



# Aplicação foliar de silício na resistência da soja à ferrugem e na atividade de enzimas de defesa

Sandra C. Pereira<sup>1</sup>, Fabrício A. Rodrigues<sup>2</sup>, Vivian Carré-Missio<sup>2</sup>, Maria Goreti A. Oliveira<sup>1</sup> & Laércio Zambolim<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica Agrícola; <sup>2</sup>Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000, Viçosa, MG, Brasil

Autor para correspondência: Fabrício A. Rodrigues, e-mail: fabricio@ufv.br

## RESUMO

A ferrugem da soja, causada por *Phakopsora pachyrhizi*, tem sido controlada pela aplicação de fungicidas devido a indisponibilidade de cultivares resistentes. O silício (Si) tem aumentado a resistência de várias espécies de plantas a patógenos. Assim, este trabalho avaliou o efeito da aplicação foliar desse elemento na severidade da ferrugem e na potencialização da atividade de quitinases,  $\beta$ -1,3-glucanases, peroxidases, polifenoloxidasas, lipoxigenases e fenilalanina amônia-liases. Plantas de soja (cultivar MG/BR-46 Conquista) foram pulverizadas com água (controle), silicato de potássio (KSi) (pH 10,5), KSi (pH 5,5) e acibenzolar-S-metilico (ASM) 24 horas antes da inoculação. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para os teores foliares de Si e potássio. A severidade foi significativamente menor em plantas pulverizadas com KSi, independente do pH, e ASM em relação ao controle. O ASM reduziu significativamente a severidade em 65,5% em relação ao controle sem diferença significativa do ASM para a aplicação de KSi pH 5,5. Aplicação de KSi, independente do pH, também reduziu a severidade. Não houve potencialização da atividade das enzimas estudadas pela aplicação de KSi, independente do pH, e do ASM, embora houve redução da severidade em relação ao controle, o que poderia ser explicado pelo possível efeito desses produtos sobre o fungo.

**Palavras-chave:** *Phakopsora pachyrhizi*, mecanismo de defesa, nutrição mineral.

## ABSTRACT

### Effect of foliar application of silicon on soybean resistance against soybean rust and on the activity of defense enzymes

Soybean rust, caused by *Phakopsora pachyrhizi*, has been controlled by fungicide application due to the absence of resistant cultivars. Silicon (Si) has increased the resistance of many plant species to pathogens. Therefore, this study evaluated the effect of foliar application of this element on rust severity and if it can potentiate the activity of chitinases,  $\beta$ -1,3-glucanases, peroxidases, polyphenoloxidasas, lipoxigenases, and phenylalanine ammonia-lyases. Soybean plants (cultivar "MG/BR-46 Conquista") were sprayed with water (control), potassium silicate (KSi) (pH 10.5), KSi (pH 5.5), and acibenzolar-S-methyl (ASM) 24 hours before inoculation. There was no significant difference among the treatments for content of Si and potassium in leaf tissue. Rust severity was significantly lower on plants sprayed with KSi, regardless of pH, and ASM compared to plants from control treatment. The ASM significantly decreased severity by 65.5% in comparison to control; however, there was no significant difference from ASM to KSi pH 5.5 treatment. Application of KSi, regardless of the pH, also reduced severity. There was no potentiation of the enzymes studied with KSi, regardless of pH and of ASM, even though there was severity reduction compared to the control treatment. This could be explained by the possible effect of these products on the fungus.

**Keywords:** *Phakopsora pachyrhizi*, mechanism of host defense, mineral nutrition.

## INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merr.] é uma das principais fontes de proteína para o uso humano e animal, representando uma das culturas de grande importância para a economia brasileira. Entre as doenças que acometem a cultura da soja, a ferrugem, causada pelo fungo *Phakopsora*

*pachyrhizi* Syd. & P. Syd., tem causado grandes perdas na produção (Godoy & Canteri, 2004). Plantas de soja com sintomas severos de ferrugem apresentam desfolha precoce, o que acaba comprometendo o enchimento das vagens e o peso dos grãos (Yang et al., 1991). O controle da ferrugem tem sido realizado principalmente com a aplicação de fungicida, já que a obtenção de cultivares resistentes ainda não foi alcançada com sucesso por melhoristas (Godoy & Canteri, 2004).

A nutrição mineral é um dos fatores ambientais de fácil manipulação pelo homem visando o controle de doenças em plantas cultivadas. Embora não considerado

Parte da Dissertação de Mestrado da primeira autora. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa MG. 2007.

essencial às plantas, porém agronomicamente benéfico ou quase-essencial, o silício (Si) tem aumentado a resistência de várias espécies, na sua maioria monocotiledôneas, às pragas e às doenças, bem como a diversos tipos de estresses abióticos tais como altas temperaturas, déficit hídrico e toxidez de ferro e manganês às raízes (Datnoff et al., 2007). No patossistema soja-*P. pachyrhizi*, foi demonstrado que plantas crescendo em solo contendo silicato de cálcio não foram resistentes à ferrugem (Nolla et al., 2006). Ao contrário, Rodrigues et al. (2009) obtiveram redução na severidade da ferrugem em plantas de soja pulverizadas com diferentes concentrações de silicato de potássio. Em pepineiro, reconhecido como sendo uma planta intermediária na capacidade de acumular Si na parte aérea, a aplicação foliar de Si reduziu a severidade do oídio, mas não foi capaz de potencializar a atividade das enzimas peroxidases, polifenoloxidasas e quitinases ao contrário do que foi obtido em plantas supridas com Si via solo. Nessas plantas, a redução nos sintomas da doença, esteve associado com aumento na atividade dessas enzimas durante o processo infeccioso (Liang et al., 2005).

