



**MÁRCIA TOYOTA**

**INDUTORES DE RESISTÊNCIA E OS EVENTOS  
BIOQUÍMICOS DE DEFESA DO CAFEIEIRO  
(*Coffea arabica* L.) CONTRA *Hemileia vastatrix***

**LAVRAS – MG**

**2011**

**MÁRCIA TOYOTA**

**INDUTORES DE RESISTÊNCIA E OS EVENTOS BIOQUÍMICOS DE  
DEFESA DO CAFEIEIRO (*Coffea arabica* L.) CONTRA *Hemileia vastatrix***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende

**LAVRAS - MG**

**2011**

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

Toyota, Márcia.

Indutores de resistência e os eventos bioquímicos de defesa do  
cafeeiro (*Coffea arabica* L.) contra *Hemileia vastatrix* / Márcia  
Toyota. – Lavras : UFLA, 2011.

94 p.: il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

Orientador: Mário Lúcio Vilela de Resende.

Bibliografia.

1. Café. 2. Ferrugem alaranjada. 3. Indução de resistência. 4.  
Produtos alternativos. 5. Extratos vegetais. I. Universidade Federal  
de Lavras. II. Título.

CDD – 633.739425

**MÁRCIA TOYOTA**

**INDUTORES DE RESISTÊNCIA E OS EVENTOS BIOQUÍMICOS DE  
DEFESA DO CAFEIEIRO (*Coffea arabica* L.) CONTRA *Hemileia vastatrix***

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 4 de agosto de 2011.

Dr. Mario Sobral de Abreu	UFLA
Dr. Vicente Paulo Campos	UFLA
Dr. Rubens José Guimarães	UFLA
Dra. Sára Maria Chalfoun de Souza	EPAMIG

Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende  
Orientador

**LAVRAS - MG**  
**2011**

*Aos meus pais, Tanio e Asami,  
por todos os ensinamentos e amor,*

DEDICO

*Aos meus irmãos, Tânia, Edson, Celso e Edna, pelo apoio incondicional e  
amizade sincera.*

*Aos meus cunhados, Mário Kido, Mário Júnior e Sachi, pelo incentivo.*

*Ao meu querido noivo, Igor, por todo amor e carinho.*

*Aos meus sobrinhos queridos, Yudie, Evelyn, Allyson, Juliana e Luciana,*

OFEREÇO

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade concedida para a realização do doutorado.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

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

Aos professores Mario Sobral de Abreu, Vicente Paulo Campos e Rubens José Guimarães, por aceitarem o convite de participar da banca e pelas sugestões na confecção da tese.

À pesquisadora Sára Maria Chalfoun de Souza, pela disponibilidade e pelas valiosas sugestões.

Aos demais professores do Departamento de Fitopatologia, pelos conhecimentos transmitidos.

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

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia do Parasitismo (Família Resende), Pedro, Vanessa, Moisés, Ana Cristina, Thaís, Kátia, Bruno, Henrique Beluti, Eliane, Joyce, Manoel e Rodolpho, pela convivência e importantes auxílios nos experimentos.

À Livia, pelo empréstimo de sua ata (brincadeira!), ou melhor, pela disponibilidade e paciência em me ajudar.

Aos colegas de pós-graduação, em especial: Eduardo, Luciane, Eudes, André, Flavinha, Érika, Ana Beatriz, Roberto e a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a minha formação profissional e pessoal.

Aos amigos: Renata, Paulo, Grazieli, Rejane, Vanessa, Pedro, Maria Leandra, Ivan e Verônica, pelo carinho, amizade e força durante todos os momentos que passamos juntos.

Muito obrigada!

