**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

Epidemiologia e bioquímica do controle do oídio do meloeiro por silício

Leandro José Dallagnol

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor em Ciências. Área de concentração:
Fitopatologia

**Piracicaba
2010**

Leandro José Dallagnol
Engenheiro Agrônomo

Epidemiologia e bioquímica do controle do oídio do meloeiro por silício

Orientador:
Prof. Dr. **LUIS EDUARDO ARANHA CAMARGO**

Tese apresentada para obtenção do título de
Doutor em Ciências. Área de concentração:
Fitopatologia

**Piracicaba
2010**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Dallagnol, Leandro José
Epidemiologia e bioquímica do controle do oídio do meloeiro por silício / Leandro José
Dallagnol. - - Piracicaba, 2010.
66 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2010.

1. Doenças de plantas 2. Fungos fitopatogênicos 3. Mecanismos de defesa 4. Melão
Oídio 6. Resistência genética vegetal 7. Silício I. Título

CDD 635.61
D144e

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

Aos meus pais Armando e Salete
irmã Aline
e a noiva Luiza

AGRADECIMENTOS

Agradeço primariamente a Deus por mais esta oportunidade.

À Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e ao Programa de Pós-graduação em Fitopatologia e Nematologia, por proporcionarem condições de realizar este trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pelo apoio financeiro.

Ao Professor Luis Eduardo Aranha Camargo pela confiança, orientação, amizade, e por seu exemplo de profissionalismo e competência.

Ao Professor Fabrício de Ávila Rodrigues pelos aconselhamentos, incentivo e amizade.

À professora Lilian Amorim pelas dicas e auxílio nas análises epidemiológicas.

Aos professores Lázaro Eustáquio Pereira Peres, Ricardo Alfredo Kluge e Ricardo Ferraz de Oliveira pelos esclarecimentos e pela disponibilidade de equipamentos de seus laboratórios.

Aos professores Elliot Watanabe Kitajima e Francisco André Ossamu Tanaka pelo tempo dispensado e pelas dicas no uso dos microscópios eletrônico de varredura e de transmissão, junto ao Núcleo de Apoio à Pesquisa em Microscopia Eletrônica Aplicada a Agricultura (NAP/MEPA, ESALQ/USP).

Ao Professor Gaspar Henrique Korndöner, pela realização das análises da concentração foliar de silício.

A todos os Professores do Departamento de Fitopatologia e Nematologia pelas dicas, apoio e ensinamentos.

Aos Doutores André Boldrin Beltrame, Ivan Sestari, Marcelo Latarullo Campos, Rogério Falleiros Carvalho e Saulo de Tarso Aidar pela oportunidade de troca de experiências e pelos sábios esclarecimentos.

À Sakata Seeds Sudamerica Ltda pelo fornecimento das sementes de melão utilizadas nos experimentos.

À Unaprosil pelo fornecimento do silicato de potássio.

Aos funcionários Fabiana F. Nunes, Fernanda, Y. B. Groppo, Giuliano P. Silva, Jeferson Brajão, José E. Buriolla, José R. Groppo, M. E. D Moraes, Pedro C. Arthuso, Reginaldo T. Lara, Renato B. Salaroli e Vera L. Durrer pela demonstração de boa vontade e auxílio durante a realização deste trabalho.

À Luiza Denardi Cesar, pelo apoio constante, dedicação, incentivo e carinho incomparável.

Aos meus pais, Salete e Armando Dallagnol, e a minha irmã Aline, pelo apoio incondicional, dedicação e carinho.

Ao Celso César e sua família, pelo apoio e amizade.

A todos os professores que contribuíram para o meu aprendizado e formação profissional.

A todas as pessoas do Laboratório de Genética Molecular e do Laboratório de Fisiologia do Parasitismo pelo companheirismo, amizade, troca de experiências e ajuda nas análises bioquímicas e fisiológicas.

Aos colegas do Programa de Pós-graduação, pelo companheirismo e amizade.

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

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	11
1 INTRODUÇÃO.....	13
Referências	15
2 SILÍCIO REDUZ A EPIDEMIA DE OÍDIO EM MELOEIRO POR AFETAR COMPONENTES EPIDEMIOLÓGICOS	17
Resumo	17
Abstract.....	17
2.2 Material e métodos	19
2.2.1 Material vegetal e seu cultivo:.....	19
2.2.2 Experimento A - Efeito da aplicação foliar ou radicular de silicato de potássio em componentes epidemiológicos.....	20
2.2.3 Experimento B - Efeito da aplicação foliar ou radicular de silicato de potássio no progresso da doença:	22
2.2.4 Análise foliar da concentração de Si e K:.....	23
2.2.5 Microanálise de raio-X:	23
2.2.6 Análise estatística:	24
2.3 Resultados.....	24
2.3.1 Concentração foliar de Si e K:.....	24
2.3.2 Microanálise de raio-X da deposição de Si e K:	25
2.3.3 Experimento A - Efeito da aplicação foliar ou radicular de silicato de potássio nos componentes epidemiológicos:	26
2.3.4 Experimento B - Efeito da aplicação foliar ou radicular de silicato de potássio no progresso da doença:	28
2.4 Discussão	30
Referências	34
3 MECANISMOS DE DEFESA INDUZIDOS PELAS APLICAÇÕES FOLIAR E RADICULAR DE SILICATO DE POTÁSSIO EM MELOEIRO EM RESPOSTA À INFECÇÃO POR <i>Podosphaera xanthii</i>	39

Resumo.....	39
Abstract	39
3.1 Introdução	40
3.2 Material e métodos	42
3.2.1 Material vegetal e seu cultivo:	42
3.2.2 Aplicação de silício:.....	43
3.2.3 Desenho experimental na casa de vegetação:	43
3.2.4 Inoculação do patógeno e avaliação da severidade da doença:	44
3.2.5 Análises de respostas de defesa pós-infecção:	44
3.2.6 Análise foliar da concentração de Si e K:	47
3.2.7 Análise estatística:.....	47
3.3 Resultados	47
3.3.1 Concentração foliar de Si e K:	47
3.3.2 Efeito da aplicação de Si na severidade da doença:	48
3.3.3 Análises da resposta de defesa pós-infecção:	48
3.4 Discussão	53
Referências	60

RESUMO

Epidemiologia e bioquímica do controle do oídio do meloeiro por silício

Embora não seja reconhecido como um nutriente essencial, o silício (Si) reduz a severidade de oídios em diversas espécies vegetais quando acumulado na parte aérea. Contudo, apesar deste efeito benéfico ser amplamente relatado na literatura, ainda pouco se sabe dos mecanismos envolvidos. Este estudo avaliou o efeito das aplicações foliar e radicular de silicato de potássio, uma importante fonte de Si solúvel, na severidade de oídio e na indução de mecanismos de defesa pós-infecção em meloeiro. Os efeitos na doença foram avaliados em plantas inoculadas artificialmente ou naturalmente mantidas em casa de vegetação através da mensuração da dinâmica da epidemia e de seus componentes. Os resultados indicaram que tanto aplicações foliares como radiculares de silicato de potássio reduziram a área abaixo da curva de progresso da doença em 65% e 73%, respectivamente, comparadas ao tratamento controle sem aplicação. Tal redução foi resultado da alteração dos seguintes componentes epidemiológicos: eficiência de infecção, taxa de expansão da colônia, área da colônia, produção de conídios por área colonizada e taxa de progresso da epidemia. Contudo, a aplicação radicular foi mais eficiente que a foliar em atrasar o início da epidemia e em reduzir todos os componentes epidemiológicos, exceto a eficiência de infecção. A maior eficiência do silicato de potássio quando aplicado via raiz decorreu da maior concentração foliar do Si, a qual induziu uma antecipação (efeito *priming*) e um aumento da intensidade de expressão de mecanismos de defesa, fenômenos que não foram detectados no tratamento foliar. A aplicação radicular resultou na alteração de enzimas envolvidas na produção e catabolismo de espécies reativas de oxigênio, onde foi verificado aumento na atividade das enzimas superóxido dismutases e redução na atividade das enzimas catalases, principalmente nas primeiras 96 horas após a inoculação. O efeito *priming* também foi observado para as enzimas peroxidases, β 1,3(4)-glucanases e quitinases e para o acúmulo de compostos fenólicos. Neste tratamento também ocorreu aumento na concentração de lignina em resposta à inoculação, contudo a concentração de malondialdeído foi reduzida, indicando que o Si aplicado nesta forma aliviou o estresse oxidativo sobre os lipídeos das membranas celulares da planta. Por outro lado, quando o silicato de potássio foi aplicado via foliar apenas a deposição de lignina aumentou comparado ao tratamento controle. Assim, depreende-se que os mecanismos de atuação do Si no controle da doença quando aplicado nesta forma, são distintos e envolvem, segundo a literatura, a formação de uma barreira físico-química sobre a cutícula resultado da polimerização do silicato de potássio. Tomados em conjunto, os resultados deste estudo evidenciaram que o Si tem papel ativo na modulação do sistema de defesa da planta, mas que sua efetividade depende de sua presença na forma solúvel no interior da planta, obtido por meio de sua absorção via raiz. Não obstante, os efeitos do silicato de potássio aqui relatados permitem concluir que a incorporação do produto a um sistema de manejo integrado, principalmente se fornecido via sistema radicular, terá efeitos positivos tanto na redução da epidemia de oídio como no meio ambiente, neste caso em função da redução no uso de fungicidas.

Palavras chave: Componentes epidemiológicos; *Cucumis melo*; Mecanismos de defesas; Indução de resistência; *Podosphaera xanthii*; Silicato de potássio

ABSTRACT

Epidemiology and biochemistry of powdery mildew control on melon by silicon

Silicon (Si) is not considered an essential nutrient of plants, but when it accumulates in the shoots it reduces powdery mildew severity on several species. However, despite this beneficial effect being widely reported in the literature, the mechanisms involved are still little understood. In this study, the effects of both foliar and root applications of potassium silicate, an important soluble source of Si, on the severity of powdery mildew and on the induction of post-infection defense mechanisms of melon were evaluated. Treatment effects were assessed by measuring the epidemics dynamic and its components in both artificially and naturally inoculated plants kept in the greenhouse. Results showed that the area under the disease progress curve was reduced by 65% and 73%, respectively by foliar and root application of potassium silicate, compared to control plants that were not supplied with potassium silicate. This effect accrued from the reduction of the infection efficiency, colony expansion rate, colony area, conidia production per colonized area and the epidemic progress rate. However, root application was more effective than foliar application on both delaying the onset of the epidemic and reducing most epidemic components, except for the infection efficiency. The greater efficiency of potassium silicate in controlling the disease when supplied via roots by irrigation correlated with higher foliar concentrations of Si which induced both a priming effect and increased expression of key defense responses. These phenomena, however, were not observed when potassium silicate was sprayed on leaves. Root supply of Si altered the activity of enzymes involved in the production and catabolism of reactive oxygen species, resulting in the increased activity of superoxide dismutase and reduced activity of catalases mainly in the first 96 hours after inoculation. Root application also primed the activity of peroxidases, β 1,3(4)-glucanases, chitinases and the accumulation of phenolic compounds. Lignin concentration also increased in response to inoculation while the concentration of malondialdehyde reduced indicating that Si decreased the oxidation of lipids of the plant cell membranes. In contrast, when Si was sprayed on the leaves, only an increase in lignin deposition was observed compared to the control treatment. Thus, it appears that the mechanisms of powdery mildew control in this case are distinct and, according to literature data, could include the formation of a physical-chemical barrier on the cuticle as the result of potassium silicate polymerization. Taken together, the results showed that Si plays an active role in modulating the host defense system, but only when present in the soluble form inside the plant which can be achieved by root uptake. Nevertheless, the effects of potassium silicate reported here allowed concluding that the inclusion of this compound in an integrated management system, mainly if supplied via roots, will render positive effects both on reducing the disease in melon plants and on the environment, in this case through reducing the use of fungicides.

Keywords: Epidemic components; *Cucumis melo*; Defense mechanisms; Induced resistance; *Podosphaera xanthii*; Potassium silicate

1 INTRODUÇÃO

A principal fruta *in natura* exportada pelo Brasil é o melão (*Cucumis melo* L.), da qual foram exportadas 212 mil toneladas em 2008 gerando uma receita financeira de 152 milhões de dólares (IBRAF 2010). A área cultivada com a cultura aumentou 47% em sete anos, atingindo mais de 21.5 mil hectares em 2007, nos quais foram produzidas cerca de 500 mil toneladas da fruta (FNP 2010). Este aumento na produção colocou o Brasil entre os principais produtores, saltando da vigésima posição em 2000 para a décima segunda em 2008 (FAO 2010). O aumento na área cultivada ocorreu principalmente na região Nordeste, que hoje responde por cerca de 95% da produção nacional (FNP 2010), devido principalmente às condições climáticas da região que permitem o cultivo do meloeiro em praticamente o ano todo. As variedades mais utilizadas comercialmente são a *C. melo* var. *inodorus* e a *C. melo* var. *cantalupensis*. A variedade *inodorus* produz frutos de casca de coloração mais uniforme, aroma ausente ou muito suave e não climatéricos, o que lhe confere maior durabilidade pós-colheita, enquanto que os frutos da *cantalupensis* têm a casca rendilhada ou com manchas longitudinais mais escuras, forte aroma, sabor adocicado e são climatéricos (SILBERSTEIN et al., 1999; STAUB et al., 1997), o que faz com que seu cultivo deve ser realizado preferencialmente próximo ao mercado consumidor. Contudo, esta variedade tem a vantagem de boa aceitação comercial e a alta rentabilidade por área, sendo por isto recomendada para cultivos em ambientes protegidos onde as condições ambientais são mais passíveis de controle (RIZZO; BRAZ 2001).

O oídio, causado por *Podosphaera* (sect. *Sphaerotheca*) *xanthii* (Castag.) U. Braun e N. Shish., é a principal doença foliar fúngica da cultura, constituindo séria ameaça e um fator limitante para a produção e a qualidade da fruta (PÉREZ-GARCIA et al., 2009; SANTOS et al., 2005). Esta é a doença mais comum em cucurbitáceas e ocorre em todas as regiões produtoras, tanto em cultivos de campo quanto em cultivos protegidos (NUÑES-PALENIUS; HOPKINS; CANTLIFFE 2009; PÉREZ-GARCIA et al., 2009). O fungo é facilmente reconhecido pela abundante produção de micélio, conidióforos e conídios na superfície das folhas, pecíolos e ramas (SITTERLY 1978; ZITTER; HOPKINS; THOMAS 1996). O dano na qualidade das frutas ocorre tanto nas características sensoriais, devido à redução na quantidade de sólidos solúveis totais e na alteração do sabor, quanto no aspecto visual, devido a queimaduras na casca causadas pela incidência direta da radiação solar (SANTOS et al., 2005; SITTERLY 1978; ZITTER; HOPKINS; THOMAS 1996).

Embora cultivares portando genes R raça-específicos sejam efetivas para controlar a doença (KUZUYA et al., 2006), o rápido surgimento de novas raças de *P. xanthii* dificulta o controle pelo uso da resistência genética (COHEN; BURGER; KATZIR 2004; ZITTER; HOPKINS; THOMAS 1996). Este processo de mudança de raças é rápido e dinâmico, podendo ocorrer entre ciclos de cultivo, entre locais geográficos ou mesmo dentro de um mesmo ciclo de cultivo num mesmo local (COHEN; BURGER; KATZIR 2004; HOSOYA et al., 1999, 2000). Assim a aplicação de fungicidas continua sendo a principal medida usada para controlar o patógeno (McGRATH 2001). Porém, há diversos relatos na literatura de seleção de populações de *P. xanthii* resistentes ou insensíveis a diferentes grupos de fungicidas (FERNANDEZ-ORTUNÑO et al., 2006; McGRATH 2001). Além disto, os impactos negativos no ambiente e na saúde humana justificam uma redução no uso destas moléculas, o que pode ser obtido com a adição de medidas de controle complementares de menor impacto ambiental no manejo integrado da doença.

O uso de agentes potencializadores e/ou indutores das defesas da planta é uma alternativa que atende aos requisitos de eficiência de controle e menor impacto ambiental. Apesar de não evitar a doença, a maioria dos agentes reduz sua intensidade entre 20 e 85%, além de possuir amplo espectro e longa duração (WALTERS; FOUNTAINE 2009). Dentre os inúmeros agentes utilizados para o controle de doenças em plantas, o silício (Si) se destaca pelos seus benefícios, não somente no controle de pragas e doenças, mas também pelo aumento da produtividade e qualidade das culturas (MITANI; MA; IWASHITA 2005). No caso de controle de doenças, Datnoff, Rodrigues e Seebold (2007) reportam inúmeros relatos de redução na intensidade de doenças em mono e dicotiledôneas causadas por patógenos necrotróficos, hemibiotróficos e biotróficos, incluindo principalmente oídios. No caso destes, o controle por Si foi relatado para várias espécies pertencentes à família Cucurbitaceae, excluindo-se, no entanto, o melão até o presente momento.

Este estudo avaliou o efeito das aplicações foliar e radicular de silicato de potássio, uma importante fonte de Si solúvel, na severidade de oídio e na indução de mecanismos de defesa pós-infecção do meloeiro. Os efeitos na doença foram avaliados em plantas inoculadas, natural ou artificialmente, através da mensuração da dinâmica da epidemia e de seus componentes. Para aumentar a compreensão dos mecanismos bioquímicos de defesa alterados pelo Si foram investigadas, em diferentes momentos após a inoculação, atividades enzimáticas e concentrações

de produtos chave que caracterizam a resposta de defesa de plantas contra patógenos, tais como a concentração de compostos fenólicos e lignina, a peroxidação de lipídeos da membrana celular do hospedeiro e a atividade das enzimas superóxido dismutases, catalases, quitinases, β 1,3(4)-glucanases, peroxidases e polifenoloxidasas.