Os mecanismos de resistência potencializados pelo Si em plantas a patógenos ainda não estão totalmente esclarecidos. A hipótese da formação de uma barreira física abaixo da cutícula após a polimerização do ácido monossilícico explica, embora parcialmente, o aumento da resistência do arroz a brusone (Kim et al., 2000). Essa hipótese vem sendo usada por vários pesquisadores como um dos argumentos para explicar a resistência de algumas espécies de plantas a certos patógenos quando supridas com Si. Contudo, o abundante acúmulo de compostos fenólicos associados com as estruturas de alguns patógenos como *Pyricularia grisea* e o aumento na produção de fitoalexina da classe das momilactonas (Datnoff et al., 2007), a transcrição de alguns genes em arroz associados com a resistência à brusone (Rodrigues et al., 2005), e o incremento na atividade de enzimas líticas à parede celular fúngica (Liang et al., 2005) reforçam a hipótese de que o Si potencializa mecanismos de defesa em plantas e não atua apenas de forma passiva na resistência.

Para o patossistema soja-*P. pachyrhizi* existem poucos trabalhos evidenciando o efeito do Si em reduzir os sintomas da ferrugem e na potencialização de mecanismos de defesa das plantas contra a infecção por esse patógeno. Assim, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito do Si aplicado via foliar na redução da severidade da ferrugem da soja, além da possível potencialização da atividade das enzimas quitinases,  $\beta$ -1,3-glucanases, peroxidases, polifenoloxidasas, lipoxigenases e fenilalanina amônia-liases, reconhecidas como participantes do estado de defesa das plantas a patógenos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Silicato de potássio via foliar na redução da severidade da ferrugem

Plantas de soja da cultivar MG/BR-46 Conquista, suscetível à ferrugem, foram crescidas em vasos plásticos

contendo 2 kg de material de solo deficiente em Si. A acidez foi corrigida com 3 g de calcário dolomítico antes da semeadura e as plântulas foram fertilizadas aos 4 dias após emergência com 50 mL de solução nutritiva (Rodrigues et al., 2009) e depois a cada 7 dias. O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com quatro tratamentos e oito repetições. Cada repetição foi constituída por um vaso plástico contendo duas plantas de soja. Os tratamentos utilizados foram plantas pulverizadas com água destilada, silicato de potássio (KSi) (35 g/L, pH 10,5), KSi (35 g/L, pH 5,5) e acibenzolar-S-metilico (ASM) (200  $\mu$ g/L) 24 horas antes da inoculação com *P. pachyrhizi*. O pH da solução de KSi foi alterada para 5,5 utilizando-se ácido fosfórico 5 M. A redução do pH da solução de KSi originalmente de 10,5 para 5,5 foi para tentar maximizar a absorção do Si pelas folhas de soja, mesmo considerando que a polimerização do silicato em solução com pH mais ácido ocorre rapidamente. O tratamento com ASM foi incluído para comparação com o KSi, já que o mesmo é considerado um indutor de defesa de plantas à diversos patógenos (Lyon, 2007). Os produtos FertiSil® (PQ Silicas Brasil Ltda, São Paulo, SP) e Bion® 500 WG (Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, São Paulo, SP) foram utilizados como fontes do KSi e do ASM, respectivamente. As soluções de KSi e de ASM foram aplicadas nas páginas abaxial e adaxial das quatro folhas por planta (estádio fenológico V5) utilizando-se o atomizador Devilbs. Cada planta recebeu 20 mL de cada solução até atingir o ponto de escorrimento.

Vinte quatro horas após a aplicação foliar dos produtos acima mencionados realizou-se a inoculação das plantas com uma suspensão de uredósporos de *P. pachyrhizi* na concentração de  $10^5$  uredósporos/mL. O inóculo foi obtido de plantas de soja (cultivar MG/BR-46 Conquista) previamente inoculadas com *P. pachyrhizi* e mantidas em casa de vegetação 45 dias antes do início do experimento. Após a inoculação, as plantas foram transferidas para câmara úmida (UR > 95%, 23-25°C) onde permaneceram no escuro por 24 h. Posteriormente, as plantas foram transferidas para casa de vegetação ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) até a finalização do experimento. A severidade da ferrugem nas duas folhas de cada planta foi avaliada aos 20 dias após a inoculação (d.a.i) utilizando-se a escala proposta por Godoy et al. (2006). Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

### Determinação da concentração foliar de potássio (K) e Si

As folhas inoculadas das plantas das repetições de cada um dos quatro tratamentos do experimento para estudar o efeito do KSi na redução da severidade da ferrugem foram coletadas aos 21 d.a.i. As folhas foram lavadas com água deionizada, secadas em estufa com ventilação forçada de ar a 60°C por 72 h e trituradas em moinho tipo Wiley com peneira de 20 mesh. O teor foliar de Si foi determinado de acordo com Korndörfer et al. (2004) e o de K por digestão nitroperclórica. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