## RESUMO

A ferrugem alaranjada é uma das principais doenças do cafeeiro e, cada vez mais, buscam-se novas alternativas de controle dessa enfermidade que causem menores impactos ao homem e ambiente. Objetivou-se, neste trabalho, avaliar o efeito de produtos alternativos, como formulações à base de extratos vegetais e produtos comerciais, como fertilizantes foliares, no manejo da ferrugem do cafeeiro em condições de campo e mudas de cafeeiro, bem como caracterizar alguns mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta de defesa da planta. O ensaio de campo foi instalado em área cultivada com *Coffea arabica*, cv. IAC-144, com quatro anos, sob sistema convencional de produção. Os produtos utilizados foram: extrato aquoso de folha de café com ferrugem (Nefid), extrato aquoso de casca de fruto de café (Ecfc), acibenzolar-S-metil (ASM), fosfito de cobre (Fulland<sup>®</sup>), mananoligossacarídeo fosforilado proveniente da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*, Viça-Café plus<sup>®</sup> e testemunha sem aplicação. Foi utilizado também um fungicida (ciproconazol + azoxistrobina). Foram realizadas pulverizações mensais dos produtos, à exceção do fungicida, que foi pulverizado duas vezes a cada ano. Avaliando-se a severidade da ferrugem de forma acumulada, nos três anos de avaliação (2008 a 2010), observou-se que os extratos vegetais (Nefid e Ecfc) e o fosfito de cobre, na dose 10 mL L<sup>-1</sup>, foram capazes de reduzir a área abaixo da curva de progresso da severidade da ferrugem (AACPS) em 32%, 31% e 23%, respectivamente. Em casa de vegetação, foram realizados dois experimentos para avaliar o controle da ferrugem. Para tanto, mudas de cafeeiro cv. Mundo Novo foram pulverizadas com os mesmos tratamentos utilizados em campo, além de uma testemunha inoculada. Verificou-se que o extrato Nefid e o produto à base de fosfito de cobre, na dose 10 mL L<sup>-1</sup>, conferiram proteção às mudas de cafeeiro em relação à testemunha, com controle médio nos dois experimentos de 79% e 75%, respectivamente. Para as análises bioquímicas, as mudas foram tratadas com Nefid, fosfito de cobre, na dose 10 mL L<sup>-1</sup> e ASM, e observou-se aumento nas atividades das enzimas peroxidase, polifenoloxidase,  $\beta$ -1,3-glucanase e quitinase nas folhas, sem alteração dos teores de lignina e fenóis solúveis totais. No presente estudo observou-se que o extrato Nefid e fosfito de cobre apresentaram controle parcial da ferrugem em condições de campo e em mudas de cafeeiro, provavelmente pela indução de resistência, pois promoveram aumento nas atividades de algumas proteínas relacionadas à patogênese.

Palavras-chave: Café. Ferrugem. Indução de resistência. Extratos vegetais. Produtos alternativos. Proteínas relacionadas à patogênese.

## ABSTRACT

Leaf rust is one of the main diseases of coffee trees. Currently, researchers are studying alternatives to control this disease without damaging the environment. The aim of this work was to examine the effect of alternative products, such as formulations based on plant extracts and commercial products such as foliar fertilizers, on the management of coffee leaf rust in the field. The experiment was conducted in an area cultivated with a four-year-old *Coffea arabica*, cv. Catuaí IAC-144, under a conventional coffee production system. The products utilized were: aqueous extract of coffee leaves with rust symptoms (Nefid), aqueous extract of coffee berry husk (Ecfc); *acibenzolar-S-methyl* (ASM); copper phosphite (Fulland<sup>®</sup>), phosphorylated mannanoligosaccharide from cell walls of *Saccharomyces cerevisiae*; Viça-Café plus<sup>®</sup>, a control treatment without spraying, and a fungicide (cyproconazol+ azoxystrobin). The applications were carried out monthly, except for the fungicide, which was sprayed twice a year. Assessing the cumulative severity of leaf rust, during the three year evaluation period (2008-2010), it was noted that the plant extracts (Nefid and Ecfc) and copper phosphite (10 mL L<sup>-1</sup>) were able to reduce the area under the leaf rust severity progress curve by 32%, 31% and 23%, respectively. Also, two experiments were conducted in the greenhouse to evaluate the leaf rust control. For such, cv. Mundo Novo coffee seedlings were sprayed with the same treatments used in the field, plus an inoculated control. It was observed that Nefid and the copper phosphite product (10 mL L<sup>-1</sup>) protected the coffee seedlings when compared with the control, conferring 79% and 75% reduction of the disease, respectively. For the biochemistry analysis, the coffee seedlings were sprayed with Nefid, Fulland<sup>®</sup> and ASM. Increases in the activities of peroxidase, *polyphenol* oxidase,  $\beta$ -1,3-glucanase and chitinase were observed in the coffee leaves. However, there were no alterations in the lignin and total soluble phenol contents. Therefore, it was demonstrated in this study that Nefid and copper phosphite promoted partial control of leaf rust under field conditions, probably through resistance induction, since they increased the activities of some pathogenesis-related proteins.

Keywords: Coffee. Coffee leaf rust. Resistance induction. Plant extract. Alternatives products. Pathogenesis-related proteins.