Referências

COHEN, R.; BURGER, Y.; KATZIR, N. Monitoring physiological races of *Podosphaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fuliginea*), the causal agent of powdery mildew in cucurbits: factors affecting race identification and the importance for research and commerce. **Phytoparasitica**, Rehovot, v. 32, n. 2, p. 174-183, Mar, 2004.

DATNOFF, L.E.; RODRIGUES, F.A.; SEEBOLD, K.W. Silicon and Plant Disease. In: DATNOFF, L.E.; ELMER, W.H.; HUBER, D.M. (Ed.). **Mineral nutrition and plant disease**. St Paul, MN: The American Phytopathological Society, 2007. chap. 17, p. 233-246.

FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D.; PÉREZ-GARCÍA, A.; LÓPEZ-RUIZ, F.; ROMERO, D.; DE VICENTE, A.; TORÉS, J.A. Occurrence and distribution of resistance to Q_oI fungicides in populations of *Podosphaera fusca* in south central Spain. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 115, n. 2, p. 215-222, Jun, 2006.

FAO. **FAOSTAT: countries by commodity**. Disponível em <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 21 set. 2010.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. Melão. In:_____. **Agrianual 2010**: Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo, 2010. p. 397-400.

HOSOYA, K.; KUZUYA, M.; MURAKAMI, T.; KATO, K.; NARISAWA, K.; EZURA, H. Impact of resistant melon cultivars on *Sphaerotheca fuliginea*. **Plant Breeding**, Berlin, v. 119, n. 3, p. 286-288, Jun, 2000.

HOSOYA, K.; NARISAWA, K.; PITRAT, M.; EZURA, H. Race identification in powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) on melon (*Cucumis melo*) in Japan. **Plant Breeding**, Berlin, v. 118, n. 3, p. 259-262, Jul, 1999.

IBRAF. **Comparativo das exportações brasileiras de frutas frescas 2008-2007**. Disponível em <http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est_frutas.asp>. Acesso em: 7 set. 2010.

KUZUYA, M.; YASHIRO, K.; TOMITA, K.; EZURA, H. Powdery mildew *Podosphaera xanthii* resistance in melon is categorized into two types based on inhibition of the infection processes. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 9, p. 2093-2100, Jun, 2006.

McGRATH, M.T. Fungicide Resistance in cucurbit powdery mildew: experiences and challenges. **Plant Disease**, St Paul, v. 85, n. 3, p. 236-245, Mar, 2001.

MITANI, N.; MA, J.F.; IWASHITA, T. Identification of the silicon form in xylem sap of rice (*Oryza sativa* L.). **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 46, n. 2, p. 279-283, Feb, 2005.

NUÑES-PALENIUS, H.G.; HOPKINS, D.; CANTLIFFE, D.J. **Powdery mildew of cucurbits in Florida**. Florida, 2009. 9 p. (Series of the Horticultural Sciences, HS1067).

PÉREZ-GARCIA, A.; ROMERO, D.; FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D.; LÓPEZ-RUIZ, F.; DE VICENTE, A.; TORÉS, J.A. The powdery mildew fungus *Podosphaera fusca* (synonym *Podosphaera xanthii*): a constant threat to cucurbits. **Molecular Plant Pathology**, Malden, v.10, n. 2, p.153-160, Mar, 2009.

RIZZO, A.A.N.; BRAZ, L.T. Características de cultivares de melão rendilhado cultivadas em casa de vegetação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 3, p. 237-240, Nov, 2001.

SANTOS, A.A.; VIANA, M.P.; CARDOSO, J.E.; VIDAL, J.C. Efeito do oídio na produção e no teor de sólidos solúveis totais de frutos do meloeiro. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 3, p. 354-357, Set-Dez, 2005.

SILBERSTEIN, L.; KOVALSKI, I.; HUANG, R.; ANAGNOSTOU, K.; JAHN, M.M.K.; PERLTREVES, R. Molecular variation in melon (*Cucumis melo* L.) as revealed by RFLP and RAPD markers. **Scientia Horticulturae**, Amesterdan, v. 79, n. 1/2, p. 101-111, Feb, 1999.

SITTERLY, W.P. 1978 Powdery mildew of cucurbits. In: SPENCER, D.M. (Ed). **The Powdery Mildews**. London: Academic Press, 1978. chap. 14, p. 359-379.

STAUB, J.E.; BOX, J.; MEGLIC, V.; HOREJSI, T.F.; McCRIGHT, J.D. Comparison of isozyme and random amplified polymorphic DNA data for determining intraspecific variation in *Cucumis*. **Genetics Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 44, n. 3, p. 257-269, Jun, 1997.

WALTERS, D.R.; FOUNTAINE, J.M. Practical application of induced resistance to plant diseases: an appraisal of effectiveness under field conditions. **The Journal of Agricultural Science**, New York, v. 147, n. 5, p. 523-535, Oct, 2009.

ZITTER, T.A.; HOPKINS, D.L.; THOMAS, C.E. **Compendium of cucurbit diseases**. St Paul: The American Phytopathological Society, 1996. 87p.

2 SILÍCIO REDUZ A EPIDEMIA DE OÍDIO EM MELOEIRO POR AFETAR COMPONENTES EPIDEMIOLÓGICOS

Resumo

O acúmulo foliar de silício (Si) resulta na redução da severidade de oídios em diversas espécies vegetais, tanto mono quanto dicotiledôneas. Este estudo avaliou o efeito da aplicação foliar e radicular de silicato de potássio em componentes epidemiológicos de oídio em meloeiro. Os resultados indicaram que, comparadas ao tratamento controle sem aplicação, tanto aplicações foliares como radiculares de silicato de potássio reduziram a área abaixo da curva de progresso da doença em 65% e 73%, respectivamente. Esta redução foi resultado da alteração da eficiência de infecção, taxa de expansão da colônia, área da colônia, produção de conídios por área colonizada e da taxa de progresso da doença. Contudo, os efeitos da aplicação radicular foram mais pronunciados que os da aplicação foliar no atraso do início da epidemia e na redução dos componentes epidemiológicos, exceto a eficiência de infecção. A maior eficiência da aplicação radicular foi associada com a maior concentração foliar de Si, resultado tanto da provável formação de uma barreira física em função da polimerização do Si abaixo da cutícula quanto do estímulo de mecanismos de defesas pós-infecção. Por outro lado, quando aplicado por meio de pulverizações foliares, o silicato de potássio foi depositado apenas na superfície externa da folha onde o produto provavelmente formou uma barreira físico-química que afetou negativamente o patógeno. Assim, os efeitos do silicato de potássio aqui relatados permitem concluir que a incorporação do produto a um sistema de manejo integrado, principalmente se fornecido via sistema radicular, terá efeitos positivos tanto na redução da epidemia de oídio, mantendo a doença em baixa intensidade, quanto no meio ambiente, através da redução do uso de fungicidas.

Palavras-chave: Componentes de resistência; *Cucumis melo*; Doença foliar; Epidemiologia; *Podosphaera xanthii*; Silicato de Potássio

Abstract

Foliar accumulation of silicon (Si) reduces the severity of powdery mildew on several mono and dicotyledonous plants. In this study the effects of foliar and root applications of potassium silicate were evaluated on epidemic components of powdery mildew in melon. The results showed that the area under the disease progress curve was reduced by 65% and 73%, respectively by foliar and root application, compared with control plants. This reduction accrued from the reduction of the infection efficiency, colony expansion rate, colony area, conidia production per colonized area and disease progress rate. However, root application of potassium silicate was more effective in delaying the onset of the epidemics and in reducing most of the epidemic components, except for the infection efficiency. The greater efficiency of root application correlated with higher foliar concentration of Si which could have acted both as a physical barrier due silicon polymerization below the cuticle, and as an activator of defense mechanisms. On the other hand, when sprayed on leaves, potassium silicate was deposited only on the external leaf surface where it could have formed a physical and chemical barrier that negatively affected the infection process. Thus, the effects of potassium silicate reported in this study indicated that the inclusion of this compound in an integrated management program of powdery mildew in melon mainly when supplied to roots, will render positive effects on both

reducing the epidemic intensity and the environmental impact through the reduction in the use of fungicides.

Keywords: Resistance components; *Cucumis melo*; Foliar disease; Epidemiology; *Podosphaera xanthii*; Potassium silicate

2.1 Introdução

O melão (*Cucumis melo* L) é a principal fruta fresca exportada pelo Brasil em volume. A área cultivada aumentou 47% em sete anos, atingindo mais de 21.5 mil ha em 2007 nos quais foram produzidas cerca de 500 mil toneladas da fruta (FNP 2010). O aumento na área cultivada ocorreu principalmente na região Nordeste devido às condições climáticas favoráveis que permitem que o meloeiro seja cultivado praticamente o ano todo. Contudo, uma séria ameaça e um fator limitante para a cultura é o oídio causado por *Podosphaera* (sect. *Sphaerotheca*) *xanthii* (Castag.) U. Braun e N. Shish., a doença mais comum e frequente em cucurbitáceas (PÉREZ-GARCIA et al., 2009). O fungo é facilmente reconhecido pela abundante produção de micélio, conidióforos e conídios nas superfícies das folhas, pecíolos e ramas (SITTERLY 1978; ZITTER; HOPKINS; THOMAS 1996).

O oídio reduz a fotossíntese, causa amarelecimento e a morte prematura das folhas, podendo, em condições de infecções severas, causar a morte da planta. Embora não infecte os frutos, a infecção das folhas os afeta negativamente. A redução da cobertura foliar e a alteração da composição dos carboidratos em folhas infectadas, por exemplo, reduzem o tamanho e o número dos frutos, além de afetar o sabor dos mesmos devido a sua maturação prematura ou incompleta, comprometendo a quantidade de sólidos solúveis totais, a espessura da polpa e a concentração de açúcares solúveis totais, redutores e não redutores (ABÖÖD; LÖSEL 2003; QUEIROGA et al., 2008; SANTOS et al., 2005; SITTERLY 1978; ZITTER; HOPKINS; THOMAS 1996).

O fungo *P. xanthii* pode ser controlado por meio de variedades resistentes portadoras de genes raça-específicos (KUZUYA et al., 2006). Porém, este tipo de resistência não é durável devido às rápidas alterações genéticas na população do patógeno (COHEN; BURGER; KATZAIR 2004; HOSOYA et al., 2000). Assim, o controle químico torna-se necessário ao controle da doença. Entretanto, há diversos relatos na literatura de seleção de populações de *P. xanthii* resistentes ou insensíveis aos diferentes grupos de fungicidas (FERNANDEZ-ORTUÑO

et al., 2006; McGRATH 2001). Assim, medidas complementares de controle e que possuam menor impacto ambiental representam um importante tópico de pesquisa para o controle desta enfermidade em meloeiro.

O silício (Si) é um elemento mineral de interesse do ponto de vista do controle de doenças de plantas, uma vez que seu acúmulo nos tecidos vegetais está relacionado a uma redução na intensidade de diversas doenças causadas por patógenos necrotróficos, hemibiotróficos e biotróficos tanto em hospedeiras mono quanto em dicotiledôneas (DATNOFF; RODRIGUES; SEEBOLD 2007). Em arroz, uma planta modelo para estudos com este elemento mineral, o Si reduziu a severidade da brusone, da mancha parda e da queima das bainhas por meio da alteração de vários componentes epidemiológicos (DALLAGNOL et al., 2009; RODRIGUES et al., 2003; SEEBOLD et al., 2001). No caso de patógenos biotróficos, exemplos de controle da doença pelo Si foram relatados para oídios em aveia, trigo, cevada, centeio, arabidopsis, pepino, abobrinha e morango (BÉLANGER; BENHAMOU; MENZIES 2003; CARVER et al., 1998; DATNOFF; RODRIGUES; SEEBOLD 2007; FAWE et al., 1998; GHANMI et al., 2004; MENZIES et al., 1991ab). No patossistema pepino - *P. xanthii*, por exemplo, a redução na severidade do oídio foi atribuída à redução no número de colônias por folha, no tamanho da colônia, na área foliar colonizada pelo patógeno, na germinação de conídios e também no número de haustórios por colônia (MENZIES et al., 1991ab).

Os resultados obtidos por Menzies et al. (1991ab) permitem pressupor que o Si também pode ser utilizado para controle de oídio em meloeiro. Desta forma, este estudo investigou o efeito da aplicação de silicato de potássio via foliar e via radicular em vários componentes epidemiológicos do oídio em meloeiro e do progresso da doença sob condições de casa de vegetação.

2.2 Material e métodos

2.2.1 Material vegetal e seu cultivo:

Os experimentos foram realizados com o híbrido comercial ‘Jangada’ (*C. melo* var. *inodorus*). As sementes foram semeadas em vasos plásticos contendo 2 kg de substrato Plantmax[®] (Eucatex, São Paulo, BR). As características físico-químicas desse substrato eram: 335.5 g kg⁻¹ de argila; pH CaCl₂ (0.01 M) = 5.3; P (Resina) = 315 mg dm⁻³; S = 494 mg dm⁻³; K

(Resina) = $16.8 \text{ mmolc dm}^{-3}$; Al^{3+} , Ca^{2+} , Mg^{2+} e H+Al = 0.0, 150.0, 125.0 e $52.0 \text{ mmolc dm}^{-3}$, respectivamente; saturação de base = 85.0 %; matéria orgânica = 265 g dm^{-3} ; B, Cu, Fe, Mn e Zn = 1.23, 0.9, 160.0, 7.4 e 2.0 mg dm^{-3} , respectivamente, e densidade de 0.37 kg dm^{-3} . A concentração de Si disponível (extração em CaCl_2 0.01 M) foi de 25.25 mg dm^{-3} . As plantas foram mantidas em casa de vegetação durante os experimentos. A partir da emissão das folhas cotiledonares, as plantas foram fertilizadas semanalmente com 50 mL de uma solução nutritiva composta por: 40.0 mM KNO_3 , 10.0 mM $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, 10.0 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 15.0 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 2.4 mM $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3.0 mM H_3BO_3 , 10.0 mM K_2SO_4 , 3.3 mM $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ e 7.5 mM de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{SO}_4$. A densidade do fluxo de fótons em dias ensolarados (às 12 h) dentro da casa de vegetação foi de $800 \mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, a qual foi quantificada utilizando-se um quantômetro (Li 250 Light meter, Li-Cor). As temperaturas médias diárias variaram entre 20 e 28°C .

2.2.2 Experimento A - Efeito da aplicação foliar ou radicular de silicato de potássio em componentes epidemiológicos

O efeito do Si em vários componentes epidemiológicos foi avaliado em dois experimentos conduzidos em casa de vegetação. A fonte de Si utilizada foi o produto comercial Sili-K[®] (Unaprosil, Rio de Janeiro, BR), formulado à base de silicato de potássio (SP) e composto por 15.0% K_2O (210 g L^{-1}) e 12.2% de Si solúvel (171 g L^{-1}). O SP foi aplicado por pulverização foliar (tratamento SP foliar) ou misturado à água de irrigação (tratamento Si raiz).

Para a aplicação foliar, o SP foi pulverizado na concentração de 30.0 mL L^{-1} (pH 10.2) por meio de um pulverizador manual de modo a garantir uma fina névoa da solução sobre a superfície adaxial das folhas, porém sem provocar escorrimento. Para a aplicação via água de irrigação (Si Raiz), o SP foi diluído em água deionizada para uma concentração final de Si de 2 mM (0.34 mL L^{-1} de SP) e o pH da solução foi ajustado para o intervalo 5.5 e 6.5, utilizando HCl (1 M). Cada parcela experimental do tratamento Si raiz foi irrigada diariamente com 250 mL desta solução.

A fim de igualar a quantidade de potássio fornecido no tratamento Si raiz, as parcelas dos tratamentos SP foliar e controle também foram irrigadas diariamente com 250 mL de uma solução de cloreto de potássio (KCl). Neste caso, o KCl (Sigma-Aldrich, St Louis, MO) foi misturado à água de irrigação a uma concentração final de 1.53 mM. O KCl foi dissolvido em

água deionizada e o pH ajustado entre 5.5 e 6.5 com NaOH (1 M) ou HCl (1 M), conforme necessário. No tratamento controle também foi realizada a pulverização foliar com água.

Os três tratamentos foram arranjados em delineamento completamente casualizado com oito repetições. A unidade experimental consistiu de um vaso no qual foram cultivadas duas plantas. O experimento foi repetido duas vezes.

Um isolado de *P. xanthii* coletado em um campo de cultivo comercial foi multiplicado sucessivamente em plantas de 'Jangada' contendo aproximadamente 7-8 folhas (30 dias após a semeadura). O inóculo foi preparado segundo a metodologia descrita por Cohen (1993) com algumas modificações. Dez dias após a inoculação das folhas, estas foram agitadas para a remoção de conídios maduros. Vinte e quatro horas após, os novos conídios foram coletados em água contendo 0.002% Tween. A suspensão de conídios foi homogeneizada e a concentração ajustada para 2×10^4 conídios mL⁻¹. Esta suspensão foi pulverizada na superfície adaxial das folhas com auxílio de um *airbrush*.