### Silicato de potássio via foliar na potencialização da atividade de enzimas envolvidas com a resistência da soja à ferrugem

Plantas de soja da cultivar MG/BR-46 Conquista foram cultivadas e fertilizadas como descrito anteriormente. O experimento foi instalado em DIC com cinco tratamentos e oito repetições. Cada repetição foi constituída por um vaso plástico contendo duas plantas de soja. Os tratamentos foram constituídos de plantas pulverizadas com água destilada e não inoculadas com *P. pachyrhizi*, plantas pulverizadas com água destilada, KSi (35 g/L, pH 10,5), KSi (35 g/L, pH 5,5) e ASM (200 µg/L) e inoculadas com *P. pachyrhizi*. As plantas receberam a aplicação de água destilada e das soluções de KSi e ASM 24 horas antes da inoculação. As plantas foram inoculadas conforme já detalhado anteriormente. Duas folhas de cada planta inoculada foram coletadas as 24, 36, 48, 168 e 384 horas após a inoculação (h.a.i.) com *P. pachyrhizi*. Folhas de plantas pulverizadas com água destilada e não inoculadas com *P. pachyrhizi* também foram coletadas nessas mesmas épocas. As amostras obtidas para as determinações enzimáticas foram compostas por dois pares de folhas retiradas das plantas de cada vaso, totalizando três amostras para cada época de coleta. As amostras foram armazenadas individualmente em papel alumínio, rapidamente congeladas em nitrogênio (N<sub>2</sub>) líquido e, em seguida, armazenadas em ultrafreezer a -80°C para posterior análise. Foram determinadas as atividades das seguintes enzimas.

**Quitinases (QUI) (EC 3.2.1.14) e β-1,3-glucanases (GLU) (EC 3.2.1.39):** amostras pesadas e congeladas em N<sub>2</sub> líquido foram trituradas em almofariz com adição de polivinilpirrolidona (PVPP) 1% (p/v). O pó obtido foi macerado em tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 6,5, contendo fluoreto de fenilmetilsulfonila (PMSF) 1 mM. A centrifugação foi feita a 20.000 × g por 25 min a 4°C. Uma alíquota do sobrenadante foi utilizada para determinação da concentração de proteínas (Silva et al., 2001). A atividade de QUI foi determinada conforme método descrito por Harman et al. (1993). As amostras tiveram a absorbância registrada no comprimento de onda de 410 nm em um ensaio colorimétrico no espectrofotômetro. Todas as incubações foram realizadas em triplicatas. Subtraiu-se o valor de absorbância de cada amostra do valor de absorbância do controle (uma mistura idêntica à da amostra, com a reação paralisada no início) e os resultados foram expressos em unidades de absorbância.min<sup>-1</sup>/mg de proteína. A atividade de GLU foi determinada conforme método descrito por Lever (1972). As amostras tiveram a absorbância registrada no comprimento de onda de 540 nm em um ensaio colorimétrico no espectrofotômetro. Todas as incubações foram realizadas em triplicatas. Subtraiu-se o valor de absorbância de cada amostra do valor de absorbância do controle (uma mistura idêntica à da amostra, com a reação paralisada no início) e os resultados foram expressos em unidades de absorbância.min<sup>-1</sup>/mg de proteína.

**Peroxidasas (POX) (EC 1.11.1.7), polifenoloxidasas (PFO) (EC 1.10.3.1) e lipoxigenases (LOX) (EC 1.13.11.12):** amostras pesadas e congeladas em N<sub>2</sub> líquido foram trituradas em almofariz com adição de PVPP 1% (p/v). O pó obtido foi macerado em tampão fosfato de potássio 100 mM, pH 6,8, contendo PMSF 1 mM e ácido etilendiamino tetra-acético 0,1 mM. A centrifugação foi feita a 12.000 × g por 15 min a 4°C. Uma alíquota do sobrenadante foi utilizada para determinação da concentração de proteínas (Silva et al., 2001). A atividade de POX e PFO foi determinada conforme método descrito por Kar & Mishra (1976). O aumento na absorbância foi registrado no comprimento de onda de 420 nm em um ensaio colorimétrico no espectrofotômetro durante um período de 5 min. Todas as incubações foram realizadas em triplicatas. Utilizou-se para os cálculos o coeficiente de extinção molar 2,47 mM<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup> (Chance & Maehley, 1955) e os resultados foram expressos em M.min<sup>-1</sup>/mg de proteína. A atividade de LOX foi determinada conforme método descrito por Axelrod et al. (1981). O aumento na absorbância foi registrado no comprimento de onda de 234 nm em um ensaio colorimétrico no espectrofotômetro durante um período de 3 min. Todas as incubações foram realizadas em triplicatas. Utilizou-se para os cálculos o coeficiente de extinção molar 25.000 M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup> (Axelrod et al., 1981) e os resultados foram expressos em M.min<sup>-1</sup>/mg de proteína.

