAUER, H. Effect of soil treatments with silica-rich lime fertilizers and sodium trisilicate on the incidence of wheat by *Erysiphe graminis* and *septoria nodorum* depending on the form of N-fertilizer. J. Plant Dis. Prot. 96:154-172. 1989.

LIBERATO, J. R. Desenvolvimento e avaliação do Software Quant para quantificação de doenças de plantas por análise de imagens. Tese (Doutorado) – Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa 2003.

LIMA A.L.S., DAMATTA, F.M., PINHEIRO, H.A. TOTOLA, M.R. & LOUREIRO, M.E. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. Environmental and Experimental Botany 47: 239–247. 2002.

LONG, D.H., CORREL, J.C., LEE, F.N. & TEBEEST, D.O. Rice blast epidemics initiated by infested rice grain on the soil surface. Plant Disease 85:612-616. 2001.

LUX. A., LUXOVA, M., HATTORI, T., INANAGA, S. & SUGIMOTO, Y. Silicification in sorghum (*Sorghum bicolor*) cultivars with different drought tolerance. Physiologic Plantarum. 115:87-92. 2002.

MA, J. F., TAMAI, K. , YAMAJI, N., MITANI, N., KONISHI, S., KATSUHARA, M., ISHIGURO, M., MURATA, Y. & YANO, M. A silicon transporter in rice. Nature 44: 688-691, 2006.

MAJUMDER, N. D., RAKSHIT, S. C. & BORTHAKUR, D. N. Genetics of silica uptake in selected genotypes of rice. Plant and Soil 88:449-453, 1985.

MANANDHAR, H.K., LYNGS JORGENSEN, H.J., SMERDEGAARD-PETERSE, V. MATHUR, S.B. Seedborne infection of rice by *Pyricularia oryzae* and its transmission to seedlings. Plant Disease 82:1093-1099. 1998.

MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 2^a ed., San Diego: Academic Press. p.436-460. 1988.

MEDEIROS, R.B., FERREIRA, M.A.S.V., DIANESE, J.C. Mecanismos de agressão e defesa nas interações planta-patógeno. Brasília. Universidade de Brasília. 2003. 290p.

MELLO, A.P.A. & URASHIMA, A.S. Diversidade da virulência de *Pyricularia grisea* num local de melhoramento genético de arroz. Fitopatologia Brasileira. 28: 541-543.2003.

MENZIES, J. G., EHRET, D. L., GLASS, A. D. M. & SAMUELS, A. L. The influence of silicon on cytological interactions between *Sphaerotheca fuliginea* and *Cucumis sativus*. Physiological and Molecular Plant Pathology 39:403-414, 1991.

MOHAMMADI, M.; ROOHPARVAR, R.; TORABI, M. Induced chitinase activity in resistant wheat leaves inoculated with an incompatible race of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*, the causal agent of yellow rust disease. Mycopathologia, v. 154, p. 119–126, 2002.

NEUHAUS, J. Plant Chitinases. In: Datta and Muthukrishnan (Eds.). Pathogenesis-related proteins. CRC Press, Boca Raton, FL, 1999. p.77-106.

NOTTEGHEM, J.†L. Cooperative experiment on horizontal resistance to rice blast. In: International Rice Research Institute (Los Baños, Filipinas). Blast and upland rice: report and recommendations from the meeting for international collaboration in upland rice improvement. Los Baños, 1981. p. 43-51.

ORBACH, M.J., CHUMLEY, F.G. & VALENT, B. Electrophoretic karyotypes of *Magnaporthe grisea* pathogens of diverse grasses. Molecular Plant-Microbe Interactions 9:261-271. 1996.

OU, S.H. Blast. Pages 109-201 in: Rice diseases. Ou, S.H. 2nd ed. CAB International, Wallingford, UK. 1985.

PASCHOLATI, S.F. Fitopatógenos: fitotoxinas e hormônios. In: BERGAMIN FILHO, A., H. KIMATI, L. AMORIM. (Eds.) Manual de Fitopatologia. Princípios e conceitos. vol. 1, 3^a Edição. 1995. pp:365-392.

PANDE, S., MUKURU, S.Z., ODHIAMBO, R.O. & KARUNAKAR, R.I. Seedborne infection of *Eleusine coracana* by *Bipolaris nodulosa* and *Pyricularia grisea* in Uganda and Kenya. Plant Disease 78:60-63. 1994.

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

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

PICININI, E.C., FERNANDES, J.M.C. Ocorrência da brusone (*Pyricularia oryzae*) em lavouras comerciais de trigo (*Triticum aestivum*) no Estado do Rio Grande do Sul. Fitopatologia brasileira, Brasília, v.15, n.1, p.83-84. 1990.

PRABHU, A.S. & FILIPPI, M.C.C. MECANISMOS DE RESISTÊNCIA E CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO IN: PRABHU, A.S. & FILIPPI, M.C.C. (Ed.) Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectivas. Santo Antônio de Goiás. Embrapa Arroz e Feijão, 2006. pp. 165-232.