As seguintes variáveis foram avaliadas na terceira, quarta e quinta folhas de cada planta: período latente (PL), eficiência de infecção (EI), taxa de expansão da colônia (r_c), área da colônia (AC), produção de esporos por área colonizada e severidade. O PL (horas) foi obtido pelo exame das folhas a cada 12 h após inoculação e foi definido como o intervalo de tempo entre a inoculação e a presença de colônias contendo conídios. A EI foi expressa como a razão entre o número de colônias formadas por cm² de área foliar e o número de conídios depositados nesta área. Para tanto, uma lamínula (2 × 2 cm) foi colocada, aleatoriamente, sobre a face adaxial de três folhas por parcela experimental antes da inoculação. Após a inoculação, o número de conídios depositados foi contado em cada lamínula sob microscópio de luz. Aos sete dias após a inoculação, o número de colônias por área foliar (cm²) foi contado em três locais escolhidos ao acaso nestas mesmas folhas. A taxa de expansão das colônias foi determinada pela mensuração diária do diâmetro (mm) de cinco colônias escolhidas ao acaso em duas folhas de cada planta usando uma régua transparente. Os valores de r_c foram obtidos por regressão linear entre os valores de diâmetro da colônia em função das épocas de avaliação. A área da colônia foi determinada em cinco colônias escolhidas ao acaso em cada folha no décimo dia após a inoculação, quando as colônias no tratamento controle começaram a coalescer, por meio da medição do diâmetro conforme descrito acima. A produção de conídios por área colonizada foi estimada em três amostras de 2 cm² de tecido foliar retiradas de três folhas de quatro parcelas

experimentais de cada tratamento aos sete dias após o final do período latente (13 dias após inoculação). Vinte e quatro horas antes da coleta, as folhas foram gentilmente agitadas para remoção dos conídios velhos. As imagens das amostras foliares foram capturadas com câmera digital, a qual foi acoplada sobre um tripé em uma superfície plana e sob esta foram fixadas as amostras foliares. A imagem destas foi processada para quantificar a área foliar colonizada utilizando o software QUANT (VALE; FERNANDES FILHO; LIBERATO 2003). Os conídios foram coletados pela lavagem e agitação das amostras em 5 mL de água com 0.002% de Tween e foram contados utilizando-se hemacitômetro. O número de conídios por área colonizada foi obtido pela razão entre o número de conídios totais e a área colonizada (mm²) de cada amostra. A severidade foi estimada visualmente em folhas individuais e expressa como a percentagem da área foliar infectada (McGRATH 1996), a cada 48 horas após o término do PL, durante 14 dias. Os dados da severidade foram usados para calcular a área abaixo da curva do progresso do oídio (AUDPC) para cada folha através da fórmula proposta por Shaner e Finney (1977).

2.2.3 Experimento B - Efeito da aplicação foliar ou radicular de silicato de potássio no progresso da doença:

Um segundo estudo foi realizado também em casa de vegetação para avaliar o efeito da aplicação de SP no progresso da doença. Os tratamentos foram iguais aos descritos anteriormente, exceto que as aplicações foliares de SP foram feitas semanalmente a partir da emissão da primeira folha e a inoculação ocorreu de forma natural. A severidade foi avaliada a intervalos de 4-5 dias em cada folha a partir da observação dos primeiros sintomas conforme descrito anteriormente. A severidade foi analisada separadamente no terço inferior, médio e superior de cada planta em função das diferenças nos estádios fenológicos das folhas conforme proposto por Viljanen-Rollinson et al. (1998). Curvas de progresso da severidade para as três partes da planta foram obtidas plotando-se a severidade em função do tempo. Na escolha do modelo, foi considerado o maior coeficiente de determinação da equação e a melhor distribuição dos resíduos. As curvas foram ajustadas ao modelo logístico e destas foram estimadas as variáveis: quantidade de doença no tempo 0 (β) e a taxa logística do progresso da doença (r). A expressão geral do modelo é representada pela fórmula: $Y = 1/\{1+\exp(-(\beta+r*t))\}$, onde Y é a severidade expressa em proporção, β corresponde à quantidade de doença no tempo 0, r é a taxa logística de progresso da doença e t é o tempo em dias (CAMPBELL; MADDEN 1990).

Os três tratamentos foram arranjados em delineamento completamente casualizado com cinco repetições. A unidade experimental consistiu de um vaso no qual foi cultivada uma planta de meloeiro. O experimento foi repetido duas vezes.

2.2.4 Análise foliar da concentração de Si e K:

Para assegurar que as variações nas variáveis avaliadas foram devidas a diferenças em concentrações foliares de Si, após cada experimento amostras de folhas foram coletadas, lavadas com água deionizada, secadas por 72 h a 65°C e moídas a um fino pó utilizando um pistilo e almofariz. A concentração de Si nos tecidos foliares foi determinada por análise colorimétrica em 0.1 g de tecido seco, após digestão básica (KORNDÖRFER; PEREIRA; NOLA 2004). A concentração foliar de K foi determinada em fotômetro de chama a partir de 0.2 g de tecido seco submetido à digestão ácida nitroperclórica (ZASOSKY; BURAU 1977).

2.2.5 Microanálise de raio-X:

Esta análise foi utilizada para confirmar a absorção bem como a localização dos elementos Si e K nas folhas das plantas provenientes do experimento A. Quatro discos foliares (1 cm²) foram coletados aleatoriamente de cada planta ao final do experimento. Dois discos foram lavados superficialmente com água deionizada e desidratados durante 120 h em sílica gel e os outros dois foram desidratados da mesma forma, porém sem a lavagem superficial. Os discos foram montados em *stubs* de alumínio com a face adaxial da folha voltada para cima e, em seguida, cobertos com carbono (MED 010, Balzer Union). As amostras foram analisadas em microscópio eletrônico de varredura (Zeiss DSM-940) com detector de raios-X de energia dispersiva (EDS, Oxford Instrument Link ISIS) operado a 15 kV com distância de trabalho de 10 mm. Na análise do espectro de energia emitida pela amostra após excitação pelos elétrons, os elementos foram identificados considerando os picos do *α line energies* característicos, os quais são de 1.739 keV para Si e de 3.312 keV para o K.

2.2.6 Análise estatística:

Testes de Cochran e Bartlett (GOMEZ; GOMEZ 1994) indicaram homogeneidade de variância para todas as variáveis dos experimentos A, o que permitiu a análise conjunta dos mesmos. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos comparados pelo teste de Tukey ($P \leq 0.05$) utilizando-se o SAS (SAS Institute, Inc., 1989, Cary, NC). No experimento B, testes de Cochran e Bartlett indicaram heterogeneidade de variância entre os experimentos, assim os mesmos foram analisados separadamente. A comparação entre os parâmetros β e r foi dois a dois pelo teste de Student (*teste t*) utilizando-se a fórmula $[t_{cal} (5\%) = ((P_1 - P_2) / \sqrt{\sigma_{p1}^2 + \sigma_{p2}^2})]$ onde: P é o valor da variável e σ é o desvio padrão (CAMPBELL; MADDEN 1990).

2.3 Resultados

2.3.1 Concentração foliar de Si e K:

A aplicação de SP via raiz resultou num aumento ($P \leq 0.05$) na concentração foliar de Si de 210 e 170%, respectivamente, comparado ao tratamento controle e à aplicação foliar (Fig. 1A). Por outro lado, não houve diferença ($P \leq 0.05$) entre o tratamento controle e a aplicação foliar de SP, evidenciando que o aumento na concentração foliar de Si somente ocorreu quando absorvido pelo sistema radicular.

Figura 1 - Concentrações foliares de silício (Si) (A) e potássio (K) (B) em plantas de meloeiro do híbrido comercial 'Jangada' que receberam aplicação de silicato de potássio via sistema radicular (Si Raiz), via pulverização foliar (SP Foliar) e em plantas sem aplicação (Controle). Barras representam o desvio padrão da média. Os valores representam a combinação de dois experimentos ($n = 16$). Médias seguidas pela mesma letra, em cada gráfico, não diferem estatisticamente ($P \leq 0.05$) pelo teste de Tukey

Em relação à concentração de K, não houve diferença ($P \leq 0.05$) entre os tratamentos (Fig. 1B), o que indica que este elemento não constituiu fator de variação experimental e que os benefícios advindos da aplicação radicular foram conferidos exclusivamente pelo Si.

2.3.2 Microanálise de raio-X da deposição de Si e K:

A microanálise de raios-X de folhas não lavadas e lavadas foi realizada com o objetivo de determinar se a deposição de Si ocorreu nos tecidos da folha ou em sua superfície externa em função dos tratamentos. Nas folhas não lavadas, como esperado, a concentração de Si foi maior nos tratamentos que receberam aplicação de SP tanto via raiz (Fig. 2A) quanto foliar (Fig. 2C) comparados com o tratamento controle (Fig. 2E). Por outro lado, nas folhas lavadas superficialmente a concentração de Si para a aplicação foliar (Fig. 2D) foi reduzida em comparação às folhas não lavadas do mesmo tratamento e foi similar à observada no tratamento controle (Fig. 2F), indicando que o Si, quando aplicado via foliar, acumula-se apenas na parte externa da folha. Porém, no caso da absorção via raiz (Fig. 2B), a concentração de Si em folhas lavadas superficialmente, embora menor do que em folhas não lavadas, foi maior do que no tratamento controle (Fig. 2F), indicando que o Si, quando aplicado via raízes acumula-se preferencialmente no interior das folhas.

Em relação ao K, as análises em folhas não lavadas superficialmente indicaram menor concentração no tratamento que recebeu SP via raiz (Fig. 2A), em comparação com a aplicação foliar (Fig. 2C) e o tratamento controle (Fig. 2E). No caso de folhas lavadas superficialmente, a concentração de K foi menor nos tratamentos que receberam aplicação de SP via raiz (Fig. 2B) e foliar (Fig. 2D) comparados com o tratamento controle (Fig. 2F). A redução na concentração de K com a lavagem das folhas na aplicação foliar de SP (Fig. 2D) e no tratamento controle (Fig. 2F), em comparação com folhas sem lavagem superficial (Fig. 2C e E, respectivamente), indica que parte deste elemento estava acumulado na superfície externa das folhas.

Figura 2 - Microanálises de raios-X para a detecção de silício (Si) e potássio (K) na face adaxial das folhas de plantas de meloeiro do híbrido comercial 'Jangada' que receberam aplicação de silicato de potássio via sistema radicular (Si Raiz) (A e B), via pulverização foliar (SP Foliar) (C e D) e em plantas sem aplicação (Controle) (E e F), analisadas diretamente da casa de vegetação (Sem Lavagem) (A, C e E) ou submetidas a lavagem superficial com água deionizada (Com lavagem) (B, D e F)

2.3.3 Experimento A - Efeito da aplicação foliar ou radicular de silicato de potássio nos componentes epidemiológicos:

A aplicação de SP tanto via foliar como radicular reduziu ($P \leq 0.05$) todos os componentes epidemiológicos comparados ao tratamento controle, exceto o período latente (Fig.

3A). Comparações entre formas de aplicação de SP indicaram que não houve diferença ($P \leq 0.05$) para a variável EI (redução de 57 e 52%, comparadas ao tratamento controle, respectivamente) (Fig. 3B), porém a aplicação via raiz resultou em valores menores ($P \leq 0.05$) para r_c (redução de 34 e 52%) (Fig. 3C), área da colônia (redução de 42 e 64%) (Fig. 3D), produção de conídios por cm^2 de área colonizada (redução de 43 e 74%) (Fig. 3E) e AUDPC (redução de 65 e 73%) (Fig. 3F).

Figura 3 - Período latente (PL) (A), eficiência de infecção (EI) (B), taxa de expansão da colônia (r_c) (C), área da colônia (AC) (D), número de conídios produzidos por área foliar colonizada por *Podosphaera xanthii* (conídios cm^{-2}) (E) e área abaixo da curva do progresso do oídio (AUDPC) (F) em folhas de plantas de meloeiro do híbrido comercial 'Jangada' que receberam aplicação de silicato de potássio via sistema radicular (Si Raiz), via pulverização foliar (SP Foliar) e em plantas sem aplicação (Controle), inoculadas com *Podosphaera xanthii*. Barras representam o desvio padrão da média. Os valores representam a combinação de dois experimentos ($n = 16$). Médias seguidas pela mesma letra, em cada gráfico, não diferem estatisticamente ($P \leq 0.05$) pelo teste de Tukey

2.3.4 Experimento B - Efeito da aplicação foliar ou radicular de silicato de potássio no progresso da doença:

Os elevados valores dos coeficientes de determinação indicaram que as equações ajustadas para o modelo logístico representaram de maneira satisfatória o progresso da doença (Tabela 1). Os valores do intercepto, que representam o início da epidemia, foram menores ($P \leq 0.05$) no controle comparados com a aplicação de PS via raiz tanto na parte inferior quanto médio da planta (Tabela 1), indicando que o fornecimento de Si as plantas desta forma atrasou significativamente o início da epidemia. Por outro lado, para a aplicação foliar, este efeito não foi tão evidente, havendo diferenças tanto entre as duas repetições do experimento como entre as partes da planta (Tabela 1, Fig. 4).

Tabela 1 - Interceptos (β), taxas logística de progresso (r), e coeficientes de determinação ajustados (R^2) estimados pelo modelo logístico para a severidade de oídio em folhas de plantas de meloeiro do híbrido comercial 'Jangada' que receberam aplicação de silicato de potássio via sistema radicular (Si Raiz), via pulverização foliar (SP Foliar) e em plantas sem aplicação (Controle), nos terços inferior e médio das plantas

Trat.	Inferior			Médio		
	β	r	R^2	β	r	R^2
Experimento 1						
Si Raiz	-5.29 (0.16) a	0.089 (0.003) c	0.97	-10.15 (0.49) a	0.156 (0.008) c	0.97
SP Foliar	-7.72 (0.38) b	0.130 (0.007) b	0.94	-13.22 (0.81) b	0.209 (0.014) b	0.97
Controle	-9.20 (0.26) c	0.253 (0.007) a	0.99	-16.05 (0.82) b	0.336 (0.017) a	0.98
Experimento 2						
Si Raiz	-5.24 (0.19) a	0.106 (0.004) c	0.97	-9.58 (0.34) a	0.178 (0.008) b	0.98
SP Foliar	-9.07 (0.27) b	0.166 (0.005) b	0.96	-10.61 (0.45) a	0.183 (0.006) b	0.97
Controle	-9.82 (0.19) b	0.323 (0.005) a	0.99	-13.38 (0.35) b	0.334 (0.008) a	0.99

Médias dentro da coluna, em cada experimento, seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ($P \leq 0.05$) pelo teste *t*

A comparação entre as formas de aplicação de SP indicou que a aplicação via raiz retardou ($P \leq 0.05$) o início da epidemia, exceto no terço médio das plantas do segundo experimento, onde os valores foram semelhantes (Tabela 1). Os valores de r foram reduzidos ($P \leq 0.05$) com a aplicação de SP, tanto nas folhas como via raiz, comparado ao tratamento controle, independente da parte da planta analisada (Tabela 1, Fig.4). No entanto, as menores taxas ocorreram com a aplicação de SP via raiz, exceto no terço médio das plantas do segundo experimento (Tabela 1).

Figura 4 - Curvas de progresso da severidade de oídio em folhas de plantas de meloeiro do híbrido comercial 'Jangada', no terço inferior (A e B) e no terço médio (C e D), e severidade no terço superior aos 60 e 55 dias após emergência, respectivamente para o experimento 1 e 2 (E e F), que receberam aplicação de silicato de potássio via sistema radicular (Si Raiz), via pulverização foliar (SP Foliar) e em plantas sem aplicação (Controle). Os valores de severidade real (proporção) estão representados pelos símbolos Δ , $\times$ e $\diamond$ e as linhas representam os valores estimados pela equação ajustada pelo modelo logístico. Barras (E e F) representam o desvio padrão da média ($n = 5$). Médias seguidas pela mesma letra, nos gráficos E e F, não diferem estatisticamente ($P \leq 0.05$) pelo teste de Tukey

Os efeitos combinados do atraso no início da epidemia e da redução na taxa de progresso da doença decorrentes da aplicação de SP podem ser visualizados nas curvas de progresso da severidade ao longo do tempo (Fig. 4A-D). Estas figuras mostram claramente que ambas as formas de aplicação de SP reduziram o progresso da epidemia tanto na parte inferior (Fig. 4A e B) quanto na parte mediana (Fig. 4C e D) da planta, em comparação ao tratamento controle. Não foram plotadas curvas de progresso da doença para a parte superior da planta devido ao reduzido

número de avaliações da severidade em função da duração dos experimentos. Porém, na última avaliação, verificou-se que ambas as formas de aplicação de SP reduziram ($P \leq 0.05$) a severidade para os dois experimentos (Fig. 4E e F), porém a aplicação do SP via raiz foi mais eficiente ($P \leq 0.05$) em reduzir a severidade na parte superior da planta do que a pulverização foliar.

2.4 Discussão

O Si, apesar de não ser considerado um nutriente essencial para as plantas, pode reduzir os efeitos de estresses bióticos e abióticos (EPSTEIN 2009). Embora as bases fisiológicas deste fenômeno ainda sejam pouco compreendidas, sabe-se que é necessário seu acúmulo nos tecidos da planta (DALLAGNOL et al., 2009). Contudo, as espécies vegetais variam em relação à capacidade de acumular Si, cuja concentração pode variar de menos de 0.1 dag kg^{-1} até 10 dag kg^{-1} de matéria seca (EPSTEIN 1999; TAKAHASHI; MA; MIYAKE 1990). Desta forma, dependendo da concentração do elemento em seus tecidos, as plantas podem ser classificadas em acumuladoras de Si, intermediárias ou excludentes (TAKAHASHI; MA; MIYAKE 1990). O meloeiro é classificado como espécie intermediária (TAKAHASHI; MA; MIYAKE 1990; VOOGT; SONNEVELD 2001), o que foi confirmado neste estudo já que as plantas que receberam o SP via raiz acumularam Si na parte aérea em até 3 dag kg^{-1} matéria seca (Fig. 1A). Além disso, como já demonstrado para o arroz (REZENDE et al., 2009), as análises de raios-X evidenciaram que o acúmulo de Si em folhas ocorreu somente quando o elemento foi aplicado via sistema radicular, embora em uma concentração inferior à observada em arroz ($> 8 \text{ dag kg}^{-1}$ de matéria seca), uma espécie tipicamente acumuladora (MA; YAMAJI 2006). Já a aplicação foliar do SP resultou na deposição de Si externa à folha, o qual foi facilmente removido após a lavagem com água.