**Fenilalanina amônia-liases (FAL) (EC 4.3.1.5):** amostras pesadas e congeladas em N<sub>2</sub> líquido foram trituradas em almofariz. O pó obtido foi macerado em tampão borato de sódio 0,1 M, pH 8,8, contendo polivinilpirrolidona 5% (p/v) e β-mercaptoetanol 20 mM. A centrifugação foi realizada a 12.000 × g por 20 min a 4°C. Uma alíquota do sobrenadante foi utilizada para determinação da concentração de proteínas (Silva et al., 2001). A atividade de FAL foi determinada conforme método descrito por Cahill & McComb (1992). O aumento na absorbância foi registrado no comprimento de onda de 290 nm em um ensaio colorimétrico no espectrofotômetro durante um período de 5 min. Todas as incubações foram realizadas em triplicatas. Utilizou-se para os cálculos o coeficiente de extinção molar 10<sup>4</sup> mM<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup> (Zucker, 1965) e os resultados foram expressos em M.min<sup>-1</sup>/mg de proteína.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença significativa ( $P \geq 0,05$ ) entre os tratamentos quanto aos teores foliares de Si e de K. Os teores foliares de Si e de K variaram, respectivamente, entre 15,1 a 16,1 g/kg e de 9,9 a 11,4 g/kg. Rodrigues et al. (2009) relataram que a aplicação foliar de soluções de KSi nas doses de 8 a 60 g/L com pH de 10,5 e 5,5 também não aumentou o teor foliar de K em soja. Sabe-se que as espécies de plantas diferem quanto à capacidade em absorver o Si do solo e translocá-lo, de forma eficiente, para a parte

aérea (Ma & Takahashi, 2002). O arroz, a cana-de-açúcar e outras gramíneas, reconhecidas como acumuladoras de Si, chegam a apresentar até 5% de Si na matéria seca da parte aérea (Datnoff et al., 2007). Contrariamente, a soja mostrou ser uma espécie ineficiente em absorver o Si, contido no KSi, quando suprido via foliar, apresentando teores comparáveis aos de outras espécies de plantas reconhecidas como não acumuladoras de Si, a exemplo do tomateiro (Ma & Takahashi, 2002). A soja é classificada como sendo uma planta intermediária em termos de absorção de Si da solução do solo (Takahashi et al., 1990). O teor foliar de Si em soja pode chegar a 1,5%, indicando que esse elemento é transportando para a parte aérea, a partir das raízes, de forma não excludente (Mitani & Ma, 2005). Nolla et al. (2006) encontraram teores foliares de Si variando de 0,34 a 0,55% em plantas de soja cultivadas em solo deficiente nesse elemento que recebeu a aplicação de silicato de cálcio nas doses de 0 a 12 ton ha<sup>-1</sup>. Miyaki & Takahashi (1985) observaram que o teor foliar de SiO<sub>2</sub> em plantas de soja não supridas com Si em solução nutritiva foi inferior a 0,01%, mas esse teor aumentou em até 1,8% na dose de 100 ppm de SiO<sub>2</sub>. A eficiência do arroz em absorver ativamente o Si do solo deve-se a presença de proteínas transportadoras do Si localizadas nas estrias de Caspary da exoderme e da endoderme (Ma et al., 2007). Entretanto, em outras espécies de plantas, a exemplo de *G. max*, se desconhece até o momento a presença de genes responsáveis pela produção dessas proteínas carreadoras de Si no sistema radicular e até mesmo nas folhas.

A severidade da ferrugem foi significativamente maior em plantas que receberam a aplicação de água em relação aos outros três tratamentos (Figura 1). A aplicação do ASM reduziu significativamente a severidade em 65,5% em relação à aplicação de água. A aplicação foliar de soluções de KSi com pH 10,5 e 5,5 também mostrou-se eficiente em reduzir a severidade da ferrugem, principalmente quando em pH mais ácido. Não houve diferença significativa entre os tratamentos KSi pH 5,5 e ASM, mas esses tratamentos foram significativamente diferentes do tratamento KSi pH 10,5 (Figura 1). O ASM é eficiente em ativar diferentes mecanismos de defesa em plantas, em caráter sistêmico, que são efetivos a um grande número de patógenos fúngicos e bacterianos (Lyon, 2007). A aplicação foliar de KSi, como fonte solúvel de Si, reduziu a severidade da ferrugem da soja (Rodrigues et al., 2009). Esses autores concluíram que o Si contido no KSi foi mais importante em reduzir a severidade da ferrugem da soja do que o K, mesmo após terem equilibrado a concentração de K do tratamento KSi 40 g/L com a aplicação foliar de hidróxido de potássio na dose de 6.5 g/L. Ao contrário da aplicação foliar, Balardin et al. (2006) verificaram que plantas de soja das cultivares AL 83 e Embrapa 48 crescendo em substrato contendo 0, 35, 70 e 140 kg de K<sub>2</sub>O/ha, apresentaram redução significativa na severidade e na taxa de progresso da ferrugem.