PRABHU, A.S., FILIPPI, M.C., CASTRO, N. Pathogenic variation among isolate of *Pyricularia oryzae* infecting rice, wheat and grasses in Brazil. Tropical Pest Management, London, v.38, n.4, p.367-371. 1992.

RAFI M, M. & EPSTEIN, E. Silicon absorption by wheat (*Triticum aestivum* L.). Plant Soil 211, 223–230. 1999.

RAFI, M. M., EPSTEIN, E., FALK, R. H. Silicon deprivation causes physical abnormalities in wheat (*Triticum aestivum*). Journal of plant physiology, v.151, p. 497-501, 1997.

RAINS, D.W, EPSTEIN E., ZASOSKI, R.J & ASLAM M. Active silicon uptake by wheat. Plant Soil 280:223-228. 2006.

RANGANATHAIAH, K.G. SRINIVASAIAH, S.M.& SANNE GOWDA, S. Seed-borne infection of rice by *Pyricularia oryzae* in Karnataka. Current Science 48:952-953. 1979.

REIS, E. M. & CASA, R. T. Doenças do trigo. In: H. KIMATI, L. AMORIM, REZENDE, J. A. M., BERGAMIN FILHO, A. E CAMARGO, L. E. A. (Eds.). Manual de Fitopatologia. Doenças de Plantas Cultivadas. vol. 2, 4ª Edição. 2005. pp:631-638.

RÉMUS-BOREL, W., MENZIES, J.G. & BÉLANGER R.R. Silicon induces antifungal compounds in powdery mildew-infected wheat. Physiological Molecular Plant Pathology;66:108—115. 2005.

RESENDE, R.S. Silício no manejo da antracnose do sorgo: componentes de resistência e respostas bioquímicas de defesa. (Dissertação de Mestrado) Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 2007.

RICHARDSON, M.J. An annotated list of seed-borne diseases. 3 ed. Zurich: CAB/CMI/ISTA, 320p.1979.

ROBERTS, W. K.; C. P. SELITRENNIKOFF. Plant and bacterial chitinases differ in antifungal activity. Journal of General Microbiology, v. 134, p. 169-176, 1988.

RODGERS-GRAY, B.S. & SHAW, M.W. Effects of straw and silicon soil amendments on some foliar and stem-base diseases in pot-grown winter wheat. *Plant Pathology* 53: 733–740. 2004.

RODGERS-GRAY, B. S. & SHAW, M. W. Substantial reductions in winter wheat diseases caused by addition of rice straw but not manure to soil. *Plant Pathology* 49:590-599, 2000.

RODRIGUES, F. Á & DATNOFF, L. E. Silicon and rice disease management. *Fitopatologia Brasileira* 30:457-459. 2005.

RODRIGUES, F. Á., MCNALLY, D. J., DATNOFF, L. E., JONES, J. B., LABBÉ, C., BENHAMOU, N., MENZIES, J. G., BÉLANGER, R. R. Silicon enhances the accumulation of diterpenoid phytoalexins in rice: a potential mechanism for blast resistance. *Phytopathology* 94:177-183. 2004.

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

RODRIGUES, F. Á., VALE, F. X. R., KORNDÖRFER, G. H., PRABHU, A. S., DATNOFF, L. E., OLIVEIRA, A. M. A. & ZAMBOLIM, L. Influence of silicon on sheath blight of rice in Brazil. *Crop Protection* 22:23-29, 2003b.

RODRIGUES, F. Á., CARVALHO, E.M. & VALE, F.X.R. Severidade da podridão-radicular de *Rhizoctonia* do feijoeiro influenciada pela calagem, e pelas fontes e doses de nitrogênio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 37. n 9. p 1247-1252. 2002.

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

RODRIGUES, F.Á., KORNDÖRFER, G.H., CORRÊA, G.F., BUKI, G.B., SILVA, O.A. AND DATNOFF, L.E. Response of six gramineae species to application of calcium metasilicate. In: *Silicon in Agriculture*. L. E. DATNOFF, G. H. SNYDER, AND G. H. KORNDÖRFER (Eds.) *Studies in Plant Science*, Vol. 8. Elsevier Science B. V., Amsterdam , The Netherlands . Pág. 378. 2001b.

RODRIGUES, F.A. Fertilização silicatada na severidade da queima das bainhas (*Rhizoctonia solani* Kühn) do arroz. *Dissertação (Mestrado)* - Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa. 2000.

ROSSI, C.; LIMA, G. P. P. Cádmio e a atividade de peroxidase durante a germinação de sementes de feijoeiro. *Scientia Agricola*, v. 58, n. 1, p. 197-199, 2001.

ROTEM J. *The Genus Alternaria: Biology, Epidemiology and Pathogenicity*. St Paul, MN, USA, APS Press. 1994.

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

SCHENK, P.M.; KAZAN, K.; WILSON, I.; ANDERSON, J.P.; RICHMOND, T.; SOMERVILLE, S.C.; MANNERS, J.M. Coordinated plant defense responses in *Arabidopsis* revealed by microarray analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, v.21, p.11655-11660, 2000.