Não obstante as diferenças entre as formas de aplicação de SP no que tange a deposição de Si na folha, quando comparadas ao tratamento controle ambas afetaram todos os componentes epidemiológicos avaliados, exceto o PL. Por outro lado, quando comparados entre si, o tratamento via raiz foi mais eficiente que o foliar, exceto na redução da EI, onde não houve diferenças entre os dois tratamentos. Desta forma, a maior redução pela aplicação radicular comparada a foliar ocorreu nos componentes r_c , AC e produção de conídios, cujo somatório de

efeitos resultou na menor AUDPC observada neste tratamento. Considerando que o período de avaliação no experimento A foi de vinte dias após a inoculação e o PL foi de seis dias, o número máximo de gerações do patógeno que resultaram na manifestação de sintomas da doença foram duas. Como a EI foi semelhante entre as formas de aplicação do SP e o número de gerações do patógeno foi baixo, o efeito da redução na produção de conídios não deve ter sido tão expressivo para influenciar significativamente a AUDPC neste curto período de tempo. Assim a maior eficiência da aplicação radicular, em comparação à foliar, deve ser resultado principalmente da redução na r_c . Esta variável reflete a velocidade com a qual o patógeno cresce no tecido hospedeiro, afeta o tamanho final da colônia (PARVELIET 1979) e tem um efeito substancial no formato da curva de progresso da doença e, por conseguinte na AUDPC (BERGER; BERGAMIN FILHO; AMORIM 1997). A importância desta variável foi demonstrada em plantas de trigo, nas quais um modelo de simulação de epidemia de oídio mostrou que o progresso da severidade foi ditado basicamente pelo crescimento de colônias do fungo já presentes na folha e o surgimento de novas colônias (ROSSI; GIOSUÉ 2003). Por outro lado, a redução na produção de conídios por área infectada pode ter um efeito não somente na epidemia ao longo do tempo, mas também na efetividade do controle químico, quando este se fizer necessário. De acordo com McGraff (2001), o momento mais propício para aplicação de produtos químicos para o controle de oídio de modo a minimizar a seleção de indivíduos resistentes é quando a população do patógeno é baixa, condição esta que foi obtida neste estudo pela aplicação de SP, principalmente via raiz.

Os melhores resultados obtidos pela aplicação radicular de SP podem estar relacionados ao local diferenciado de acúmulo do Si em relação à aplicação foliar. No caso desta última, devido ao acúmulo de SP na superfície externa da folha, a ação do produto está associada a alterações físicas, como a formação de uma barreira formada pela sua deposição após a evaporação da água, e químicas, como o aumento do pH e do potencial osmótico, como já demonstrado por Liang et al. (2005) e Reuveni, Agapov e Reuveni (1995). Já no caso de aplicações radiculares, o Si presente no SP é absorvido e translocado na planta na forma de ácido monossilícico e o controle de patógenos está associado à ação combinada da formação tanto de uma barreira física como de uma bioquímica. A barreira física resulta tanto do aumento da rigidez da cutícula, devido à polimerização do Si abaixo da mesma, como pelo reforço da parede celular, conforme relatado para os patossistemas morangueiro - *Sphaerotheca aphanis* var.

aphanis e arroz - *Magnaporthe grisea* (HAYASAKA; FUJII; ISHIGURO 2008; KANTO et al., 2004; KIM et al., 2002; SANGSTER; HODSON; TUBB 2001). A barreira bioquímica induzida pelo Si, por sua vez, complementar a barreira física em decorrência da deposição de papila e da síntese de compostos fenólicos e fitoalexinas nos sítios de infecção, como descrito para trigo, onde estes fenômenos comprometeram a funcionalidade do haustório de *Blumeria graminis* f sp. *tritici* (BÉLANGER; BENHAMOU; MENZIES 2003). Outros estudos envolvendo oídios em arábidoide, morangueiro, pepino e trigo demonstraram também que a aplicação de Si via raiz promoveu um efeito de potencialização (*priming*) na expressão de enzimas ligadas ao sistema de defesa da planta e no aumento das concentrações de compostos fenólicos e fitoalexinas nos sítios de infecção (FAWE et al., 1998; GHANMI et al., 2004; KANTO; MIYOSHI; OGAWA 2006; LIANG et al., 2005).

Um fato interessante e casualmente observado nas plantas que receberam pulverização foliar de SP no experimento A foi que a redução nos componentes epidemiológicos somente ocorreu nas partes das folhas que foram cobertas pelo produto, enquanto que nas partes da planta não protegidas o desenvolvimento das colônias do fungo foi semelhante ao observado no tratamento controle. Resultado semelhante foi relatado por Liang et al. (2005) no caso do oídio em pepino. Esta observação reforça a hipótese que a aplicação foliar somente atua como uma barreira físico-química externa à folha e indica que para obter um melhor controle da doença é fundamental realizar aplicações frequentes de modo a proteger as folhas novas e com boa distribuição foliar.

Nas análises de progresso de epidemias em plantas mantidas em casa de vegetação e infectadas naturalmente, o SP, independentemente de sua forma de aplicação, reduziu as variáveis β e r em relação ao tratamento controle, o que reduziu significativamente a severidade de oídio nos terços inferior, médio e superior das plantas. No entanto, neste caso os resultados foram mais variáveis do que na avaliação de componentes epidemiológicos em função de variações entre os dois experimentos. Não obstante, a aplicação via raiz também se mostrou mais eficiente que a foliar na maioria das comparações, atrasando o início da epidemia e reduzindo a taxa de progresso da doença no terço inferior e médio das plantas. Este efeito resultou na redução significativa da severidade da doença no terço superior das plantas na aplicação radicular em comparação a aplicação foliar. Além disto, independentemente dos mecanismos de controle e das variáveis afetadas pelas formas de aplicação do SP, notou-se que ambas retardaram a morte das

folhas tanto no terço inferior quanto médio da planta, devido à menor severidade da doença. Em contraste, em plantas do tratamento controle os maiores valores de r e a antecipação do início da epidemia resultaram em valores de severidade próximos de 100%, o que causou a morte das folhas. Nestas plantas, por volta dos 60 dias após emergência, restaram folhas verdes somente no terço superior, porém com mais de 40% e 65% (no experimento 1 e 2, respectivamente) da área foliar comprometida pelo oídio. Como as plantas de meloeiro ainda estavam na fase inicial do crescimento dos frutos, esta acentuada redução da área foliar deve refletir em redução da produção e da qualidade da fruta. Esta hipótese está fundamentada nos resultados de vários estudos que mostram que a produtividade e a qualidade da fruta do meloeiro têm uma correlação direta com o número de folhas da planta que contribuem para a fotossíntese (QUEIROGA et al., 2008; LONG et al., 2004; HUBBARD; PHARR; HUBER 1990).

Os resultados deste estudo mostraram os efeitos benéficos do Si na redução de oídio em meloeiro em magnitudes semelhantes àsquelas observadas em pepino e morango (MENZIES et al., 1991b; KANTO; MIYOSHI; OGAWA 2006), contudo foi inferior à observada em trigo, onde houve redução de 90% na severidade da doença (BÉLANGER; BENHAMOU; MENZIES 2003; CHAIN et al., 2009). Já para a aplicação foliar, a redução na doença foi superior à observada em morango, onde a aplicação foliar foi ineficiente (LIANG et al., 2005). Apesar de não evitar a ocorrência do oídio, os efeitos do Si aqui relatados permitem concluir que a incorporação do SP a um sistema de manejo integrado certamente terá efeitos positivos tanto na epidemia da doença, mantendo a mesma em baixa intensidade, quanto no meio ambiente, através da redução do uso de moléculas sintéticas. Em relação às formas de aplicação do SP, a aplicação foliar tem maior potencial para reduzir a intensidade da doença se utilizada em cultivo protegido, uma vez que sua deposição é exclusivamente na superfície externa da folha, enquanto que a aplicação de SP via raiz pode ser utilizada tanto em cultivo protegido quanto em condições de campo. Todavia, para locais ou épocas onde o cultivo do meloeiro ocorre em períodos secos e a irrigação é realizada em sistema de gotejamento, a pulverização foliar pode ser uma opção interessante para complementar o controle proporcionado pela aplicação via raiz.

Referências

ABÖÖD, J.K.; LOSEL, D.M. Changes in carbohydrate composition of cucumber leaves during the development of powdery mildew infection. **Plant Pathology**, Oxford, v. 52, n. 2, p. 256-265, Apr, 2003.

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**, St Paul, v. 93, n. 4, p. 402-412, Apr. 2003.

BERGER, R.D.; BERGAMIN FILHO, A.; AMORIM, L. Lesion expansion as an epidemic component. **Phytopathology**, St Paul, v. 87, n. 10, p. 1005-1013, Oct, 1997.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley, 1990. 532p.

CARVER, T.L.W.; THOMAS, B.J.; ROBBINS, M.P.; ZEYEN, R.J. Phenylalanine ammonia-lyase inhibition, autofluorescence, and localized accumulation of silicon, calcium and manganese in oat epidermis attacked by the powdery mildew *Blumeria graminis* (DC) Speer. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 52, n. 4, p. 223-243, Apr, 1998.

CHAIN, F.; COTE-BEAULIEU, C.; BELZILE, F.; MENZIES, J.G.; BELANGER, R.R. A comprehensive transcriptomic analysis of the effect of silicon on wheat plants under control and pathogen stress conditions. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St Paul, v. 22, n. 11, p. 1323-1330, Nov, 2009.

COHEN, R. A leaf disk assay for detection of resistance of melons to *Sphaerotheca fuliginea* race-1. **Plant Disease**, St Paul, v. 77, n. 5, p. 513-517, May, 1993.

COHEN, R.; BURGER, Y.; KATZIR, N. Monitoring physiological races of *Podosphaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fuliginea*), the causal agent of powdery mildew in cucurbits: factors affecting race identification and the importance for research and commerce. **Phytoparasitica**, Rehovot, v. 32, n. 2, p. 174-183, Mar, 2004.

DALLAGNOL, L.J.; RODRIGUES, F.A.; MIELLI, M.V.B.; MA, J.F.; DATNOFF, L.E. Defective Active Silicon Uptake Affects Some Components of Rice Resistance to Brown Spot. **Phytopathology**, St Paul, v. 99, n. 1, p. 116-121, Jan, 2009.

DATNOFF, L.E.; RODRIGUES, F.A.; SEEBOLD, K.W. Silicon and Plant Disease. In: DATNOFF, L.E.; ELMER, W.H.; HUBER, D.M. (Ed.). **Mineral nutrition and plant disease**. St Paul, MN: The American Phytopathological Society, 2007. chap. 17 p. 233-246.

EPSTEIN, E. Silicon: its manifold roles in plants. **Annals of Applied Biology**, Malden, v. 155, n. 2, p. 155-160, Oct, 2009.

EPSTEIN, E. Silicon. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 50, p. 641-644, Jun, 1999.

FAWE, A.; ABOU-ZAID, M.; MENZIES, J.G.; BÉLANGER, R.R. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. **Phytopathology**, St Paul, v. 88, n. 5, p. 396-401, May, 1998.

FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D.; PÉREZ-GARCÍA, A.; LÓPEZ-RUIZ, F.; ROMERO, D.; DE VICENTE, A.; TORÉS, J.A. Occurrence and distribution of resistance to Q_oI fungicides in populations of *Podosphaera fusca* in south central Spain. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 115, n. 2, p. 215-222, Jun, 2006.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. Melão. In:_____. **Agrianual 2010**: Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo, 2010. p. 397-400.

GHANMI, D.; MCNALLY, D.J.; BENHAMOU, N.; MENZIES, C.J.G.; BÉLANGER, R.R. Powdery mildew of *Arabidopsis thaliana*: a pathosystem for exploring the role of silicon in plant-microbe interactions. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 64, n. 4, p. 189-199, Apr, 2004.

GOMEZ, K.A.; GOMEZ, A.A. **Statistical procedures for agricultural research**. 2nd. ed. New York: John Wiley, 1984. 680p.

HOSAYA, K.; KUZUYA, M.; MURAKAMI, T.; KATO, K.; NARISAWA, K.; EZURA, H. Impact of resistant melon cultivars on *Sphaerotheca fuliginea*. **Plant Breeding**, Berlin, v. 119, n. 3, p. 286-288, Jun, 2000.

HAYASAKA, T.; FUJII, H.; ISHIGURO, K. The role of silicon in preventing appressorial penetration by the rice blast fungus. **Phytopathology**, St Paul, v. 98, n. 9, p. 1038-1044, Sept., 2008.

HUBBARD, N.L.; PHARR, D.M.; HUBER, S.C. Sucrose metabolism in ripening muskmelon fruit as affected by leaf area. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 115, n. 5, p. 798-802, Sept., 1990.

KANTO, T.; MIYOSHI, A.; OGAWA, T.; MAEKAWA, K.; AINO, M. Suppressive effect of potassium silicate on powdery mildew of strawberry in hydroponics. **Journal of General Plant Pathology**, Kyoto, v. 70, n. 4, p. 207-211, Aug, 2004.

KANTO, T.; MIYOSHI, A.; OGAWA, T. Suppressive effect of liquid potassium silicate on powdery mildew of strawberry in soil. **Journal of General Plant Pathology**, Kyoto, v. 72, n. 3, p. 137-142, Jun, 2006.

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**, St Paul, v. 92, n. 10, p. 1095-1103, Oct. 2002.

KORNDÖRFER, G.H.; PEREIRA, H.R.; NOLA, A. **Análise de silício**: solo, planta e fertilizante. 2. ed. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia. 2004. 34p. (Boletim Técnico 2).

KUZUYA, M.; YASHIRO, K.; TOMITA, K.; EZURA, H. Powdery mildew *Podosphaera xanthii* resistance in melon is categorized into two types based on inhibition of the infection processes. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 9, p. 2093-2100, Jun, 2006.

LIANG, Y.C.; SUN, W.C.; SI, J.; RÖMHELD, V. Effects of foliar- and root-applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 54, n. 5, p. 678-685, Oct, 2005.

LONG, R.L.; WALSH, K.B.; ROGERS, G.; MIDMORE, D.M. Source-sink manipulation to increase melon (*Cucumis melo* L.) fruit biomass and soluble sugar content. **Australian Journal of Agricultural Research**, Collingwood, v. 55, n. 12, p. 1241-1251, Dec, 2004.

MA, J.F.; YAMAJI, N. Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends in Plant Science**, London, v.11, n. 8, p. 392-397, Aug, 2006.

McGRATH, M.T. Fungicide Resistance in cucurbit powdery mildew: experiences and challenges. **Plant Disease**, St Paul, v. 85, n. 3, p. 236-245, Mar, 2001.

McGRATH, M.T. Increased resistance to triadimefon and to benomyl in *Sphaerotheca fuliginea* populations following fungicide usage over one season. **Plant disease**, St Paul, v. 80, n. 6, p. 633-639, Jun, 1996.

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**, London, v. 39, n. 6, p. 403-414, Dec, 1991a.

MENZIES, J.G.; EHRET, D.L.; GLASS, A.D.M.; HELMER, T.; KOCH, C.; SEYWERD, F. Effects of soluble silicon on the parasitic fitness of *Sphaerotheca fuliginea* on *Cucumis sativus*. **Phytopathology**, St Paul, v. 81, n. 1, p. 84-88, Jan, 1991b.

PARLEVLIET, J.E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.17, p. 203-222, Sept., 1979.

PÉREZ-GARCIA, A.; ROMERO, D.; FERNÁNDEZ-ORTUÑO, D.; LÓPEZ-RUIZ, F.; DE VICENTE, A.; TORÉS, J.A. The powdery mildew fungus *Podosphaera fusca* (synonym *Podosphaera xanthii*): a constant threat to cucurbits. **Molecular Plant Pathology**, Malden, v.10, n. 2, p.153-160, Mar, 2009.

QUEIROGA, R.C.F.; PUIATTI, M.; FONTES, P.C.R.; CECOM, P.C. Produtividade e qualidade de frutos de meloeiro variando número de frutos e de folhas por planta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 209-215, Abr-Jun, 2008.

REUVENI, M.; AGAPOV, V.; REUVENIR, R. Suppression of cucumber powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) by foliar sprays of phosphate and potassium salts. **Plant Pathology**, Oxford, v. 44, n. 1, p. 31-39, Feb, 1995.

REZENDE, D.C.; RODRIGUES, F.A.; CARRÉ-MISSIO, V.; SCHURT, D.A.; KAWAMURA, I.K.; KORNDÖRFER, G.H. Effect of root and foliar applications of silicon on brown spot development in rice. **Australasian Plant Pathology**, Collingwood, v. 38, n. 1, p. 67-73, Jan-Feb, 2009.