## SUMÁRIO

	<b>PRIMEIRA PARTE</b> .....	10
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	10
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	12
<b>2.1</b>	<b>Importância da cultura do cafeeiro</b> .....	12
<b>2.2</b>	<b>Ferrugem do cafeeiro</b> .....	13
<b>2.3</b>	<b>Mecanismos de defesa em plantas</b> .....	15
<b>2.4</b>	<b>Indução de resistência</b> .....	16
<b>2.5</b>	<b>Mecanismos envolvidos na resposta de defesa</b> .....	18
<b>2.5.1</b>	<b>B-1,3-glucanases e quitinases</b> .....	18
<b>2.5.2</b>	<b>Peroxidases</b> .....	19
<b>2.5.3</b>	<b>Polifenoloxidasas</b> .....	20
<b>2.5.4</b>	<b>Lignina e fenóis totais solúveis</b> .....	21
<b>2.6</b>	<b>Indutores abióticos</b> .....	23
<b>2.7</b>	<b>Extratos vegetais na indução de resistência em plantas</b> .....	27
<b>3</b>	<b>CONSIDERAÇÕES GERAIS</b> .....	30
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	31
	<b>SEGUNDA PARTE – ARTIGOS</b> .....	40
	<b>ARTIGO 1 Produtos alternativos na proteção do cafeeiro contra a ferrugem</b> .....	40
	<b>ARTIGO 2 Proteção do cafeeiro contra <i>Hemileia vastatrix</i> por indutores de resistência bióticos e abióticos</b> .....	59

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o líder na produção e exportação mundial de café, com produção estimada, para 2011, de 43,54 milhões de sacas de 60 kg de café beneficiado. Desse total, a produção do café arábica (*C. arabica* L.) representa, aproximadamente, 74% (32,18 milhões de sacas) e tem como maior produtor o estado de Minas Gerais, com 67,9% (21,85 milhões de sacas) de café beneficiado (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2011).

Apesar da representatividade da cafeicultura brasileira e do grande potencial produtivo, alguns obstáculos contribuem para as perdas na produção. Entre estes, as doenças representam um dos fatores mais limitantes para a produção do café, podendo causar perdas que chegam a inviabilizar a exploração da cultura. Entre as doenças foliares do cafeeiro, principalmente a ferrugem alaranjada é uma das mais antigas e importantes. Seu agente etiológico, *Hemileia vastatrix*, é um parasita biotrófico exclusivo do gênero *Coffea*. Ela foi constatada no Brasil em janeiro de 1970 e logo se disseminou para todas as regiões cafeeiras do país. Atualmente, é encontrada em todas as regiões produtoras de café do mundo.

Os principais danos causados pela ferrugem são ocasionados pela queda precoce das folhas e seca dos ramos produtivos que, por consequência, não produzem no ano seguinte, diminuindo a produtividade e a qualidade. Essa seca constante dos ramos reduz a longevidade dos cafeeiros, tornando a lavoura gradativamente antieconômica (GODOY; BERGAMIN FILHO; SALGADO, 1997). Estima-se que as perdas na produção de café, se não forem devidamente controladas, podem variar de 35% a 50% (ZAMBOLIM et al., 2002).

O controle da ferrugem é baseado, principalmente, em aplicações de produtos químicos (fungicidas protetores e/ou sistêmicos). Entretanto, na decisão sobre o seu uso, devem ser levados em consideração vários fatores, entre eles o alto custo para o produtor, além do impacto que pode causar ao homem e ao meio ambiente (ZAMBOLIM et al., 2002).

A agricultura moderna prioriza o uso de produtos ecologicamente mais seguros, que sejam compatíveis com a qualidade ambiental baseada no manejo sustentável e a saúde dos trabalhadores rurais e consumidores.

Nesse contexto, a indução de resistência em plantas constitui uma promissora ferramenta no manejo fitossanitário sustentável e integrado, por meio da utilização de produtos bióticos ou abióticos que atuam como indutores dos mecanismos de defesa inerentes das plantas (GUZZO et al., 2001; RYALS et al., 1996; STANGARLIN; PASCHOLATI, 1994).

A utilização de fertilizantes foliares, como os fosfitos, tem ganho importância no controle de doenças (DATNOFF; SEEBOLD; CORREA, 2001), sendo citados na literatura como indutores de resistência. Outra forma que desperta o interesse dos especialistas da área é a utilização de produtos naturais, com extratos de plantas ou subprodutos da cadeia produtiva do café, principalmente extratos de folha de café e de casca de fruto de café, que apresentam eficiência comprovada no controle de doenças no cafeeiro, cacauieiro, algodoeiro e tomateiro (MEDEIROS et al., 2009; PEREIRA et al., 2008; SANTOS et al., 2007).

Dessa forma, objetivou-se, neste trabalho, avaliar os possíveis indutores bióticos e abióticos no manejo da ferrugem em cafeeiro, além de estudar o efeito destes na ativação de mecanismos envolvidos na resposta de defesa.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Importância da cultura do cafeeiro

O café representa uma das principais fontes de divisas para o Brasil, que é o principal produtor e exportador desta cultura, responsável por aproximadamente 30% do mercado internacional (INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION - ICO, 2011). Segundo a CONAB (2011), a previsão de produção de café (arábica e conilon), para 2011, indica 43,54 milhões de sacas de 60 kg de café beneficiado. Quando comparada à safra anterior (48,09 milhões de sacas de café beneficiado), verifica-se uma redução de 9,5% (4,55 milhões de sacas) devido, principalmente, à bienalidade da cultura.