A atividade da QUI manteve-se estável das 24 às 48 h.a.i., com pico em atividade as 168 h.a.i., seguido

de decréscimo para todos os tratamentos (Figura 2). Para a enzima GLU (Figura 3), os valores de atividade mantiveram-se estáveis das 24 às 384 h.a.i. para todos os tratamentos, exceto com um pico às 168 h.a.i. para o tratamento correspondente a aplicação de ASM. Com relação a enzima POX, os valores de atividade foram estáveis nas plantas que receberam a aplicação de todos os tratamentos, porém os maiores valores foram observados das 48 às 384 h.a.i. nas plantas pulverizadas com água e inoculadas com *P. pachyrhizi* (Figura 4). Houve decréscimo

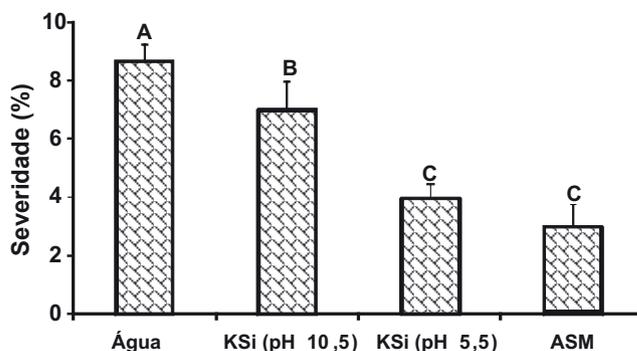


FIGURA 1 - Severidade da ferrugem em plantas de soja que receberam a aplicação foliar de água, silicato de potássio (KSi) (pH 10,5), KSi (pH 5,5) e acibenzolar-S-metilico (ASM) antes da inoculação com *Phakopsora pachyrhizi*. Médias seguidas pela mesma letra em cada coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

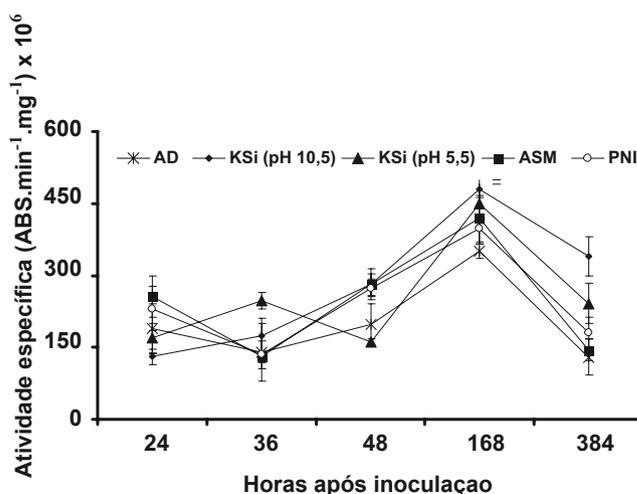
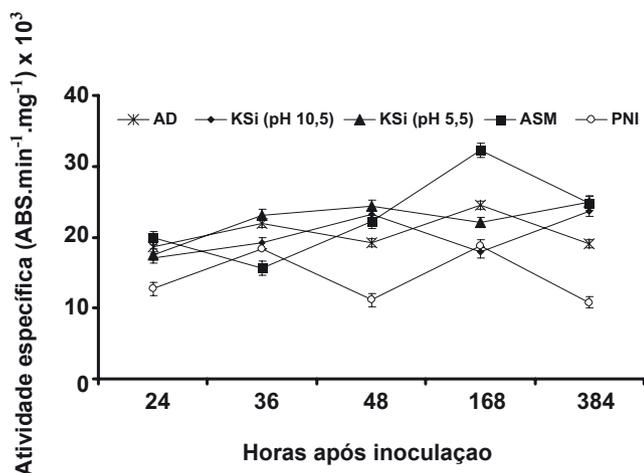
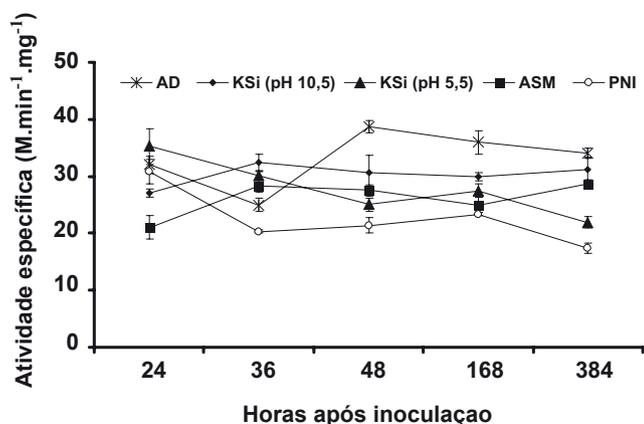


FIGURA 2 - Atividade específica de quitinases em folhas de plantas de soja determinada em diferentes épocas após a inoculação com *Phakopsora pachyrhizi* e que receberam previamente a aplicação foliar de água destilada (AD), silicato de potássio (KSi) (pH 10,5), KSi (pH 5,5) e acibenzolar-S-metilico (ASM). Plantas não inoculadas (PNI) receberam aplicação de água destilada. Barras representam o desvio padrão da média.



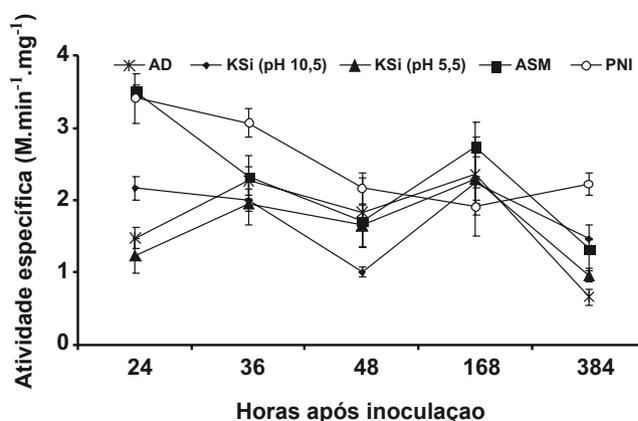
**FIGURA 3** - Atividade específica de  $\beta$ -1,3-glucanases em folhas de plantas de soja determinada em diferentes épocas após a inoculação com *Phakopsora pachyrhizi* e que receberam previamente a aplicação foliar de água destilada (AD), silicato de potássio (KSi) (pH 10,5), KSi (pH 5,5) e acibenzolar-S-metilico (ASM). Plantas não inoculadas (PNI) receberam aplicação de água destilada. Barras representam o desvio padrão da média.