RODRIGUES, F.A.; BENHAMOU, N.; DATNOFF, L.E.; JONES, J.B.; BÉLANGER, R.R. Ultrastructural and cytochemical aspects of silicon-mediated rice blast resistance. **Phytopathology**, St Paul, v. 93, n. 5, p. 535-546, May, 2003.

ROSSI, V.; GIOSUÈ, S. A dynamic simulation model for powdery mildew epidemics on winter wheat. **EPPO Bulletin**, v. 33, n. 3 p. 389-396, Dec, 2003.

SANGSTER, A.G.; HODSON, M.J.; TUBB, H.J. Silicon deposition in higher plants. In: DATNOFF L.E.; SNYDER, G.H.; KORNDÖRFER, G.H. (Ed.). **Silicon in Agriculture**. Amsterdam: Elsevier. 2001. chap. 5, p. 85-114.

SANTOS, A.A.; VIANA, M.P.; CARDOSO, J.E.; VIDAL, J.C. Efeito do oídio na produção e no teor de sólidos solúveis totais de frutos do meloeiro. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 36, n. 3, p. 354-357, set-dez, 2005.

SEEBOLD, K.W.; KUCHARÉK, T.A.; DATNOFF, L.E.; CORREA-VICTORIA, F.J.; MARCHETTI, M.A. The influence of silicon on components of resistance to blast in susceptible, partially resistant, and resistant cultivars of rice. **Phytopathology**, St Paul, v. 91, n. 1, p. 63-69, Jan, 2001.

SHANER, G.; FINNEY, R.E. Effect of nitrogen-fertilization on expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, St Paul, v. 67, n. 8, p. 1051-1056, Aug, 1977.

SITTERLY, W.P. Powdery mildew of cucurbits. In: SPENCER, D.M. (Ed.). **The Powdery Mildews**. London: Academic Press, 1978. p. 359-379.

TAKAHASHI, E.; MA, J.F.; MIYAKE, Y. The possibility of silicon as an essential element for higher plants. **Comments on Agricultural and Food Chemistry**, Lausanne, v. 2, n. 2, p. 99-122, Jun, 1990.

VALE, F.X.R.; FERNANDES FILHO, E.I.; LIBERATO, J.R. A software plant disease severity assessment. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 8., 2003, Christchurch. **Anais ...** Christchurch: New Zealand, 2003. p.105.

VILJANEN-ROLLINSON, S.L.H.; FRAMPTON, C.M.A.; GAUNT, R.E.; FALLOON, R.E.; MCNEIL, D.L. Spatial and temporal spread of powdery mildew (*Erysiphe pisi*) in peas (*Pisum sativum*) varying in quantitative resistance. **Plant Pathology**, Oxford, v. 47, n. 2, p. 148-156, Apr, 1998.

VOOGT, W.; SONNEVELD, C. Silicon in horticultural crops grown in soilless culture. In: DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H.; KORNDÖRFER, G.H. (Ed.). **Silicon in Agriculture**. Amsterdam: Elsevier, 2001. chap 6, p. 115-131.

ZASOSKI, R.J.; BURAU, R.G. Rapid nitric-perchloric acid digestion method for multi-element tissue analysis. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 8, n. 5, p. 425-436, Aug, 1977.

ZITTER, T.A.; HOPKINS, D.L.; THOMAS, C.E. **Compendium of cucurbit diseases**. St Paul: The American Phytopathological Society, 1996. 87p.

3 MECANISMOS DE DEFESA INDUZIDOS PELAS APLICAÇÕES FOLIAR E RADICULAR DE SILICATO DE POTÁSSIO EM MELOEIRO EM RESPOSTA À INFECÇÃO POR *Podosphaera xanthii*

Resumo

O silício (Si) confere inúmeros benefícios para as plantas que o acumulam em seus tecidos dos quais o aumento da resistência ao estresse biótico e abiótico é o tópico mais atraente. Este estudo relata os mecanismos pelos quais o Si reduz a severidade de oídio em meloeiro, avaliando as variáveis bioquímicas envolvidas nas defesas pós-infecção do hospedeiro. Análises bioquímicas em folhas de plantas de meloeiro, inoculadas ou não com *P. xanthii*, que receberam a aplicação foliar ou radicular de silicato de potássio foram realizadas em diferentes momentos após a inoculação. Os resultados indicaram que ambas as formas de aplicação reduziram a severidade comparada ao tratamento controle. Comparadas entre si, ambas as formas de aplicação reduziram em igual magnitude o número de colônias por cm², porém a aplicação radicular foi mais efetiva que a foliar em reduzir o tamanho da colônia e a severidade. A maior eficiência da aplicação via raiz provavelmente decorreu da maior concentração foliar de Si, onde induziu uma antecipação (efeito *priming*) e um aumento da intensidade de expressão de mecanismos de defesa, fenômenos que não foram detectados em plantas controle ou que receberam silicato de potássio por meio de pulverizações foliares. A aplicação radicular resultou na alteração de enzimas envolvidas na produção e catabolismo de espécies reativas de oxigênio, onde foi verificado aumento na atividade das enzimas superóxido dismutases e redução na atividade das catalases, principalmente nas primeiras 96 horas após a inoculação. O efeito *priming* também foi observado para as enzimas peroxidases, β 1,3(4)-glucanases e quitinases e para a concentração de compostos fenólicos. Neste tratamento também ocorreu aumento na concentração de lignina em resposta à inoculação e redução na concentração de malondialdeído, indicando que o Si reduziu o estresse oxidativo sobre os lipídeos das membranas celulares da planta. Por outro lado, quando o silicato de potássio foi aplicado via foliar apenas a deposição de lignina aumentou comparado ao tratamento controle. Assim, depreende-se que os mecanismos de atuação do Si no controle da doença quando aplicado nesta forma, são distintos e envolvem, segundo a literatura, a formação de uma barreira físico-química sobre a cutícula resultado da polimerização do silicato de potássio. Tomados em conjunto, os resultados deste estudo evidenciaram que o Si tem papel ativo na modulação do sistema de defesa da planta, mas que sua efetividade depende de sua presença na forma solúvel no interior da planta, obtido por meio de sua absorção via raiz.

Palavras-Chave: Controle de doenças; *Cucumis melo*; Efeito *priming*; Estresse oxidativo; Indução de resistência; Oídio; Silício

Abstract

Silicon accumulation in plant tissues results in several benefits to the plant of which the increased resistance to biotic and abiotic stresses is the most interesting one from the standpoint of plant protection. This study reports on the mechanisms by which Si reduces the severity of

powdery mildew in melon by evaluating biochemical variables implicated in defense mechanisms of the host. Biochemical analyses of both inoculated and non-inoculated leaves of plants that received foliar or root application of potassium silicate were conducted at different time points after inoculation. The application of potassium silicate in both forms markedly reduced disease severity compared to plants that did not receive the application. Moreover, no differences were observed between foliar and root application on the number of colonies per cm², but root application was more effective in reducing both colony size and disease severity than foliar application. The greater efficiency of the root treatment correlated to higher foliar concentrations of Si and with both a priming effect and an increased expression of key defense responses. These phenomena were not observed when potassium silicate was sprayed on the leaves. Root application altered the activity of enzymes involved in the production and catabolism of reactive oxygen species, increasing the activity of superoxide dismutase and reducing the activity of catalases mainly in the first 96 hours after inoculation. Root application also primed the activity of peroxidases, β 1,3(4)-glucanases, chitinases and the accumulation of phenolic compounds. Moreover, in this treatment lignin concentration increased in response to inoculation while the concentration of malondialdehyde was reduced, indicating that Si decreased the oxidation of lipids of the plant cell membranes. In contrast, when potassium silicate was sprayed on leaves, only an increase in lignin deposition was observed compared to the control treatment. Thus, it appears that the mechanisms of control in this case are distinct and, according to literature data, could include the formation of a physical-chemical barrier on cuticle which as the result of potassium silicate polymerization. Taken together, the results showed that Si plays an active role in modulating the host defense system that is dependent on its presence in the soluble form inside the plant which can be achieved by root uptake.

Keywords: Disease control; *Cucumis melo*; Priming effect; Oxidative stress; Induced resistance; Powdery mildew; Silicon

3.1 Introdução

O melão (*Cucumis melo* L.) ocupa a primeira posição no ranking de volume de frutas exportadas *in natura* pelo Brasil, gerando em 2008 uma receita de 152 milhões de dólares (IBRAF 2010). A principal região produtora no país é o Nordeste, a qual responde por mais de 95% da produção (FNP 2010). Porém, uma séria ameaça para a produção da fruta é o oídio, causado por *Podosphaera* (sect. *Sphaerotheca*) *xanthii* (Castag.) U. Braun e N. Shish., o qual é a principal doença foliar fúngica da cultura no país (REIS; BUSO 2004; STADNIK; KOBORI; BETTIOL 2001).

Para o controle do oídio empregam-se, além de outras medidas, variedades que contém genes R raça-específicos coletivamente denominados de *Pm* (KUZUYA et al., 2006). A resistência conferida por estes genes é caracterizada como pós-haustorial, pois está associada com

a reação de hipersensibilidade (HR), lignificação e deposição de calose junto ao haustório, que prejudicam seu funcionamento (COHEN; EYAL; HANANIA 1990; KUZUYA et al., 2006; PÉREZ-GARCÍA et al., 2001). Contudo, o rápido surgimento de novas raças de *P. xanthii* dificulta o controle de oídio pelo uso de genes R (COHEN; BURGER; KATZIR 2004; ZITTER; HOPKINS; THOMAS 1996). Este processo de mudança de raças é rápido e dinâmico, podendo ocorrer entre locais geográficos, entre ciclos de cultivo numa mesma área ou mesmo dentro de um mesmo ciclo de cultivo na mesma área (COHEN; BURGER; KATZIR 2004; HOSOYA et al., 1999, 2000). Assim, em adição aos genes R, fungicidas também são usados para controlar a doença, mas seus impactos negativos no ambiente e na saúde humana justificam estudos voltados para a redução em seu uso.

O silício (Si) é um elemento mineral de demonstrada eficácia no controle de patógenos biotróficos, hemibiotróficos e necrotróficos em inúmeros patossistemas que envolvem tanto plantas mono como dicotiledôneas (DATNOFF; RODRIGUES; SEEBOLD 2007). Contudo, os mecanismos de controle do elemento diferem dependendo da forma em que é aplicado. No caso de aplicações foliares o mecanismo proposto é a formação de uma barreira físico-química formada pela deposição do Si sobre a superfície foliar (LIANG et al., 2005; RODRIGUES et al., 2010). Já no caso de aplicações radiculares, o controle está associado à ação combinada da formação tanto de uma barreira física como de uma bioquímica. A barreira física resulta tanto do aumento da rigidez da cutícula, devido à polimerização do Si abaixo da mesma, como pelo reforço da parede celular, conforme relatado para os patossistemas morangueiro - *Sphaerotheca aphani* var. *aphani* e arroz - *Magnaporthe grisea* (HAYASAKA; FUJII; ISHIGURO 2008; KANTO et al., 2004; KIM et al., 2002; SANGSTER; HODSON; TUBB 2001). Em adição a isto, no caso específico de oídios, o elemento, quando aplicado desta forma desempenha um papel ativo na modulação da expressão do sistema de defesa da planta, induzindo um estado de potencialização e antecipação (*priming*) na atividade de suas enzimas e no aumento das concentrações de compostos fenólicos e fitoalexinas nos sítios de infecção, como já relatado em arábido, trigo, pepino e morangueiro (BÉLANGER; BENHAMOU; MENZIES 2003; FAWCETT et al., 1998; GHANMI et al., 2004; KANTO; MIYOSHI; OGAWA 2006; LIANG et al., 2005). As respostas de defesa pós-infecção induzidas pelo Si já foram demonstradas também em nível transcricional para plantas de arroz, trigo e arábido inoculadas, respectivamente, com *Magnaporthe oryzae*, *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* e *Erysiphe cichoracearum*, nas quais

ocorreu um aumento na expressão de genes que codificam fatores de transcrição, proteínas PR e de genes relacionados ao metabolismo primário e secundário (BRUNGINS et al., 2009; CHAIN et al., 2009; FAUTEUX et al., 2006).

Em estudo anterior, avaliamos os efeitos da aplicação de silicato de potássio no controle de oídio em meloeiro e mostramos que a aplicação do produto tanto por meio de pulverizações foliares quanto por meio de irrigação reduziram a taxa de progresso da doença e a área abaixo da curva de progresso da doença (AUDPC) por afetar vários componentes epidemiológicos. Contudo, a aplicação de silicato de potássio via raiz foi mais eficiente que a pulverização foliar na redução do número de conídios produzidos, do tamanho e da taxa de expansão da colônia e da AUDPC. Assim, com o intuito de aumentar a compreensão dos mecanismos de controle de oídio conferidos pela aplicação foliar e radicular de silicato de potássio, neste estudo objetivamos investigar a expressão de mecanismos bioquímicos relacionados às respostas de defesa pós-infecção em diferentes momentos após a inoculação do patógeno. Especificamente mensuraram-se as atividades de enzimas oxidorreduzidoras ligadas ao estresse oxidativo (superóxido dismutases, catalases e peroxidases) e à oxidação de fenóis (polifenoloxidasas) e das enzimas com ação direta sobre constituintes da parede celular do patógeno (quitinases e β 1,3(4)-glucanases) em plantas inoculadas ou não com *P. xanthii*, e que receberam aplicações foliares ou radiculares de silicato de potássio. Também avaliou-se indiretamente o grau de peroxidação de lipídios por meio da quantificação da concentração de malondialdeído a qual reflete o grau de dano às membranas celulares da planta produzido em função do estresse oxidativo, e a concentração de compostos fenólicos e lignina cujo acúmulo ocorre nas respostas de defesa contra estresses bióticos.

3.2 Material e métodos

3.2.1 Material vegetal e seu cultivo:

Os experimentos foram realizados com o híbrido comercial ‘Jangada’ (*C. melo* var. *inodorus*) (Sakata Seeds Sudamerica Ltda). As sementes foram semeadas em vasos plásticos contendo 3 kg de substrato Plantmax[®] (Eucatex, São Paulo, BR). As características físico-químicas desse substrato foram descritas previamente (Item 2.2.1). A concentração de Si disponível (extração em CaCl_2 0.01 M) foi de 25.25 mg dm⁻³. As plantas foram mantidas em casa de vegetação durante os experimentos. A partir da emissão das folhas cotiledonares, as plantas

foram fertilizadas semanalmente com 50 mL de solução nutritiva (Item 2.2.1). A densidade do fluxo de fótons em dias ensolarados (às 12 h) dentro da casa de vegetação foi de 800 $\mu\text{mol fótons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, a qual foi quantificada utilizando-se um quantômetro (Li 250 Light meter, Li-Cor). As temperaturas médias diárias variaram entre 20 e 28°C.

3.2.2 Aplicação de silício:

A fonte de Si utilizada foi o produto comercial Sili-K[®] (Unaprosil, Rio de Janeiro, BR), formulado à base de silicato de potássio (SP) e composto por 15.0% de K₂O (210 g L⁻¹) e 12.2% de Si solúvel (171 g L⁻¹). O SP foi aplicado por pulverização foliar (tratamento SP Foliar) ou misturado à água de irrigação (tratamento Si Raiz).

Para a aplicação foliar, o SP foi pulverizado na concentração de 30.0 mL L⁻¹ (pH 10.2), 24 horas antes da inoculação, por meio de um pulverizador manual de modo a garantir uma fina névoa da solução sobre a superfície adaxial das folhas, porém sem provocar escorrimento. Para a aplicação via água de irrigação (Si raiz), o SP foi diluído em água deionizada a uma concentração final de Si de 2 mM (0.34 mL L⁻¹ de PS) e o pH da solução foi ajustado para o intervalo 5.5 e 6.5, utilizando HCl (1M). As parcelas experimentais do tratamento Si raiz foram irrigadas diariamente com 300 mL desta solução.

A fim de igualar a quantidade de potássio fornecido no tratamento Si raiz, as parcelas dos tratamentos SP foliar e controle também foram irrigadas diariamente com 300 mL de uma solução de cloreto de potássio (KCl). Neste caso, o KCl (Sigma-Aldrich, St Louis, MO) foi dissolvido em água deionizada e o pH ajustado entre 5.5 e 6.5 com NaOH (1 M) ou HCl (1 M), conforme necessário e misturado à água de irrigação a uma concentração final de 1.53 mM. No tratamento controle também foi realizada a pulverização foliar com água.

3.2.3 Desenho experimental na casa de vegetação:

Para cada tratamento (SP Foliar, Si Raiz e Controle) foram utilizados treze vasos com três plantas cada, totalizando 39 plantas por tratamento. As plantas de nove vasos de cada tratamento (27 plantas) foram inoculadas, enquanto que as dos outros quatro (12 plantas) não o foram. As plantas não inoculadas foram mantidas em um compartimento separado dentro de mesma casa de

vegetação onde estavam as plantas inoculadas. No caso de plantas inoculadas, duas plantas de cada vaso (18 plantas por tratamento) foram utilizadas para as análises bioquímicas e a remanescente (nove plantas por tratamento) para avaliar os efeitos dos tratamentos na severidade da doença conforme procedimentos descritos abaixo. As plantas não inoculadas foram utilizadas como controle nas análises bioquímicas. O experimento foi repetido duas vezes.