Além da elevada produção, o café brasileiro tem melhorado em qualidade, agregando valor ao produto ofertado e melhorando as estratégias de produção, tanto pelo uso de melhores variedades como pelo controle fitossanitário e os cuidados na pós-colheita (PEREIRA, 2006), a fim de se melhorar a rentabilidade do cafeicultor. Esta rentabilidade está diretamente relacionada com o bom gerenciamento de custos de produção, existindo a necessidade de se eliminar quaisquer fontes de perdas nas lavouras (MATIELLO et al., 2002), em que se destacam as doenças.

A ocorrência de doenças, dependendo da intensidade, pode estar associada a perdas em larga escala, que vão desde a fase de viveiro até a produção final. Entre essas doenças, podem-se citar a ferrugem do café, causada por *Hemileia vastatrix* Berk et Br.; a cercosporiose, causada por *Cercospora coffeicola* Berk et Cook.; antracnoses, seca de ponteiros e mancha manteigosa, causadas por *Colletotrichum gloeosporioides*; galhas, causadas pelos nematoides do gênero *Meloidogyne*; mancha-de-phoma, causada por *Phoma* spp., entre

outras (POZZA; CARVALHO; CHALFOUN, 2010; ZAMBOLIM; VALE; ZAMBOLIM, 2005).

## 2.2 Ferrugem do cafeeiro

A ferrugem alaranjada, considerada uma das doenças mais impactantes do cafeeiro, foi constatada no Brasil em janeiro de 1970 e logo se disseminou para todas as regiões cafeeiras do país (ZAMBOLIM; VALE; ZAMBOLIM, 2005). Tem como agente etiológico o fungo biotrófico *Hemileia vastatrix* Berk. & Br., pertencente à família Pucciniaceae, ordem Uredinales, classe Basidiomycetes. Apresenta ciclo de vida incompleto, pois, até o momento, as fases de pécnio e écio são desconhecidas (AGRIOS, 2005; GODOY; BERGAMIN FILHO; SALGADO, 1997).

A disseminação de *H. vastatrix* ocorre mais eficientemente pela ação do vento, das gotas da chuva, do escorrimento de água pelas margens do limbo foliar para a superfície inferior e pela ação do homem durante os tratamentos culturais (GODOY; BERGAMIN FILHO; SALGADO, 1997; ZAMBOLIM; VALE; ZAMBOLIM, 2005). Como o período de produção dos urediniosporos numa mesma lesão pode ser superior a três meses, uma lesão produzida em uma estação vegetativa pode servir como fonte de inóculo para a estação seguinte (CHALFOUN; ZAMBOLIM, 1985).

O fungo desenvolve-se na superfície abaxial foliar, quando há condições de umidade e temperatura propícias para a germinação dos urediniosporos, geralmente 24 horas após a infecção (ZAMBOLIM; VALE; ZAMBOLIM, 2005). Em seguida, ocorre formação de tubos germinativos, apressórios e da hifa de penetração, a qual atravessa o ostíolo do estômato e continua seu desenvolvimento na câmara subestomática, colonizando as células subsidiárias e do mesófilo, formando estruturas denominadas haustórios, responsáveis pela

absorção de nutrientes das células do hospedeiro pelo patógeno (ZAMBOLIM; VALE; ZAMBOLIM, 2005).

Os sintomas da doença iniciam-se na forma de manchas cloróticas translúcidas com 1 a 3 mm de diâmetro na face abaxial do limbo foliar que, rapidamente, atingem até 2 cm de diâmetro. Na face abaxial, desenvolvem-se massas pulverulentas de coloração amarelo-alaranjada, formadas por urediniosporos do patógeno que, quando coalescem, podem cobrir grande extensão do limbo. Áreas de tonalidade amarelada na face adaxial do limbo foliar correspondem às regiões infectadas. As lesões, com o progresso da doença, aumentam de tamanho, formando uma área necrótica central, onde a esporulação é reduzida, com produção de esporos de coloração esbranquiçada de menor viabilidade, chegando a cessar (GODOY; BERGAMIN FILHO; SALGADO, 1997). Ocasionalmente, os sintomas são também observados nas extremidades de ramos em desenvolvimentos e em frutos verdes (GODOY; BERGAMIN FILHO; SALGADO, 1997).