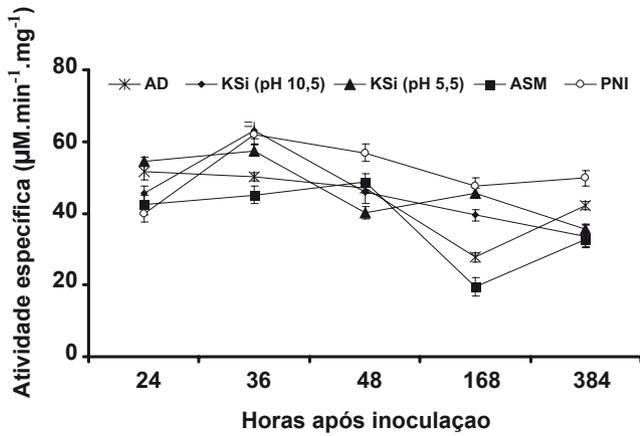
**FIGURA 4** - Atividade específica de peroxidases em folhas de plantas de soja determinada em diferentes épocas após a inoculação com *Phakopsora pachyrhizi* e que receberam previamente a aplicação foliar de água destilada (AD), silicato de potássio (KSi) (pH 10,5), KSi (pH 5,5) e acibenzolar-S-metilico (ASM). Plantas não inoculadas (PNI) receberam aplicação de água destilada. Barras representam o desvio padrão da média.

nos valores de atividade da PFO das 36 às 48 h.a.i. em plantas submetidas a todos os tratamentos, seguido de aumento às 168 h.a.i. e depois decréscimo acentuado, com exceção para o tratamento correspondente as plantas pulverizadas com água e não inoculadas com *P. pachyrhizi* (Figura 5). Não houve aumento na atividade da LOX em plantas submetidas aos diferentes tratamentos das 24 às 48 h.a.i. (Figura 6). A partir das 48 h.a.i., houve decréscimo nos valores de atividade da LOX nas plantas dos demais tratamentos, porém esses valores foram sempre inferiores

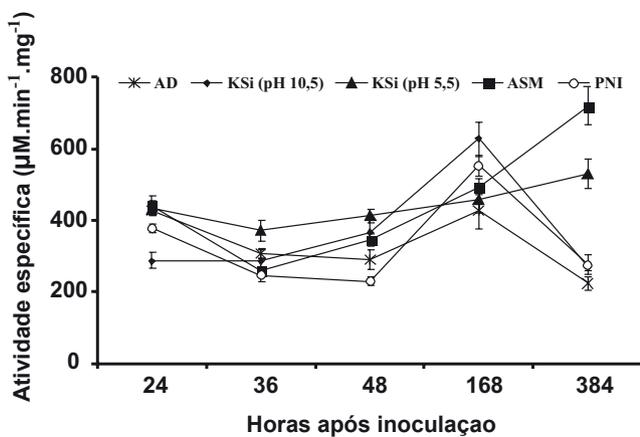
aos observados para as plantas pulverizadas com água e não inoculadas com *P. pachyrhizi*. A atividade da FAL mostrou-se bem semelhante entre os tratamentos das 24 às 48 h.a.i., porém houve aumento na atividade às 168 h.a.i. seguido de decréscimo, exceto para os tratamentos KSi pH 5,5 e ASM (Figura 7). As plantas são capazes de ativar rapidamente, mas de forma orquestrada, diferentes mecanismos bioquímicos de defesa associados com o metabolismo secundário após serem infectadas por patógenos. Sabe-se que as enzimas QUI e GLU são eficientes em degradar a parede celular dos fungos e contribuir para gerar elicitores com potencial para ativar respostas de defesa da planta (Mohammadi et al., 2002). Durante o processo infeccioso por patógenos necrotróficos ou hemibiotróficos, os danos físicos por eles ocasionados à membrana plasmática celular causam a degradação dos lipídeos pela ação das lipoxigenases, gerando hidroperóxidos dos ácidos graxos correspondentes e a expressão da resistência de algumas plantas a patógenos (Silva et al., 2001). A rota dos fenilpropanóides, iniciada pela conversão da *L*-fenilalanina a ácido trans-cinâmico, numa reação de deaminação catalisada pela enzima FAL, é de suma importância para a produção de compostos fenólicos com potencial antimicrobiano, além de certas classes de fitoalexinas (Schuster & Rétey, 1995). As POX estão relacionadas com o processo de proteção antioxidativa catalisando a oxidação de componentes celulares como o peróxido de hidrogênio e também com o aumento na síntese de lignina que fortalece a parede celular contra a ação de enzimas líticas produzidas em abundância por alguns patógenos (Kvaratskhelia et al., 1997). As PFO catalisam a hidroxilação de monofenóis formando *orto*-difenóis e também a oxidação de *orto*-difenóis formando *orto*-quinonas, as quais exibem natureza antimicrobiana superior aos compostos fenólicos que as precedem (Rodrigues et al.,



**FIG. 5** - Atividade específica de polifenoloxidasas em folhas de plantas de soja determinada em diferentes épocas após a inoculação com *Phakopsora pachyrhizi* e que receberam previamente a aplicação foliar de água destilada (AD), silicato de potássio (KSi) (pH 10,5), KSi (pH 5,5) e acibenzolar-S-metilico (ASM). Plantas não inoculadas (PNI) receberam aplicação de água destilada. Barras representam o desvio padrão da média.