3.2.4 Inoculação do patógeno e avaliação da severidade da doença:

Um isolado de *P. xanthii* coletado em um campo de cultivo comercial foi multiplicado sucessivamente *in vivo* em plantas de ‘Jangada’. O inóculo foi preparado segundo a metodologia descrita por Cohen (1993) com algumas modificações. Dez dias após a inoculação das folhas estas foram agitadas para a remoção dos conídios maduros. Vinte e quatro horas após, os novos conídios foram coletados em água contendo 0.002 % de Tween. A suspensão de conídios foi homogeneizada e ajustada para concentração de 2×10^4 conídios mL^{-1} . Esta suspensão foi pulverizada com auxílio de um *airbrush* na superfície adaxial das folhas das plantas de meloeiro contendo aproximadamente 7-8 folhas completamente expandidas (30 dias após a semeadura).

As seguintes variáveis foram avaliadas na quarta e na quinta folhas em nove plantas: número de colônias cm^{-2} , a área da colônia (AC) e a severidade do oídio. Aos sete dias após inoculação, o número de colônias cm^{-2} de área foliar foi contado em três locais aleatórios em cada folha avaliada. A área da colônia foi determinada em cinco colônias escolhidas ao acaso em cada folha no décimo dia após a inoculação, quando as colônias no tratamento controle começaram a coalescer, por meio da medição do diâmetro da colônia (mm). A severidade de oídio foi visualmente estimada em folhas individuais e quantificada como a percentagem da área foliar infectada aos 20 dias após inoculação (McGRATH 1996).

3.2.5 Análises de respostas de defesa pós-infecção:

Para avaliar o efeito da aplicação de Si na expressão de mecanismos de defesa pós-infecção considerou-se um experimento fatorial $3 \times 2 \times 4$, onde o primeiro fator avaliado foi a aplicação de Si (via raiz, via folha e sem aplicação), o segundo foi o efeito da inoculação (plantas inoculadas ou não) e o terceiro foi o tempo após a inoculação (24, 72, 120 e 144 horas após

inoculação). Para cada tempo de coleta foram utilizadas três repetições, representadas por uma planta de cada vaso. Assim, para cada tempo de coleta foram amostradas três plantas inoculadas e três plantas não inoculadas de cada tratamento. As análises foram efetuadas na quarta folha e após a coleta da folha, a planta amostrada foi descartada. Para um maior detalhamento da dinâmica da expressão das defesas pós-infecção, dois tempos adicionais (48 e 96 horas após a inoculação) foram amostrados nas plantas inoculadas. Durante a coleta, as amostras foram mantidas em nitrogênio líquido e em seguida imediatamente armazenadas em ultra-freezer (-80°C) até as análises. Nestas amostras foram determinadas as atividades das enzimas superóxido dismutases, catalases, quitinases, β 1,3(4)-glucanases, peroxidases e polifenoloxidasas, e as concentrações de fenóis solúveis totais, derivados lignina-ácido tioglicólico e malondialdeído (para avaliação de peroxidação de lipídeos ligados ao estresse oxidativo).

Extratos enzimáticos foram preparados de acordo com a metodologia descrita por Peixoto et al. (1999) com algumas modificações. Amostras de 0.5 g de tecido foliar fresco foram maceradas com pistilo em um almofariz contendo nitrogênio líquido. O fino pó resultante foi imediatamente homogeneizado em 4.0 mL de tampão fosfato de potássio (100 mM, pH 6.5) contendo fluoreto de fenilmetilsulfonil (1 mM) e polivinilpolipirrolidona (40 mg). O homogeneizado foi centrifugado a $12.000 \times g$ durante 15 min a temperatura de 4°C . O sobrenadante (extrato enzimático) foi utilizado para quantificar a atividade enzimática.

A atividade das superóxido dismutases (SOD, EC 1.15.1.1) foi determinada por meio da quantificação colorimétrica da foto-redução do azul de nitrotetrazólio (NBT) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) (GUPTA et al., 1993). Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir 50% da foto-redução do NBT e os resultados foram expressos em unidades de SOD mg^{-1} de proteína. A atividade das catalases (CAT, EC 1.11.1.6) foi determinada espectrofotometricamente por meio da quantificação da degradação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Merck, Darmstadt, Germany) (AZEVEDO et al., 1998). Os resultados foram expressos em μmol de H_2O_2 degradado $\text{min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ de proteína. A atividade das quitinases (QUI, EC 3.2.1.14) foi determinada por meio da quantificação colorimétrica da liberação de “*p*-nitrophenyl” clivado do substrato análogo da quitina “*p*-nitrophenyl- β -D-*N,N'*-diacetylchitobiose” (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) (HARMAN et al., 1993; ROBERTS; SELITRENNIKOFF 1988). Um coeficiente de extinção de $7 \times 10^3 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ foi usado para calcular a atividade da QUI, a qual foi expressa em mM de “*p*-nitrophenyl” produzido por min^{-1}

mg⁻¹ proteína. A atividade das enzimas endo- β 1,3(4)-glucanases (GLU, EC 3.2.1.6) foi determinada por quantificação colorimétrica de fragmentos solúveis liberados do carboxymethyl-curdlan-remazol brilliant blue (CM-Curdlan-RBB, Loewe Biochemica, Otterfing, Germany) (GUZZO; MARTINS 1996). A atividade da enzima GLU foi expressa como unidade de absorvância por min⁻¹ mg⁻¹ proteína. A atividade das enzimas peroxidases (POX, EC 1.11.1.7) e polifenoloxidasas (PPO, EC 1.10.3.1) foi determinada por meio da quantificação colorimétrica da oxidação do pirocatecol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) (KAR; MISHRA 1976). Um coeficiente de extinção de 2.47 mM⁻¹ cm⁻¹ foi usado para calcular a atividade da POX e PPO (CHANCE; MAEHLEY 1955). A atividade destas enzimas foi expressa como mol de purpurogalina produzida por min⁻¹ mg⁻¹ proteína.

Para as atividades enzimáticas foi realizada uma extração de cada repetição por tempo de coleta. Para cada extração foram realizados três ensaios enzimáticos para cada enzima avaliada. A concentração de proteínas solúveis dos extratos enzimáticos foi determinada pelo método espectrofotométrico direto (WARBURG; CHRISTIAN 1941).

A extração do malondialdeído (MDA) foi realizada em amostras de 0.3 g de tecido foliar fresco utilizando o ácido tricloroacético (Merck, Darmstadt, Germany) 0.1% (p/v). A determinação da concentração de MDA foi realizada com ácido tiobarbitúrico (Merck, Darmstadt, Germany) 0.5% (p/v) (CAKMAK; HOST 1991). A concentração de MDA foi calculada usando o coeficiente de extinção de 155 mM⁻¹ cm⁻¹ (LIMA et al., 2002) e os valores foram expressos em μ mol de MDA kg⁻¹ matéria fresca (mf).

Na determinação de compostos fenólicos solúveis totais (FST) e derivados lignina-ácido tioglicólico (DLATG) foram utilizadas amostras de 0,1 g de tecido foliar fresco. A extração dos FST foi realizada em metanol 80% (v/v) e a determinação da concentração destes (expressa em termos de catecol) foi realizada pelo método de Zieslin e Ben-Zaken (1993) o qual utiliza o reagente Fenol Folin-Ciocalteau (Dinâmica, São Paulo, BR). Os resultados foram expressos em μ g de FST g⁻¹ mf. Após extração dos FST, o resíduo alcoólico-insolúvel seco, o qual contém lignina e ácidos fenólicos associados à parede celular, foi usado para determinação da concentração de DLATG utilizando o ácido tioglicólico (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) (BARBER; RIDE 1988). Os resultados foram expressos em μ g de DLATG g⁻¹ mf, utilizando-se de uma curva-padrão obtida com diferentes concentrações de lignina alcalina, éter 2-hidroxipropílico de lignina (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO).

3.2.6 Análise foliar da concentração de Si e K:

Para assegurar que as variações nas variáveis epidemiológicas e bioquímicas foram devidas às diferentes concentrações foliares de Si, após cada experimento todas as folhas avaliadas para a doença, foram coletadas, lavadas com água deionizada, secadas por 72 h a 65°C e moídas a um fino pó utilizando um pistilo e almofariz. A concentração de Si no tecido foliar foi determinada por análise colorimétrica em 0.1 g de tecido seco, após digestão básica (KORNDÖRFER; PEREIRA; NOLA 2004). A concentração foliar de K foi determinada em fotômetro de chama a partir de 0.2 g de tecido seco submetido à digestão ácida nitroperclórica (ZASOSKY; BURAU 1977).

3.2.7 Análise estatística:

Testes de Cochran e Bartlett (GOMEZ; GOMEZ 1994) indicaram homogeneidade de variância entre experimentos para todas as variáveis, o que permitiu a análise conjunta dos mesmos. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste Tukey ($P \leq 0.05$) ou teste de Student (teste-*t*). As análises foram efetuadas com o software SAS (SAS Institute, Inc., 1989, Cary, NC).

3.3 Resultados

3.3.1 Concentração foliar de Si e K:

O fornecimento de SP via raiz aumentou ($P \leq 0.05$) a concentração foliar de Si em 132% e 124%, respectivamente, em relação ao tratamento controle e à pulverização foliar (Fig. 1A). Por outro lado, não houve diferença ($P \leq 0.05$) na concentração foliar de Si entre a aplicação foliar de SP e o tratamento controle (Fig. 1A), indicando que o aumento na concentração foliar somente ocorreu quando absorvido pelo sistema radicular da planta. Em relação à concentração de potássio, não houve diferença ($P \leq 0.05$) entre os tratamentos (Fig. 1B), o que indica que o elemento mineral não constituiu uma fonte de variação no estudo. Assim, os benefícios advindos da aplicação radicular de SP foram conferidos exclusivamente pela maior concentração foliar de Si.

Figura 1. - Concentrações foliares de silício (Si) (A) e potássio (K) (B) em plantas de meloeiro do híbrido comercial 'Jangada' que receberam aplicação de silicato de potássio via sistema radicular (Si Raiz), via pulverização foliar (SP Foliar) e em plantas sem aplicação (Controle). Barras representam o desvio padrão da média. Os valores representam a combinação de dois experimentos ($n = 18$). Médias seguidas pela mesma letra, em cada gráfico, não diferem estatisticamente ($P \leq 0.05$) pelo teste Tukey

3.3.2 Efeito da aplicação de Si na severidade da doença:

A aplicação de SP tanto via foliar como via raízes reduziu ($P \leq 0.05$) todas as variáveis avaliadas comparado ao tratamento controle (Fig. 2A-C). Não houve diferença ($P \leq 0.05$) entre as aplicações foliares e radiculares de SP para o número de colônias por cm² (redução de 57 e 68% comparada ao tratamento controle, respectivamente) (Fig. 2A), mas a aplicação do SP via raiz foi mais eficiente ($P \leq 0.05$) em reduzir a área da colônia (redução de 47 e 70%) (Fig. 2B) e a severidade (redução de 58 e 80%) (Fig. 2C).

3.3.3 Análises da resposta de defesa pós-infecção:

Atividades de enzimas oxidoredutoras

Em plantas inoculadas, a aplicação de SP via raiz aumentou ($P \leq 0.05$) a atividade das enzimas SOD (Fig. 3A) e POX (Fig. 3G) e reduziu ($P \leq 0.05$) a atividade da enzima CAT (Fig. 3D), em comparação ao tratamento controle (Fig. 3C, I e F, respectivamente), principalmente durante as primeiras 96 hai. Em contraste, a única enzima com expressão alterada ($P \leq 0.05$) em função da aplicação foliar relativo ao controle foi a POX (Fig. 3H). O interessante neste tratamento foi que o aumento na atividade desta enzima ocorreu também nas plantas não inoculadas, o que indica que este resultado pode ter sido devido ao efeito do SP na superfície da folha.

Figura 2 - Número de colônias por cm² de tecido foliar (A), área da colônia (B) e severidade de oídio (C) em folhas de plantas de meloeiro do híbrido comercial 'Jangada' que receberam aplicação de silicato de potássio via sistema radicular (Si Raiz), via pulverização foliar (SP Foliar) e em plantas sem aplicação (Controle), inoculadas com *Podosphaera xanthii*. Barras representam o desvio padrão da média. Os valores representam a combinação de dois experimentos ($n = 18$). Médias seguidas pela mesma letra, em cada gráfico, não diferem estatisticamente ($P \leq 0.05$) pelo teste de Tukey

O momento e a intensidade de expressão da atividade da enzima SOD foi semelhante ($P \leq 0.05$) entre a aplicação foliar (Fig. 3B) e o tratamento controle (Fig. 3C) em resposta à inoculação. Por outro lado, a atividade da enzima CAT na aplicação foliar (Fig. 3E) e no tratamento controle (Fig. 3F) não variou ($P \leq 0.05$) em resposta à inoculação. Alterações nos níveis de atividade da enzima PPO (Fig. 3J-L) não foram tão evidentes entre tratamentos, o que dificulta a compreensão do seu envolvimento no controle da doença.

A aplicação de SP via sistema radicular foi mais eficiente em antecipar e aumentar a atividade da enzima SOD e reduzir a atividade da enzima CAT em comparação à aplicação foliar do produto. Estas diferenças foram mais evidentes nas primeiras 96 horas após inoculação.

Figura 3 - Atividade das enzimas superóxido dismutases (SOD) (A, B e C), catalases (CAT) (D, E e F), peroxidases (POX) (G, H e I) e polifenoloxidasas (PPO) (J, K e L) nos tecidos foliares de plantas de meloeiro do híbrido comercial 'Jangada' que receberam aplicação de silicato de potássio via sistema radicular (Si Raiz) (A, D, G e J), via pulverização foliar (SP Foliar) (B, E, H e K) e em plantas sem aplicação (Controle) (C, F, I e L), e não inoculada (NI) ou inoculada (I) com *Podospheara xanthii*. Barras representam o desvio padrão da média. Os valores representam a combinação de dois experimentos ($n = 6$). Médias de plantas inoculadas seguida por um asterisco (*) são diferentes ($P \leq 0.05$) pelo teste *t* das não inoculadas, no mesmo tempo e tratamento. Médias de plantas no Si raiz ou no SP Foliar inoculadas seguidas por um triângulo invertido (▼) são diferentes ($P \leq 0.05$) pelo teste *t* das plantas inoculadas no tratamento controle. Médias de plantas no SP Foliar não inoculadas seguida por uma seta (↓) são diferentes ($P \leq 0.05$) pelo teste *t* das plantas no Si raiz e no controle não inoculadas

Atividades das enzimas hidrolíticas

Em plantas inoculadas, a aplicação de SP via raiz aumentou ($P \leq 0.05$) a atividade das enzimas QUI (Fig. 4A) e GLU (Fig. 4D) em comparação ao tratamento controle (Fig. 4C e F, respectivamente), principalmente durante as primeiras 96 hai. Por outro lado, a aplicação foliar não alterou ($P \leq 0.05$) a atividade da enzima GLU nas plantas inoculadas (Fig. 4E), comparado ao tratamento controle. A atividade da enzima QUI não variou ($P \leq 0.05$) na aplicação foliar de SP (Fig. 4B) nem no tratamento controle (Fig. 4C) em resposta a inoculação. A aplicação de SP via sistema radicular foi mais eficiente em antecipar e aumentar a atividade das enzimas QUI e GLU em comparação á aplicação foliar do produto, principalmente nas primeiras 96 horas após inoculação.

Figura 4. - Atividade das enzimas quitinases (QUI) (A, B e C) e β 1,3(4)-glucanases (GLU) (D, E e F) nos tecidos foliares de plantas de meloeiro do híbrido comercial 'Jangada' que receberam aplicação de silicato de potássio via sistema radicular (Si Raiz) (A e D), via pulverização foliar (SP Foliar) (B e E) e em plantas sem aplicação (Controle) (C e F), e não inoculada (NI) ou inoculada (I) com *Podosphaera xanthii*. Barras representam o desvio padrão da média. Os valores representam a combinação de dois experimentos ($n = 6$). Médias de plantas inoculadas seguida por um asterisco (*) são diferentes ($P \leq 0.05$) pelo teste *t* das não inoculadas, no mesmo tempo e tratamento. Médias de plantas no Si raiz ou no SP Foliar inoculadas seguidas por um triângulo invertido (▼) são diferentes ($P \leq 0.05$) pelo teste *t* das plantas inoculadas no tratamento controle

Efeito do estresse oxidativo sobre membranas (MDA)

A concentração de MDA, que é o principal produto formado durante a peroxidação de lipídeos, e consequentemente uma estimativa indireta do dano celular oriundo do estresse oxidativo, aumentou ($P \leq 0.05$) durante o processo de infecção/colonização do patógeno, principalmente às 120 e 144 hai (Fig. 5A-C). Porém a aplicação de SP via raiz (Fig. 5A) reduziu ($P \leq 0.05$) a concentração de MDA em comparação ao tratamento controle (Fig. 5C), fato que não ocorreu com a aplicação foliar (Fig. 5B), indicando que o SP quando aplicado via raiz amenizou o estresse celular causado pela infecção do patógeno.