Nas plantações, o sintoma mais notável é a desfolha, que prejudica o desenvolvimento de plantas jovens, causando definhamento, o que compromete a produção. A desfolha antes do florescimento interfere no desenvolvimento dos botões florais e na frutificação e, durante o desenvolvimento dos frutos, leva à formação de grãos anormais e defeituosos, afetando sensivelmente a produção (GODOY; BERGAMIN FILHO; SALGADO, 1997). A severidade da ferrugem e os prejuízos ocasionados na produção do cafeeiro, de modo geral, variam de região para região e de ano para ano, em decorrência da carga pendente dos cafeeiros e das condições climáticas prevalecentes (POZZA, 2004; ZAMBOLIM; VALE, 2003).

No Brasil, estima-se que as perdas devidas apenas à ferrugem do cafeeiro sejam da ordem de 30% da produção quando na ausência de medidas de controle, principalmente devido à predominância de plantas de cafeeiro (*C.*

*arabica* L.) suscetíveis à maioria das raças de *H. vastatrix*, incluindo a raça II, predominante no país (ZAMBOLIM; VALE; ZAMBOLIM, 2005).

A ferrugem do cafeeiro é manejada pelo uso de fungicidas sistêmicos, em aplicações sistemáticas durante a estação chuvosa, dependendo da severidade da doença. Porém, o uso inadequado desses fungicidas pode selecionar novas raças fisiológicas resistentes do patógeno (AGRIOS, 2005).

Pesquisas são realizadas com o objetivo de obter cultivares portadoras de genes de resistência a *H. vastatrix* que possam substituir as cultivares tradicionais de *C. arabica* suscetíveis, as quais requerem um controle sistemático da doença. No entanto, esse processo tem sido dificultado pelo surgimento de novas raças fisiológicas do patógeno, que levam à “quebra” da resistência das cultivares melhoradas (VÁRZEA et al., 2002; SERA et al., 2010).

### **2.3 Mecanismos de defesa em plantas**

As plantas apresentam um conjunto de mecanismos de defesa contra patógenos, que podem ser pré-existentes, expressos constitutivamente, e outros que são induzidos como resposta de defesa ao processo de infecção. Os mecanismos pré-existentes consistem de barreiras físicas, como a parede celular primária, composta de celulose, hemicelulose e pectina, e a parede celular secundária, podendo esta ser reforçada pela deposição de lignina, impregnação de sílica, ceras, suberina e cutina (RIDE, 1983). Outro importante mecanismo de defesa são os produtos do metabolismo primário e secundário dos vegetais. Muitos desses compostos são produzidos de forma constitutiva, sem a presença de patógenos, como é o caso de fenóis, alcaloides, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos, glicosídeos cianogênicos, fototoxinas, inibidores proteicos e enzimas hidrolíticas (PASCHOLATI; LEITE, 1995; SCHWAN-ESTRADA;

STANGARLIN; PASCHOLATI, 2008). Por outro lado, existem nos vegetais proteínas cujos genes têm sua expressão regulada por sinais liberados pelo processo de infecção, denominadas proteínas relacionadas à patogênese (PRps).

Além das PRps, as enzimas relacionadas à síntese de fitoalexinas, bem como a lignificação e a deposição de calose, podem ter sua síntese ativada em resposta à presença do patógeno (HAMMOND-KOSACK; JONES, 2000).

## **2.4 Indução de resistência**

O fenômeno de indução de resistência (RI) em plantas a patógenos é estudado há muito tempo. Beauverie e Ray (1901 citados por KESSMANN et al., 1994) foram os pioneiros nesses estudos, demonstrando que isolados atenuados de *Botrytis cinerea* tornavam as plantas de *Begonia* sp. resistentes às estirpes virulentas do fungo. Porém, somente nos últimos 20 anos esse aspecto começou a ser investigado de forma direcionada, nos aspectos bioquímicos e moleculares, para uma aplicação prática do seu uso em culturas economicamente importantes (PASCHOLATI et al., 2010).

A indução de resistência em plantas contra patógenos representa um método alternativo no controle de doenças, a qual ativa os mecanismos de defesa latentes na planta. A RI pode ser ativada em plantas por uma série de substâncias denominadas eliciadores, evitando ou atrasando a entrada e/ou a subsequente atividade do patógeno em seus tecidos (ATHAYDE SOBRINHO; FERREIRA; CAVALCANTI, 2005; NOJOSA et al., 2005). Quando a planta reconhece algum destes eliciadores, ocorre a ativação de genes envolvidos em diversas respostas de defesa, as quais podem ser bioquímicas: PRps, fitoalexinas e fenóis, e estruturais, como lignina, ceras, papilas etc. (PASCHOLATI; LEITE, 1995). O desempenho de um eliciador certamente pode ser melhorado, ou mesmo estabilizado, se associado a outros indutores de resistência ou, mesmo, a

micronutrientes que podem funcionar como cofatores de várias enzimas envolvidas na síntese de importantes substâncias de defesa da planta (CAVALCANTI, 2005).