**FIG. 6** - Atividade específica de lipoxigenases em folhas de plantas de soja determinada em diferentes épocas após a inoculação com *Phakopsora pachyrhizi* e que receberam previamente a aplicação foliar de água destilada (AD), silicato de potássio (KSi) (pH 10,5), KSi (pH 5,5) e acibenzolar-S-metilico (ASM). Plantas não inoculadas (PNI) receberam aplicação de água destilada. Barras representam o desvio padrão da média.



**FIG. 7** - Atividade específica de fenilalanina amônia-liases em folhas de plantas de soja determinada em diferentes épocas após a inoculação com *Phakopsora pachyrhizi* e que receberam previamente a aplicação foliar de água destilada (AD), silicato de potássio (KSi) (pH 10,5), KSi (pH 5,5) e acibenzolar-S-metilico (ASM). Plantas não inoculadas (PNI) receberam aplicação de água destilada. Barras representam o desvio padrão da média.

2005). Aumento ou decréscimo na atividade de enzimas relacionadas com a resposta de defesa das plantas a patógenos detectadas durante todo o curso do processo infeccioso é um fenômeno normal diante de todas as possíveis mudanças citológicas decorrentes da íntima interação patógeno-planta. As isoformas das enzimas podem variar tanto quantitativa quanto qualitativamente em função da espécie de planta, tipo de tecido analisado, estágio fenológico da planta e do ambiente. O ASM não foi

eficiente em induzir a expressão dos genes responsáveis pela produção das enzimas selecionadas para esse estudo, embora seja reconhecidamente eficiente em induzir a resistência de várias espécies de plantas a patógenos (Lyon, 2007). De modo semelhante, o KSi, independente do pH da solução, foi pouco eficiente em potencializar a atividade dessas enzimas. O Si tem potencial em maximizar as respostas de defesa de plantas como o arroz, trigo e pepino a patógenos foliares por meio da produção de compostos fenólicos, aumento na produção de fitoalexina da classe das momilactonas, na transcrição de alguns genes que codificam as enzimas FAL, POX e PFO, além do aumento na atividade das enzimas QUI e GLU que são líticas à parede celular fúngica (Liang et al., 2005; Datnoff et al., 2007). Esses mecanismos de defesa são potencializados desde que o Si seja passiva e ou ativamente absorvido pelas raízes da planta para atingir elevados teores na folha. Acredita-se que o silicato polimerizado na superfície das folhas de soja passa a afetar de certa forma o processo infeccioso de *P. pachyrhizi* devido ao aumento no potencial osmótico ou pela formação de placas de silicato, após polimerização, sobre a camada de cera e de cutícula, local de penetração do patógeno (Koch & Hoppe, 1988), já que o teor foliar de Si não aumentou após a aplicação do KSi. De acordo com Liang et al. (2005), a aplicação foliar de Si, ao contrário do seu fornecimento via raiz, não contribuiu para aumentar a atividade das enzimas POX, PFO, FAL e QUI em plantas de pepino com sintomas de oídio.

Os resultados do presente trabalho indicam que a aplicação foliar de KSi, na tentativa de fornecer Si a soja, embora tenha contribuído para reduzir a severidade da ferrugem, não mostrou-se eficiente em potencializar a atividade de enzimas de defesa apresentando eficiência semelhante ao ASM, reconhecidamente capaz de induzi-las em outras espécies de plantas. Assim, outro(s) mecanismo(s) pode(m) estar envolvido(s) na redução da severidade da ferrugem do que simplesmente o aumento na atividade das enzimas aqui estudadas, mecanismos esses que merecem ser elucidados em trabalhos futuros.

## AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG pelos recursos financeiros. A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela bolsa de mestrado concedida a S.C. Pereira e ao CNPq pelas bolsas de produtividade em pesquisa dos professores F.Á. Rodrigues, M.G.A. Oliveira e L. Zambolim. As empresas PQ Silicas Brasil Ltda. e Syngenta Proteção de Cultivos Ltda. pelo fornecimento dos produtos FertiSil® e Bion®, respectivamente. Os autores agradecem ao Prof. Gaspar H. Korndörfer, Universidade Federal de Uberlândia – ICIAG, pela realização das análises de Si no material vegetal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Axelrod B, Cheesbrough TM, Laasko S (1981) Lipoxygenases from soybeans. *Methods in Enzymology* 71:441-451.
- Balardin RS, Dallagnol LJ, Didoné HT, Navarini L (2006) Influência do fósforo e do potássio na severidade da ferrugem da soja *Phakopsora pachyrhizi*. *Fitopatologia Brasileira* 31:462-467.
- Cahill DM, McComb JA (1992) A comparison of changes in phenylalanine ammonia-lyase, lignin and phenolic synthesis in the roots of *Eucalyptus calophylla* (field resistant) and *E. marginata* (susceptible) when infected with *Phytophthora cinnamomi*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 40:315-332.
- Chance B, Maehley AC (1955) Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology* 2:764-775.
- Datnoff LE, Rodrigues FA, Seebold KW (2007) Silicon and Plant Nutrition. In: Datnoff LE, Elmer WH, Huber DM (Eds.) *Mineral Nutrition and Plant Disease*. Saint Paul MN. APS Press. pp. 233-246.
- Godoy CV, Canteri MG (2004) Efeitos protetor, curativo e erradicante de fungicidas no controle da ferrugem da soja causada por *Phakopsora pachyrhizi* em casa de vegetação. *Fitopatologia Brasileira* 29:97-101.
- Godoy CV, Koga LJ, Canteri MG (2006) Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. *Fitopatologia Brasileira* 31:63-68.
- Harman GE, Hayes CK, Lorito M, Broadway RM, Pietro A, Peterbauer C, Tronsmo A (1993) Chitinolytic enzymes of *Trichoderma harzianum*: purification of chitobiosidase and endochitinase. *Phytopathology* 83:313-318.
- Kar M, Mishra D (1976) Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology* 57:315-319.
- Kim SG, Kim KW, Park EW, Choi D (2002) Silicon-induced cell wall fortification of rice leaves: a possible cellular mechanism of enhanced host resistance to blast. *Phytopathology* 92:1095-1103.
- Koch E, Hoppe HH (1988) Development of infection structures by the direct-penetrating soybean rust fungus (*Phakopsora pachyrhizi* Syd.) on artificial membranes. *Journal of Phytopathology* 122:232-244.
- Korndörfer GH, Pereira HS, Nolla A (2004) Análise de silício: solo, planta e fertilizante. Uberlândia MG. Instituto de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Uberlândia. *Boletim Técnico* 2.
- Kvaratskhelia M, Winkel C, Thorneley RNF (1997) Purification and characterization of a novel class in peroxidase isoenzyme from tea leaves. *Plant Physiology* 114:1237-1245.
- Lever M (1972) A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates. *Analytical Biochemistry* 47:273-279.
- Liang YC, Sun WC, Si J, Römheld V (2005) Effects of foliar and root applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus*. *Plant Pathology* 54:678-685.
- Lyon G (2007) Agents that can elicit induced resistance. In: Walters D, Newton A., Lyon G (Eds.) *Induced Resistance for Plant Defense: a sustainable approach to crop protection*. Oxford. Blackwell Publishing. pp. 9-29.
- Ma JF, Takahashi E (2002) *Soil, Fertilizer, and Plant Silicon Research in Japan*. 1<sup>st</sup> Ed. Amsterdam. Elsevier Science.
- Ma JF, Yamaji N, Mitani N, Tamai K, Konishi S, Fujiwara T, Katsuhara M, Yano M (2007) An efflux transporter of silicon in rice. *Nature* 448:209-213.
- Miyaki Y, Takahashi E (1985) Effect of silicon on the growth of soybean plants in a solution culture. *Soil Science and Plant Nutrition* 31:625-634.
- Mohammadi M, Roohparvar R, Torabi M (2002) Induced chitinase activity in resistant wheat leaves inoculated with an incompatible race of *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*, the causal agent of yellow rust disease. *Mycopathologia* 154:119-126.
- Nolla A, Korndörfer GH, Coelho L (2006) Efficiency of calcium silicate and carbonate in soybean disease control. *Journal of Plant Nutrition* 29:2049-2061.
- Rodrigues FA, Duarte HSS, Domiciano GP, Souza CA, Korndörfer GH, Zambolim L (2009) Foliar application of potassium silicate on the control of soybean rust. *Australasian Plant Pathology* 38:366-372.
- Rodrigues FA, Jurick WM, Datnoff LE, Jones JB, Rollins JA (2005) Silicon influences cytological and molecular events in compatible rice-*Magnaporthe grisea* interactions. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 66:144-159.
- Schuster B, Rétey J (1995) The mechanism of action of phenylalanine ammonia-lyase: the role of prosthetic dehydroalanine. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 92:8433-8437.
- Silva MD, Oliveira MGA, Lanna AC, Pires CV, Piovesan ND, Jose IC, Batista RB, Barros EG, Moreira MA (2001) Caracterização da via das lipoxigenases em plantas de soja resistentes e susceptíveis a *Diaporthe phaseolorum* f.sp. *meridionalis*, agente causal do cancro-da-haste. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 13:316-328.
- Takahashi E, Ma JF, Miyake Y (1999) The possibility of silicon as an essential element for higher plants. *Comments on Agricultural and Food Chemistry* 2:357-360.
- Yang XB, Tschanz AT, Dowler WM, Wang TC (1991) Development of yield loss models in relation to reductions of components of soybean infected with *Phakopsora pachyrhizi*. *Journal of Phytopathology* 81:1420-1426.
- Zucker M (1965) Induction of phenylalanine deaminase by light and its relation to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue. *Plant Physiology* 40:779-784.

---

Recebido 10 Novembro 2008 - Aceito 18 Junho 2009 - TPP 8138  
 Editor Associado: Marciel J. Stadnik