Figura 5 - Concentrações de malondialdeído (MDA) nos tecidos foliares de plantas de meloeiro do híbrido comercial 'Jangada' que receberam aplicação de silicato de potássio via sistema radicular (Si Raiz) (A), via pulverização foliar (SP Foliar) (B) e em plantas sem aplicação (Controle) (C), e não inoculada (NI) ou inoculada (I) com *Podosphaera xanthii*. Barras representam o desvio padrão da média. Os valores representam a combinação de dois experimentos ($n = 6$). Médias de plantas inoculadas seguida por um asterisco (*) são diferentes ($P \leq 0.05$) pelo teste *t* das não inoculadas, no mesmo tempo e tratamento. Médias de plantas no Si raiz ou no SP Foliar inoculadas seguidas por um triângulo invertido (▼) são diferentes ($P \leq 0.05$) pelo teste *t* das plantas inoculadas no tratamento controle

Concentrações de compostos fenólicos e derivados lignina-ácido tioglicólico

A aplicação de SP via raiz aumentou ($P \leq 0.05$) a concentração de FST em resposta a inoculação (Fig. 6A). Este acúmulo foi mais intenso e rápido principalmente nas primeiras 48 hai, em comparação com a aplicação foliar de SP (Fig. 6B) e com o tratamento controle (Fig. 6C). Por outro lado, a pulverização foliar não alterou ($P \leq 0.05$) a concentração de FST em comparação ao tratamento controle. Já para concentração de DLATG, esta aumentou ($P \leq 0.05$) em resposta a inoculação, tanto para aplicação via raiz (Fig. 6D) quanto foliar (Fig. 6E), mas não variou ($P \leq 0.05$) em plantas do tratamento controle (Fig. 6F).

Figura 6 - Concentrações de compostos fenólicos solúveis totais (FST) (A, B e C) e derivados lignina-ácido tioglicólico (DLATG) (D, E e F) nos tecidos foliares de plantas de meloeiro do híbrido comercial 'Jangada' que receberam aplicação de silicato de potássio via sistema radicular (Si Raiz) (A e D), via pulverização foliar (SP Foliar) (B e E) e em plantas sem aplicação (Controle) (C e F), e não inoculada (NI) ou inoculada (I) com *Podosphaera xanthii*. Barras representam o desvio padrão da média. Os valores representam a combinação de dois experimentos ($n = 6$). Médias de plantas inoculadas seguida por um asterisco (*) são diferentes ($P \leq 0.05$) pelo teste t das não inoculadas, no mesmo tempo e tratamento. Médias de plantas no Si raiz ou no SP Foliar inoculadas seguidas por um triângulo invertido (▼) são diferentes ($P \leq 0.05$) pelo teste t das plantas inoculadas no tratamento controle

3.4 Discussão

O Si, apesar de não ser considerado um nutriente essencial para as plantas, pode reduzir os efeitos de estresses bióticos e abióticos (EPSTEIN 2009). Embora as bases fisiológicas deste fenômeno ainda sejam pouco compreendidas, sabe-se que é necessário seu acúmulo nos tecidos da planta (DALLAGNOL et al., 2009). O meloeiro é uma espécie vegetal que tem a capacidade de acumular altas concentrações foliares de Si, atingindo valores superiores a 3 dag kg^{-1} de matéria seca, conforme demonstrado neste estudo e no anterior, o que permite classificá-lo, de acordo com a classificação de Takahashi, Ma e Miyake (1990), como uma espécie intermediária para o acúmulo de Si. Porém, confirmando os resultados da primeira parte deste trabalho, o aumento na concentração foliar de Si somente ocorreu quando aplicado via radicular, já que no caso da aplicação foliar a deposição de Si ficou restrita à superfície externa da folha. Apesar de ambas as formas de aplicação do SP reduzirem o número de colônias por cm^2 , a área da colônia e a severidade, a aplicação via raiz induziu um efeito *priming* que resultou na antecipação e aumento na intensidade de respostas de defesa pós-infecção da planta, fato não verificado na

aplicação foliar. Em consequência disto, a aplicação via raiz foi mais eficiente na redução da área da colônia e da severidade da doença em relação à foliar.

Em plantas inoculadas, a aplicação de SP via raiz modulou a atividade de enzimas envolvidas tanto na geração como na catálise de espécies reativas de oxigênio e envolvidas na proteção celular ao estresse oxidativo. A atividade das enzimas SOD e POX, por exemplo, aumentou em função da aplicação do elemento, enquanto que a da enzima CAT diminuiu. Por outro lado, no tratamento controle e na aplicação foliar de SP, a única enzima que apresentou alteração na atividade nas plantas inoculadas foi a SOD, porém esta alteração foi mais tardia em relação à aplicação radicular. O aumento tardio na atividade da SOD nestes dois tratamentos reflete a cinética da resposta natural do hospedeiro, não modulada por Si.

O aumento da atividade da enzima SOD e concomitante diminuição da enzima CAT na aplicação de SP via raiz resulta na formação de H_2O_2 a partir da dismutação do ânion superóxido (O_2^-), seguida de seu acúmulo citoplasmático devido à redução na atividade da CAT. O acúmulo de H_2O_2 é uma resposta comum em infecções por oídios tanto em interações incompatíveis como durante o fenômeno de indução da resistência por agentes abióticos (CONRATH et al., 1995; RENARD-MERLIER et al., 2007; TRUJILLO; KOGEL; HUCKELHOVEN 2004). Por ser um oxidante estável e sem carga, a passagem do H_2O_2 pela membrana celular é facilitada, contribuindo para uma rápida resposta de defesa da planta. Além disto, o H_2O_2 pode agir diretamente sobre patógenos (MEHDY et al. 1996; WU et al., 1995), pode ser usado como substrato das peroxidases na lignificação (LAMB; DIXON 1997) e atuar como agente sinalizador para a expressão de genes que codificam PR-proteínas, fitoalexinas e enzimas envolvidas na proteção ao estresse oxidativo e lignificação, dentre outras respostas (HANCOCK et al., 2002; LAMB; DIXON 1997; LEVINE et al., 1994; SHETTY et al., 2008).

O efeito *priming* caracterizado pela expressão antecipada e em maior nível em plantas supridas com SP via raiz das enzimas POX, QUI e GLU, as quais são classificadas com proteínas relacionadas à patogênese, (VAN-LOON; REP; PIETERSE 2006) se explica pelo acúmulo de H_2O_2 citosólico discutido acima. Quitinases e glucanases de plantas são importantes componentes do sistema de defesa, pois promovem a hidrólise da parede celular de fungos verdadeiros, inibindo assim seu crescimento. Em adição a isto, a liberação de oligômeros de quitina e glucano resultantes deste processo agem como moléculas indutoras de resistência (LEUBNER-METZGER; MEINS JUNIOR 1999; PUNJA; ZHANG 1993; SHARMA et al., 2011). A POX é

uma enzima envolvida na proteção celular ao estresse oxidativo a qual remove o H_2O_2 utilizando-o no processo de lignificação e reforçamento da parede celular (HIRAGA et al., 2001). Assim, o aumento na concentração de lignina nas plantas tratadas com SP via raiz coincidiu com um aumento da atividade da SOD e da POX, enzimas chaves na geração de H_2O_2 e no processo de lignificação. O efeito negativo da lignificação celular sobre o patógeno ocorre devido à formação de uma barreira mecânica que limita seu crescimento, pelo aumento na resistência da parede celular à ação de suas enzimas, pela redução na difusão de metabólitos e também pela produção de precursores tóxicos e radicais livres (CHABANNES et al., 2001; NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT 1992), condições estas que afetam a formação de haustórios (SHAILASHREE et al., 2004). O aumento na concentração de lignina indicou uma resistência para o crescimento do patógeno no tecido e também redução no fluxo de nutrientes para a região infectada, fenômenos que devem ter contribuído para reduzir a área da colônia.

Na aplicação foliar, diferentemente da aplicação via raiz, a atividade da enzima POX também aumentou em plantas não inoculadas. O aumento da atividade desta enzima deve estar associado ao estresse causado pela aplicação do SP, uma vez que a atividade foi reduzida alguns dias após a pulverização do produto. Porém, o fato de o aumento da atividade da POX na aplicação foliar não inoculada não aumentar a concentração de lignina como observado nas plantas inoculadas, pode ser devido à expressão de isoformas específicas da enzima. Segundo Cosio e Dunand (2009) e Hiraga et al. (2001), diferentes estresses induzem isoformas específicas de POX.

Um segundo efeito do acúmulo de H_2O_2 , deletério para componentes da célula vegetal, decorre de seu acúmulo, tanto no espaço apoplástico quanto no citoplasma, na presença de metais de transição reduzidos como o Fe^{+2} , que pode induzir à formação do radical hidroxila ($\cdot\text{OH}$) o qual é altamente reativo e pode oxidar lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos (LAMB; DIXON 1997). Quando as espécies ativas de oxigênio (O_2^- , H_2O_2 ou $\cdot\text{OH}$) reagem com lipídeos ocorre a peroxidação destes e consequentemente a formação, dentre outros compostos, de MDA. A concentração deste produto é utilizada como indicador para o dano às membranas celulares induzido por qualquer tipo de estresse (FU; HUANG 2001, JALLOUL et al., 2002) como a invasão por um patógeno. Nas plantas infectadas por *P. xanthii*, a menor concentração de MDA ocorreu com a aplicação de SP via raiz o que decorre da menor severidade da doença nestas, o que, por sua vez, refletiu em menores danos celulares. Contudo, no caso da aplicação foliar de

SP, embora também tenha havido redução na severidade da doença, o dano às membranas celulares do hospedeiro não foi amenizado em relação ao tratamento controle, devido, provavelmente, a não absorção do Si via foliar. Este fato indica que a aplicação de SP via raiz além de reduzir o dano sobre componentes celulares por meio da redução da severidade da doença também aumentou a proteção celular contra o estresse oxidativo, como por exemplo, o aumento na atividade da enzima POX a qual faz parte do sistema antioxidante da planta. Contudo, outros mecanismos não avaliados neste estudo devem ter contribuído para a redução no estresse oxidativo sobre os lipídeos das plantas na aplicação de SP radicular uma vez que na aplicação foliar também ocorreu aumento na atividade da POX, mas não reduziu a concentração de MDA.

Outro ponto marcante das respostas bioquímicas pós-infecção expressas nas plantas supridas com SP via raiz foi o efeito *priming* para a produção de compostos fenólicos, verificado como a antecipação no acúmulo e em maior concentração em comparação à pulverização foliar de SP e ao tratamento controle. Isto deve ser resultado da indução de genes ligados a rota de síntese de compostos fenólicos causada pelo acúmulo de H_2O_2 no citoplasma, conforme previamente mencionado. O acúmulo de compostos fenólicos em função da aplicação do Si, já foi relatado em outros patossistemas como em pepino - *P. xanthii*, arroz - *M. oryzae*, trigo - *B. graminis* f. sp. *tritici* e arabidopsis - *E. cichoracearum* (BÉLANGER; BENHAMOU; MENZIES 2003; FAWE et al., 1998; GHANMI et al., 2004; MENZIES et al., 1991; RODRIGUES et al., 2004; 2005). O rápido acúmulo de compostos fenólicos no sítio de infecção, nos estágios iniciais da resposta de defesa, é de suma importância para restringir a infecção pelo patógeno (NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT 1992), pois estes podem inibir enzimas fúngicas extracelulares, inibir a fosforilação oxidativa no patógeno e reduzir a disponibilidade de nutrientes para o mesmo (SCALBERT 1991). Além disto, estes compostos podem agir indiretamente sobre o patógeno devido a sua polimerização e esterificação na parede celular para a formação de lignina (NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT 1992; REIMERS; LEACH 1991). Os fenóis também podem ser oxidados pela enzima PPO levando a formação de quinonas, as quais são mais tóxicas a microrganismos do que os fenóis em sua forma original (AGRIOS 2005; MAYER 2006). Contudo, as aplicações de SP não alteraram a atividade da enzima PPO, o que indica que a ação dos fenóis nestas plantas foi na sua forma original.

Os resultados deste estudo complementados por informações na literatura permitiram a formulação de uma hipótese para explicar os prováveis mecanismos envolvidos na redução na intensidade de oídio em meloeiro pelas aplicações de SP via raiz e via foliar (Fig. 7). No primeiro caso, (Fig. 7A) o Si presente no SP é absorvido pelas raízes na forma de ácido monossilícico e uma vez dentro da planta segue o fluxo da transpiração e se concentra abaixo da cutícula, condição que induz a polimerização do Si e a formação de sílica amorfa (MA; YAMAJY, 2006). Esta sílica amorfa forma uma barreira física que impede a penetração do patógeno nas células da epiderme da folha. Contudo, esta barreira não é uniforme, sendo muitas vezes concentrada em células especializadas no acúmulo de Si (MA; YAMAJY, 2006), o que deixa regiões na epiderme desprotegidas e passíveis de penetração. Quando ocorre a penetração dá-se início ao processo infeccioso e a primeira resposta é a geração de espécies reativas de oxigênio, principalmente o O_2^- apoplástico. Contudo, o efeito *priming* caracterizado pela antecipação e pelo aumento na atividade da enzima SOD catalisa parte deste O_2^- para formação de H_2O_2 , o qual pode agir diretamente sobre o patógeno ou difundir-se pela membrana plasmática para chegar ao citoplasma. No citoplasma, como a atividade da CAT foi reprimida, ocorre o acúmulo de H_2O_2 , condição esta que leva à indução da expressão de outros genes ligados ao processo de defesa celular, dentre os quais estão os das enzimas POX, QUI, GLU e da rota de síntese de compostos fenólicos. O aumento da atividade da enzima POX, entre outras funções, consome parte do H_2O_2 para a formação de lignina e reforço da parede celular, o que restringe a colonização pelo patógeno e reduz os danos celulares. Este fato aliado à remoção de parte do O_2^- pela enzima SOD e parte do H_2O_2 pela enzima POX, somados a outros mecanismos antioxidantes, reduzem o estresse oxidativo causado pelas espécies reativas de oxigênio, reduzindo assim a peroxidação lipídica (MDA) (BREUSEGEM et al., 2001). As enzimas QUI e GLU, por outro lado, também contribuem para a restrição da colonização por atuarem diretamente sobre a parede celular do patógeno, comprometendo sua integridade e funcionalidade e ao mesmo tempo liberando oligômeros de quitina e glucano que podem atuar também como indutores de resistência, maximizando a expressão das defesas da planta. Portanto, os mecanismos de defesa aqui apresentados trazem novas evidências do papel ativo do Si na modulação do sistema de defesa pós-infecção da planta, mas que a efetividade do elemento depende de sua presença na forma solúvel no interior da planta, o que somente foi obtido por meio de sua absorção via raiz.

Figura 7 - Modelo das alterações bioquímicas após a inoculação de *Podosphaera xanthii* em folhas de plantas de meloeiro que receberam aplicação de silicato de potássio via sistema radicular (A) ou via pulverização foliar (B). Setas azuis e vermelhas indicam respectivamente rotas estimuladas e reprimidas nas plantas dos tratamentos. Setas verdes indicam prováveis rotas alteradas pela interação patógeno-hospedeiro ou pela expressão dos mecanismos de defesa da planta. CAT= catalases; Fe = metais de transição representados neste caso pelo ferro, GLU = β 1,3(4)-glucanases, H_2O_2 = peróxido de hidrogênio, MAP Kinases = cascata de sinalização, O_2^- = ânion superóxido, OH = radical hidroxila, Oligômeros = glucano e quitina, POX = peroxidases, PPO = polifenoloxidases, QUI = quitinas, SOD = superóxido dismutases e Si amorfo = silício polimerizado abaixo da cutícula

Já no caso da aplicação foliar de SP (Fig. 7B), o produto é depositado sobre a superfície foliar formando uma barreira físico-química, a qual pode inibir a germinação do conídio ou evitar a penetração de hifa de penetração na célula da epiderme (RODRIGUES et al., 2010). Contudo, como a deposição do SP não é uniforme sobre a superfície foliar (RODRIGUES et al., 2010), o patógeno poderá encontrar áreas desprotegidas, ocorrendo assim a infecção e a indução na geração de espécies reativas de oxigênio, principalmente o O_2^- . Como a remoção do O_2^- pela SOD ocorre tardiamente, a formação de H_2O_2 ocorre espontaneamente, contudo o aumento na sua concentração é lento. Devido à baixa concentração apoplástica de H_2O_2 , a sua difusão para o citoplasma é lenta e sua concentração citoplasmática é diminuída ainda mais pela enzima CAT, cujo nível de atividade não foi reduzido, e, em consequência o H_2O_2 não atinge os níveis necessários para induzir a cascata de sinais e ativação de outros mecanismos de defesa. O aumento na concentração de H_2O_2 sem ocorrer a ativação dos mecanismos de proteção contra o estresse oxidativo permite que este composto, na presença de metais de transição reduzidos, forme o $^{\bullet}OH$ o qual é o mais reativo das espécies ativas de oxigênio. Juntos, H_2O_2 , O_2^- e $^{\bullet}OH$, oxidam várias moléculas orgânicas, dentre estas os lipídeos, o que induz a peroxidação lipídica e ao aumento na concentração de MDA. O aumento tardio da atividade da enzima SOD induz um aumento na concentração de H_2O_2 o qual é utilizado pela enzima POX na síntese de lignina. Contudo, aumento na atividade das enzimas SOD, POX e GLU ocorre como uma resposta natural do hospedeiro durante a colonização pelo patógeno constituindo-se em prováveis mecanismos de proteção celular ou tentativas de contenção do patógeno. O modelo exposto acima, portanto, assume que o principal mecanismo de controle de oídio nas aplicações foliares de SP deve estar associado à formação da barreira físico-química sobre a cutícula, resultado da polimerização de SP, somado à deposição de lignina.

Em conclusão, os resultados deste estudo mostraram que o Si reduz o oídio em meloeiro e suportam o conceito que a absorção do elemento via sistema radicular é a condição primordial para induzir a expressão dos mecanismos de defesa em resposta à infecção pelo patógeno. A expressão destes mecanismos foi multicomponente e envolveu a ativação de uma cascata de mudanças bioquímicas na planta que culminaram em uma rápida e extensa resposta de defesa.