Em função da rota de sinalização que leva à expressão das defesas, a indução de resistência pode ser dividida em duas categorias, a resistência sistêmica adquirida (*systemic acquired resistance*, SAR) que tem o ácido salicílico como principal sinalizador, levando à expressão principalmente de PRps (MÉTRAUX, 2001; STICHER; MAUCH-MANI; MÉTRAUX, 1997) e a resistência sistêmica induzida (*induced systemic resistance*, ISR) em que atua na rota regulada por jasmonato e etileno (LOON; BAKKER; PIETERSE, 1998). No fenômeno SAR, a resistência desenvolve-se de forma sistêmica ou localizadamente em resposta a um patógeno que causa uma lesão necrótica (reação de hipersensibilidade) ou por aplicação exógena de ácido salicílico ou compostos sintéticos, como o acibenzolar-S-metil (ASM) e o ácido 2,6-dicloroisonicotínico (INA), sendo efetiva contra amplo espectro de patógenos (PASCHOLATI; LEITE, 1995). Dependendo da planta e do eliciador, é necessário um determinado período de tempo para o estabelecimento da SAR, o qual corresponde ao tempo requerido para a expressão gênica, o acúmulo das PRps e a indução sistêmica do ácido salicílico (PASCHOLATI et al., 2010). Já na ISR, geralmente é induzida por rizobactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPRs), que apresentam certa especificidade em determinadas espécies de plantas (LOON; BAKKER; PIETERSE, 1998; PASCHOLATI et al., 2010). A sinalização não é salicilato dependente e não há acúmulo de PRps (LOON; BAKKER; PIETERSE, 1998). Contudo, tanto a SAR como a ISR apresentam respostas fenotípicas semelhantes, além de as respostas serem molecularmente interligadas e resultarem em amplo espectro de resistência a patógenos (PASCHOLATI et al., 2010).

As PRPs são proteínas de plantas que se acumulam rapidamente nos tecidos vegetais após o contato com patógenos ou em resposta ao tratamento com determinados compostos químicos ou a outros tipos de estresse (LOON et al., 1994). Representam um grupo de proteínas bastante amplo, que abrange famílias de proteínas com funções e características variadas (quitinases, glucanases, peroxidases, dentre outras) e podem ser induzidas por sinais endógenos ou exógenos à planta. A maioria das PRPs tem sua síntese ativada ou potencializada por indutores de resistência, conferindo amplo espectro de resistência a vários patógenos (CAVALCANTI, 2005). Localizam-se no espaço intercelular, no vacúolo e na parede celular e estão presentes em diversas espécies de plantas pertencentes a diferentes famílias. Muitas delas possuem atividade antimicrobiana e são excelentes marcadores moleculares para a resposta de resistência (HAMMERSCHMIDT; SMITH-BACKER, 1999). Essas proteínas apresentam propriedades físico-químicas típicas, como baixo peso molecular, estabilidade em meio ácido e resistência a proteases, uma vez que, nos locais para os quais elas são translocadas, encontram-se muitas enzimas com atividade de protease ácida (LOON, 1997). A avaliação temporal da expressão de PRPs em plantas tratadas com indutores (bióticos ou abióticos) é um excelente indicativo do seu efeito protetor e a durabilidade desse efeito, podendo, assim, estabelecer um cronograma de recomendação para a aplicação dos indutores (CAVALCANTI, 2005).

## **2.5 Mecanismos envolvidos na resposta de defesa**

### **2.5.1 $\beta$ -1,3-glucanases e quitinases**

Dentre as PRPs, as hidrolases, como as  $\beta$ -1,3-glucanases (EC 3.2.1.6) e quitinases (CHI; EC 3.2.1.14), são relatadas principalmente como inibidoras do

crescimento fúngico (LOON; STRIEN, 1999). As quitinases são proteínas antifúngicas que atuam hidrolisando a ligação  $\beta$ -1,4 glicosídica presente em biopolímeros de quitina, componente da parede celular de muitos fungos (BUNNER et al., 1998). Já as  $\beta$ -1,3-glucanases são enzimas que hidrolisam polímeros de  $\beta$ -1,3-glucana, compostos que também conferem resistência à parede celular dos fungos (CORNELISSEN; MELCHERS, 1993).

Na indução de resistência, quitinases e  $\beta$ -1,3-glucanases agem de forma conjunta. Uma pequena quantidade de  $\beta$ -1,3-glucanases é sintetizada e excretada para lamela média (espaço intercelular) e, com o crescimento fúngico neste espaço, essa enzima começa a degradar o tecido da parede celular do fungo e os fragmentos liberados pela ação da enzima funcionam como exoelicitores, induzindo a síntese de grande quantidade de quitinases e  $\beta$ -1,3-glucanases que são acumuladas nos vacúolos. A partir do momento em que o fungo consegue penetrar na célula, os vacúolos são rompidos e ocorre a liberação de grande quantidade dessas enzimas, reprimindo a ação do patógeno (MAUCH; STAEHELIN, 1989).