SEEBOLD, K.W., DATNOFF, L.E., CORREA-VICTORIA, F.J., KUCHARÉK, T.A., AND SNYDER, G.H. Effects of silicon and fungicides on the control of leaf and neck blast in upland rice. *Plant Disease* 88:253-258. 2004.

SEEBOLD, K.W., KUCHARÉK, T.A., DATNOFF, L.E., CORREA-VICTORIA & MARCHETTI, M.A. The influence of silicon on components of resistance to blast in susceptible, partially resistant, and resistant cultivars of rice. *Phytopathology* 91:63-69. 2001.

SEEVERS, P. M.; DALY, J. M.; CATEDRAL, F. F. The role of Peroxidase Isozymes in Resistance to Wheat Stem Rust Disease. *Plant Physiology*, v. 48, p. 353-360, 1971.

SHANER, G. & FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* 67:1051-1056. 1977.
SIEGEL, B. Z. Plant peroxidases: an organism perspective. *Plant Growth Regulation*, v. 12, p. 303-312, 1993.

SILVA, F. C. (Org.) *Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes*. Brasília: EMBRAPA, 370 p. 1999.

SILUÉ, D. & NOTTEGHEM, J.L. Production of perithecia of *Magnaporthe grisea* on rice plants. *Mycological Research* 94:1151-1152. 1990.

TAIZ, L., ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719p.

TISDALE, S.L., NELSON, W.L., BEATON, J.D. & HALVIN, J.L., *Soil Fertility and Fertilizers*. Macmillan Publishing Company, New York, 634p. 1993.

URASHIMA, A.S., HASHIMOTO, Y., DON, L.D., KUSABA, M., TOSA, Y., NAKAYASHIKI, H. & MAYAMA, S. Molecular analysis of the wheat blast population in Brazil with a homolog of retrotransposon MGR583. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 65:429-436. 1999.

URASHIMA, A.S. & KATO, H. Pathogenic relationship between isolates of *Pyricularia grisea* of wheat and other hosts at different host developmental stages. *Fitopatologia Brasileira* 23:30-35. 1998.

URASHIMA, A.S.; KATO, H. Varietal resistance and chemical control of wheat blast fungus. *Summa Phytopathologica*, Jaguariúna, v.20, n.2, p.107-112. 1994.

URASHIMA, A.S.; IGARASHI, S.; KATO, H. Host range, mating type, and fertility of *Pyricularia grisea* from wheat in Brazil. *Plant Disease*, St. Paul, v.77, n.12, p.1211-1216. 1993.

VALE, F.C., JESUS JÚNIOR, W.C., LIBERATO, J.R. & SOUZA, C.A. Quantificação de doenças e do crescimento do hospedeiro. In: VALE, F.X., JESUS JÚNIOR, W.C. & ZAMBOLIM, L. *Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas*. Belo Horizonte. Perffil. 2004. pp. 89-124.

VALE, F. X. R., FERNANDES-FILHO, E. I. F. & LIBERATO, J. R. QUANT – a software for plant disease severity assessment. 8th International Congress of Plant Pathology. vol. 2, ChristChurch, New Zealand, p. 105, 2003.

VALENT, B. Rice blast as a model system for plant pathology. *Phytopathology* 80:33-36. 1990.

VOLK, R. J., KAHN, R. P., AND WEINTRAUB, R. L. Silicon content of the rice plant as a factor in influencing its resistance to infection by the rice blast fungus, *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology* 48:121-178. 1958.

WALTON, J.D. Biochemical plant pathology. In: DEY, P.M., HARBORNE, J.B. (Eds.) *Plant Biochemistry*. London. UK. Academic Press Ltd. 1997. p. 485-502.

WARBURG, O.; CHRISTIAN, W. Isohering und kristallisation des gõrungs ferments enolase. *Biochemistry Zoology*, n. 310, p. 384-421, 1941.

YAEGASHI, H. On the sexuality of blast fungi, *Pyricularia* spp. *Annals of the Phytopathological Society of Japan* 43:431-439. 1977.

YEDIDIA, I., BENHAMOU, N. & CHET, I. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology*. p. 1061–1070. Mar, 1999.

YOSHIDA, S. The physiology of silicon in rice. Taipei: Food and Fertilization Technology Center, 1975. (FFTC. Technical Bulletin, 25).

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

ZADOCKS, J.C., CHANG, T.T. & KONZAC, C.F. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research* 14:415-421. 1974.

ZEIGLER, R.S., CUC, L.X., SCOTT, R.P., BERNARDO, M.A., CHEN, D.H., VALENT, B. & NELSON, R. The relationship between lineage and virulence in *Pyricularia grisea* in the Philippines. *Phytopathology* 85:443-451. 1995.

ZIESLIN N. & BEM-ZAKEN, R. Peroxidase activity and presence of phenolic substances in penduncles of rose flowers. *Plant Physiol. Biochem.* 31:333-339. 1993.

ZHU, Z., WEI, G., LI, J., QIONGQIU, Q & YU, J. Silicon alleviates salt stress and increases antioxidant enzymes activity in leaves of salt-stressed cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Science*. 167:527–533. 2004.