Referências

- AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**, 5th ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2005.
- AZEVEDO, R.A.; ALAS, R.M.; SMITH, R.J.; LEA, P.J. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 104, n. 2, p. 280-292, Oct, 1998.
- 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**, London, v. 32, n. 2, p. 185-197, Mar, 1988.
- 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**, St Paul, v. 93, n. 4, p. 402-412, Apr, 2003.
- BREUSEGEM, F.V.; VRANOVÁ, E.; DAT, J.F.; INZÉ, D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, Shannon, v. 161, n. 3, p. 405-414, Aug, 2001.
- BRUNINGS, A.M.; DATNOFF, L.E.; MA, J.F.; MITANI, N.; NAGAMURA, Y.; RATHINASABAPATHI, B.; KIRST, M. Differential gene expression of rice in response to silicon and rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. **Annals of Applied Biology**, Malden, v. 155, n. 2, p.161-170, Apr, 2009.
- CAKMAK, I.; HORST, W.J. Effect of aluminum on lipid-peroxidation, superoxide-dismutase, catalase, and peroxidase-activities in root-tips of soybean (*Glycine max*). **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 83, n. 3, p. 463-468, Nov, 1991.
- CHABANNES, M.; RUEL, K.; YOSHINAGA, A.; CHABBERT, B.; JAUNEAU, A.; JOSELEAU, J.P.; BOUDET, A.M. In situ analysis of lignins in transgenic tobacco reveals a differential impact of individual transformations on the spatial patterns of lignin deposition at the cellular and subcellular levels. **The Plant Journal**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 271-282, Nov, 2001.
- CHAIN, F.; COTE-BEAULIEU, C.; BELZILE, F.; MENZIES, J.G.; BELANGER, R.R. A comprehensive transcriptomic analysis of the effect of silicon on wheat plants under control and pathogen stress conditions. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St Paul, v. 22, n. 11, p. 1323-1330, Nov, 2009.
- CHANCE, B.; MAEHLY, A.C. Assay of catalases and peroxidases. **Methods in Enzymology**, San Diego, v. 2, p. 764-775, 1955.
- COHEN, R. A leaf disk assay for detection of resistance of melons to *Sphaerotheca fuliginea* race-1. **Plant Disease**, St Paul, v. 77, n. 5, p. 513-517, May, 1993.
- COHEN, R.; BURGER, Y.; KATZIR, N. Monitoring physiological races of *Podosphaera xanthii* (syn. *Sphaerotheca fuliginea*), the causal agent of powdery mildew in cucurbits: factors affecting race identification and the importance for research and commerce. **Phytoparasitica**, Rehovot,

v. 32, n. 2, p. 174-183, Mar, 2004.

COHEN, Y.; EYAL, H.; HANANIA, J. Ultrastructure, autofluorescence, callose deposition and lignification in susceptible and resistant muskmelon leaves infected with the powdery mildew fungus *Sphaerotheca fuliginea*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 36, n. 3, p. 191-204, Mar, 1990.

CONRATH, U.; CHEN, Z.X.; RICIGLIANO, J.R.; KLESSIG, D.F. Two inducers of plant defense responses, 2,6-dichloroisonicotinic acid and salicylic-acid, inhibit catalase activity in tobacco. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 92, n. 16, p. 7143-7147, Aug, 1995.

COSIO, C.; DUNAND, C. Specific functions of individual class III peroxidases genes. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 60, n. 2, p. 391-408, Feb, 2009.

DALLAGNOL, L.J.; RODRIGUES, F.A.; MIELLI, M.V.B.; MA, J.F.; DATNOFF, L.E. Defective Active Silicon Uptake Affects Some Components of Rice Resistance to Brown Spot. **Phytopathology**, St Paul, v. 99, n. 1, p. 116-121, Jan, 2009.

DATNOFF, L.E.; RODRIGUES, F.A.; SEEBOLD, K.W. Silicon and Plant Disease. In: DATNOFF, L.E.; ELMER, W.H.; HUBER, D.M. (Ed). **Mineral nutrition and plant disease**. St Paul, MN: The American Phytopathological Society, 2007. chap. 17, p. 233-246.

EPSTEIN, E. Silicon: its manifold roles in plants. **Annals of Applied Biology**, Malden, v. 155, n. 2, p. 155-160, Oct, 2009.

FAUTEUX, F.; CHAIN, F.; BELZILE, F.; MENZIES, J.G.; BELANGER, R.R. The protective role of silicon in the Arabidopsis-powdery mildew pathosystem. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 103, n. 46, p. 17554-17559, Nov, 2006.

FAWE, A.; ABOU-ZAID, M.; MENZIES, J.G.; BÉLANGER, R.R. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. **Phytopathology**, St Paul, v. 88, n. 5, p. 396-401, May, 1998.

FNP CONSULTORIA & COMÉRCIO. Melão. In:_____. **Agrianual 2010**: Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo, 2010, p. 397-400.

FU, J.M.; HUANG, B.R. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. **Environmental and Experimental Botany**, Oxford, v. 45, n. 2, p. 105-114, Apr, 2001.

GHANMI, D.; MCNALLYA, D.J.; BENHAMOU, N.; MENZIES, C.J.G.; BÉLANGER, R.R. Powdery mildew of *Arabidopsis thaliana*: a pathosystem for exploring the role of silicon in plant-microbe interactions. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 64, n. 4, p. 189-199, Apr, 2004.

GOMEZ, K.A.; GOMEZ, A.A. **Statistical Procedures for Agricultural Research**. 2nd. ed. New York: John Wiley, 1994. 680p.

GUPTA, A.S.; WEBB, R.P.; HOLADAY, A.S.; ALLEN, R.D. Overexpression of superoxide dismutase protects plants from oxidative stress: induction of ascorbate peroxidase in superoxide dismutase over expressing plants. **Plant Physiology**, Rockville, v. 103, n. 4, p. 1067-1073, Dec, 1993.

GUZZO, S.D.; MARTINS, E.M.F. Local and systemic induction of β -1,3-glucanase and chitinase in coffee leaves protected against *Hemileia vastatrix* by *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 144, n. 9-10, p. 449-454, Nov, 1996.

HANCOCK, J.T.; DESIKAN, R.; CLARKE, A.; HURST, R.D.; NEILL, S.J. Cell signalling following plant/pathogen interactions involves the generation of reactive oxygen and reactive nitrogen species. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 40, n. 6/8, p. 611-617, Jun-Aug, 2002.

HARMAN, G.E.; HAYES, C.K.; LORITO, M.; BROADWAY, R.M.; DiPIETRO, A.; PETERBAUER, C.; TRONSMO, A. Chitinolytic enzymes of *Trichoderma harzianum*: purification of chitobiosidase and endochitinase. **Phytopathology**, St Paul, v. 83, n. 3, p. 313-318, Mar, 1993.

HAYASAKA, T.; FUJII, H.; ISHIGURO, K. The role of silicon in preventing appressorial penetration by the rice blast fungus. **Phytopathology**, St Paul, v. 98, n. 9, p. 1038-1044, Sept, 2008.

HIRAGA, S.; SASAKI, K.; ITO, H.; OHASHI, Y.; MATSUI, H. A large family of class III plant peroxidases. **Plant and Cell Physiology**, Oxford, v. 42, n. 5, p. 462-468, May, 2001.

HOSAYA, K.; KUZUYA, M.; MURAKAMI, T.; KATO, K.; NARISAWA, K.; EZURA, H. Impact of resistant melon cultivars on *Sphaerotheca fuliginea*. **Plant Breeding**, Berlin, v. 119, n. 3, p. 286-288, Jun, 2000.

HOSOYA, K.; NARISAWA, K.; PITRAT, M.; EZURA, H. Race identification in powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) on melon (*Cucumis melo*) in Japan. **Plant Breeding**, Berlin, v. 118, n. 3, p. 259-262, Jul, 1999.

IBRAF. **Comparativo das Exportações Brasileiras de Frutas Frescas 2008-2007**. Disponível em <http://www.ibraf.org.br/estatisticas/est_frutas.asp>. Acesso em: 7 set. 2010.

JALLOUL, A.; MONTILLET, J.L.; ASSIGBETSE, K.; AGNEL, J.P.; DELANNOY, E.; TRIANTAPHYLIDES, C.; DANIEL, J.F.; MARMEY, P.; GEIGER, J.P.; NICOLE, M. Lipid peroxidation in cotton: *Xanthomonas* interactions and the role of lipoxygenases during the hypersensitive reaction. **The Plant Journal**, Oxford, v. 32, n. 1, p. 1-12, Oct, 2002.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, Rockville, v. 57, n. 2, p. 315-319, Feb, 1976.

- KANTO, T.; MIYOSHI, A.; OGAWA, T.; MAEKAWA, K.; AINO, M. Suppressive effect of potassium silicate on powdery mildew of strawberry in hydroponics. **Journal of General Plant Pathology**, Kyoto, v. 70, n. 4, p. 207-211, Aug, 2004.
- KANTO, T.; MIYOSHI, A.; OGAWA, T. Suppressive effect of liquid potassium silicate on powdery mildew of strawberry in soil. **Journal of General Plant Pathology**, Kyoto, v. 72, n. 3, p. 137-142, Jun, 2006.
- 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**, St Paul, v. 92, n. 10, p. 1095-1103, Oct. 2002.
- KORNDÖRFER, G.H.; PEREIRA, H.R.; NOLA, A. **Análise de silício: solo, planta e fertilizante**. 2 ed. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia. 2004. 34p. (Boletim Técnico, 2.).
- KUZUYA, M.; YASHIRO, K.; TOMITA, K.; EZURA, H. Powdery mildew *Podosphaera xanthii* resistance in melon is categorized into two types based on inhibition of the infection processes. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 57, n. 9, p. 2093-2100, Jun, 2006.
- LAMB, C.; DIXON, R.A. The oxidative burst in plant disease resistance. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v. 48, p. 251-275, 1997.
- LEUBNER-METZGER, G.; MEINS JUNIOR, F. Functions and regulation of plant β -1,3-glucanases (PR-2). In: DATTA, S.K.; MUTHUKRISHNAN, S. (Ed.). **Pathogenesis-related proteins in plants**. Boca Raton, Florida: CRC Press LLC, 1999. chap. 3, p. 49-76.
- LEVINE, A.; TENHAKEN, R.; DIXON, R.; LAMB, C. H_2O_2 from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. **Cell**, Cambridge, v. 79, n. 4, p. 583-593, Nov, 1994.
- LIANG, Y.C.; SUN, W.C.; SI, J.; RÖMHELD, V. Effects of foliar- and root-applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus*. **Plant Pathology**, Oxford, v. 54, n. 5, p. 678-685, Oct, 2005.
- 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**, Oxford, v. 47, n. 3, p. 239-247, May, 2002.
- MA, J.F.; YAMAJI, N. Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends in Plant Science**, London, v.11, n. 8, p. 392-397, Aug, 2006.
- MAYER, A.M. Polyphenoloxidases in plants and fungi: Going places? A review. **Phytochemistry**, Oxford, v. 67, n. 21, p. 2318-2331, Nov, 2006.
- McGRATH, M.T. Increased resistance to triadimefon and to benomyl in *Sphaerotheca fuliginea* populations following fungicide usage over one season. **Plant disease**, St Paul, v. 80, n. 6, p. 633-639, Jun, 1996.

MEHDY, M.C.; SHARMA, Y.K.; SATHASIVAN, K.; BAYS, N.W. The role of activated oxygen species in plant disease resistance. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 98, n. 2, p. 365-374, Oct, 1996.

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**, London, v. 39, n. 6, p. 403-414, Dec, 1991.

NICHOLSON, R.L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic-compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 30, p. 369-389, Sept., 1992.

PEIXOTO, P.H.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANNA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, M.A. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira Fisiologia Vegetal**, Lavras, v. 11, n. 3, p. 137-143, Sept-Dec, 1999.

PÉREZ-GARCIA, A.; OLALLA, L.; RIVERA, E.; DELPINO, D.; CANOVAS, D.; DeVICENTE, A.; TORES, J.A. Development of *Sphaerotheca fusca* on susceptible, resistant, and temperature-sensitive resistant melon cultivars. **Mycological Research**, New York, v. 105, n. 10, 1216-1222, Oct, 2001.

PUNJA, Z.K.; ZHANG, Y.Y. Plant chitinases and their roles in resistance to fungal diseases. **Journal of Nematology**, Lakeland, v. 25, n. 4, p. 526-540, Dec, 1993.

REIMERS, P.J.; LEACH, J.E. Race-specific resistance to *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* conferred by bacterial-blight resistance gene XA-10 in rice (*Oryza sativa*) involves accumulation of a lignin-like substance in host tissues. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 38, n. 1, p. 39-55, Jan, 1991.

REIS, A.; BUSO, J.A. Levantamento preliminar de raças de *Sphaerotheca fuliginea* no Brasil. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 628-631, jul.set.2004.

RENARD-MERLIER, D.; RANDOUX, B.; NOWAK, E.; FARCY, F.; DURAND, R.; REIGNAULT, P. Iodine 40, salicylic acid, heptanoyl salicylic acid and trehalose exhibit different efficacies and defence targets during a wheat/powdery mildew interaction. **Phytochemistry**, Oxford, v. 68, n. 8, p. 1156-1164, Apr, 2007.

ROBERTS, W.K.; SELITRENNIKOFF, C.P. Plant and bacterial chitinases differ in antifungal activity. **Journal of General Microbiology**, Berks, v. 134, n. 1, p. 169-176, Jan, 1988.

RODRIGUES, F.A.; DUARTE, H.S.S.; REZENDE, D.C.; WORDELL FILHO, J.A.; KORNDÖRFER, G.H.; ZAMBOLIM, L. Foliar spray of potassium silicate on the control of angular leaf spot in beans. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v. 33, n. 14, p. 2082-2093, Oct, 2010.

- RODRIGUES, F.A.; JURICK, W.M.; DATNOFF, L.E.; JONES, J.B.; ROLLINS, J.A. Silicon influences cytological and molecular events in compatible and incompatible rice-*Magnaporthe grisea* interactions. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 66, n. 4, p. 144-159, Apr, 2005.
- RODRIGUES, F.A.; MCNALLY, D.J.; DATNOFF, L.E.; JONES, J.B.; LABBE, 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**, St Paul, v. 94, n. 2, p. 177-183, Feb, 2004.
- SANGSTER, A.G.; HODSON, M.J.; TUBB, H.J. Silicon deposition in higher plants. In: DATNOFF L.E.; SNYDER, G.H.; KORNDORFER, G.H. (Ed.). **Silicon in Agriculture**. Amsterdam: Elsevier. 2001. chap. 5, p. 85-114.
- SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, Oxford, v. 30, n. 12, p. 3875-3883, Dec, 1991.
- SHAILASREE, S.; KINI, K.R.; DEEPAK, S.; KUMUDINI, B.S.; SHETTY, H.S. Accumulation of hydroxyproline-rich glycoproteins in pearl millet seedlings in response to *Sclerospora graminicola* infection. **Plant Science**, Shannon, v. 167, n. 6, p. 1227-1234, Dec, 2004.
- SHARMA, N.; SHARMA, K.P.; GAUR, R.K.; GUPTA, V.K. Role of chitinase in plant defense. **Asian Journal of Biochemistry**, v. 6, n. 1, p. 29-37, Jan, 2011.
- SHETTY, N.P.; JORGENSEN, H.J.L.; JENSEN, J.D.; COLLINGE, D.B.; SHETTY, H.S. Roles of reactive oxygen species in interactions between plants and pathogens. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 121, n. 3, p. 267-280, Jul, 2008.
- STADNIK, M.J.; KOBORI, R.F.; BETTIOL, W. 2001. Oídios de cucurbitáceas. In: STADNIK, M.J.; RIVERA, M.C. (Ed.). **Oídios**. Jaguariúna, SP: EMBRAPA Meio Ambiente, 2001. cap. 9, p. 217-254.
- TAKAHASHI, E.; MA, J.F.; MIYAKE, Y. The possibility of silicon as an essential element for higher plants. **Comments on Agricultural and Food Chemistry**, Lausanne, v. 2, n. 2, p. 99-122, Jun, 1990.
- TRUJILLO, M.; KOGEL, K.H.; HUCKELHOVEN, R. Superoxide and hydrogen peroxide play different roles in the nonhost interaction of barley and wheat with inappropriate formae speciales of *Blumeria graminis*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St Paul, v. 17, n. 3, p. 304-312, Mar, 2004.
- VAN-LOON, L.C.; REP, M.; PIETERSE, C.M.J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 44, p. 135-162, Sept., 2006.
- WARBURG, O.; CHRISTIAN, W. Isohering und kristallisation des grungs ferments enolase. **Biochemistry Zoology**, v. 310, p. 384-421, 1941.

WU, G.S.; SHORTT, B.J.; LAWRENCE, E.B.; LEVINE, E.B.; FITZSIMMONS, K.C.; SHAH, D.M. Disease resistance conferred by expression of a gene encoding H₂O₂-generating glucose-oxidase in transgenic potato plants. **The Plant Cell**, Rockville, v. 7, n. 9, p. 1357-1368, Sept., 1995.

ZASOSKI, R.J.; BURAU, R.G. Rapid nitric-perchloric acid digestion method for multi-element tissue analysis. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 8, n. 5, p. 425-436, Mar, 1977.

ZIESLIN, N.; BEN-ZAKEN, R. Peroxidase-activity and presence of phenolic substances in peduncles of rose flowers. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 31, n. 3, p. 333-339, May-Jun, 1993.

ZITTER, T.A.; HOPKINS, D.L.; THOMAS, C.E. **Compendium of cucurbit diseases**. St Paul: The American Phytopathological Society, 1996. 87p.