O acúmulo e a síntese destas duas enzimas em tecidos vegetais foram detectados em plantas de tomate, cacau, soja e café, estando associadas à resistência induzida contra *Xanthomonas vesicatoria*, *Crinipellis pernicioso*, *Phakopsora pachyrhizi* e *Hemileia vastatrix*, respectivamente (CAVALCANTI et al., 2006; COSTA et al., 2010; PEREIRA et al., 2009; GUZZO et al., 2004).

### 2.5.2 Peroxidases

As peroxidases (POX; EC 1.11.1.7) são outra importante classe de proteínas relacionadas à patogênese. São glicoproteínas secretadas no apoplasto que têm a função básica de reagir com compostos contendo o grupo hidroxila anexado a um anel aromático (HIRAGA et al., 2001). Apresentam um grande

número de isoformas e são conhecidas como enzimas de “função dupla”, pois são capazes de gerar peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) que lhes servirá de substrato (SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; PASCHOLATI, 2008). As peroxidases catalisam reações de um grande número de compostos, entre eles os fenóis. Como exemplo dessa oxidação, têm-se a do pirogalol, que produz a purpurogalina e a do catecol, que produz a *o*-benzoquinona. Usualmente, para se avaliar a atividade das peroxidases totais, usa-se o substrato guaiacol (*o*-metoxi fenol), que leva à formação do tetraguaiacol (HIRAGA et al., 2001). Essas enzimas também participam na biossíntese de etileno, na formação de lignina e no metabolismo de parede celular, além da defesa de plantas contra patógenos (LOON; STRIEN, 1999).

Na indução de resistência, as peroxidases são bastante estudadas devido à sua importância nos processos de defesa e, na maioria dos casos, o aumento na atividade está diretamente relacionado à redução da severidade da doença.

Em pesquisas foi evidenciada a expressão da peroxidase em diversos patossistemas, tais como eucalipto x *Puccinia psidii* (BOAVA et al., 2010), tomateiro x *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria* (CAVALCANTI; RESENDE; OLIVEIRA, 2007), feijoeiro x *Pseudocercospora griseola* (VIECELLI et al., 2010), cacaueteiro x *Moniliophthora perniciosa* (COSTA et al., 2010) e cafeeiro x *Cercospora coffeicola* (AMARAL et al., 2008; PEREIRA et al., 2008).

### 2.5.3 Polifenoloxidasas

As polifenoloxidasas (PPO) agrupam um conjunto de enzimas responsáveis pela catálise da reação de oxidação de polifenóis (*o*-difenois), transformando-os em quinonas (*o*-diquinonas), constituindo uma atividade de difenolases. Também podem catalisar a *o*-hidroxilação de monofenóis,

constituindo atividade de monofenóis (VAUGHN; DUQUE, 1984 citados por KUHN, 2007). A atividade da maioria das polifenoloxidasas quase sempre é maior nos tecidos infectados de variedades resistentes do que em plantas suscetíveis infectadas ou plantas sadias não infectadas. Conceitualmente, não é classificada como sendo PRp, porém, pelo fato de a atividade da PPO poder ser induzida por fatores abióticos e bióticos, tais como danos causados por herbívoros, fungos e infecções bacterianas, danos mecânicos, regurgitação de insetos e pelos tratamentos com compostos que sinalizam a via octadecanoide, é uma evidência adicional do envolvimento desta enzima em mecanismos de defesa das plantas (FARMER; RYAN, 1992; WARNER et al., 1995).

A importância da atividade das polifenoloxidasas na defesa das plantas a fitopatógenos, provavelmente, deve-se à sua propriedade de oxidar compostos fenólicos para quinonas, as quais são mais tóxicas aos microrganismos do que os fenóis originais, e à sua ação protetora no local do ferimento (TAIZ; ZEIGER, 2004). As polifenoloxidasas também participam do processo de lignificação durante a invasão pelo patógeno (JUNG et al., 2004). Uma maior atividade das polifenoloxidasas possivelmente incrementa as concentrações de produtos tóxicos resultantes da oxidação, aumentando, portanto, o grau de resistência à infecção (AGRIOS, 2005). Em estudo realizado por Peng et al. (2004) foi demonstrado que a indução do pepino com pectinases extraídas de *Penicillium oxalicum* contra *Cladosporium cucumerinum* reduziu em até 70% a severidade da doença, dependendo da dose, conferindo o aumento da atividade da PPO após 72 horas.

#### **2.5.4 Lignina e fenóis totais solúveis**

Outra importante molécula induzida é a lignina, que proporciona suporte mecânico e desempenha funções protetoras nos vegetais. Depois da celulose, a

substância orgânica mais abundante nas plantas é a lignina, um polímero do grupo dos fenilpropanoides altamente ramificado que apresenta funções primária e secundária (TAIZ; ZEIGER, 2004). A lignificação pode impedir o desenvolvimento do fungo nos tecidos vegetais de várias maneiras, como o estabelecimento de barreira mecânica ao avanço e o desenvolvimento do patógeno; a modificação da parede celular, tornando-a mais resistente ao ataque de enzimas hidrolíticas e o aumento da resistência das paredes à difusão de toxinas produzidas pelos patógenos, impedindo que os nutrientes do hospedeiro sejam utilizados pelo invasor (CAVALCANTI, 2005).

Os compostos fenólicos são metabólicos secundários provenientes da via metabólica do ácido shiquímico. Estes compostos apresentam diversas funções. Eles atuam como radicais livres, como inibidores de crescimento, como protetores das plantas ao estresse ambiental e, ainda, como mecanismo de defesa a pragas e doenças. As plantas podem sintetizar e acumular uma vasta gama destes metabólicos secundários em resposta a um estresse fisiológico. Contudo, a maior atenção é dada à investigação do comportamento dos fenóis no meio ambiente e na interação que pode ocorrer entre a planta e os seres vivos. Em muitas interações patógeno-hospedeiro são os fenóis sintetizados após a infecção que se relacionam com a resistência a doenças e não os fenóis pré-existentes (EVARISTO; LEITÃO, 2001).

Compostos fenólicos, que são produzidos rapidamente e se acumulam após a infecção, especialmente em variedades resistentes, são tóxicos aos patógenos. Os ácidos clorogênico, cafeico e ferrúlico são exemplos de alguns desses compostos. Algumas formas de fenóis podem ser convertidas em derivados com radicais de oxigênio, extremamente reativos, tornando-se muito tóxicos (HARTLEB et al., 1997 citados por CAMPOS et al., 2004). Os fenóis possuem, pelo menos, um anel benzênico, com um ou mais grupos hidroxila, livres ou substituídos. A biossíntese do anel benzênico é um dos processos

fundamentais da biologia, com significância fisiológica, genética, fitoquímica e ecológica para a planta (CAMPOS et al., 2004).

## **2.6 Indutores abióticos**

Há de se salientar que novas moléculas têm sido desenvolvidas, dando início a uma nova classe de defensivos denominada de ativadores de resistência em plantas. O mais conhecido no mercado é o análogo funcional do ácido salicílico, o acibenzolar-S-metil, o ASM, ou éster S-metil do ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazole-7 carbotioico, um composto derivado do benzotiadiazole (BTH) comercialmente conhecido por Bion<sup>®</sup> (Syngenta Proteção de Cultivos S.A.). Atualmente é o único produto registrado no Brasil como indutor de resistência, porém, ainda sem registro para a cultura do café. Em vários trabalhos foi demonstrada a utilização de produtos comerciais como ASM para promover a ativação da resistência de culturas economicamente importantes, como feijoeiro (KUHN; PASCHOLATI, 2010), eucalipto (BOAVA et al., 2010) e tomateiro (ARAÚJO; MENEZES, 2009; CAVALCANTI et al., 2006). Todavia, trabalhos foram realizados no intuito de testá-lo como um possível indutor de resistência na cultura do café e resultados promissores têm sido constatados.

Patricio et al. (2008) avaliaram o potencial do ASM, combinado ou não com fungicidas e antibióticos, no controle da cercosporiose e mancha-aureolada em mudas de cafeeiro, e o ASM, combinado com fungicidas que são aplicados convencionalmente no controle da ferrugem e mancha-de-phoma, em condições de campo. Estes autores observaram redução da severidade da cercosporiose em 34% e 55%, respectivamente, em mudas de cafeeiro pulverizadas com ASM nas doses de 2,5 e 5 g ia/100L e, quando aplicado nas doses de 2,5; 10 e 20 g ia/100L proporcionou redução na severidade da mancha-aureolada, variando de

38% a 55% de controle. O controle da mancha-aureolada proporcionado pelo ASM em mudas foi similar ao controle proporcionado por oxitetraciclina + estreptomicina, kasugamicina, oxitetraciclina + cobre metálico, oxiclreto de cobre e mancozeb + oxiclreto de cobre. Em experimento de campo, não foi verificado efeito sinérgico da combinação do ASM com azoxistrobina, ciproconazole ou fungicidas cúpricos. Em outro trabalho com mudas de cafeeiro, Guzzo et al. (2001) observaram a ação do ASM como indutor contra a ferrugem, constatando proteção local (controle de 97%) e sistêmica (controle de 94%). Este fato evidencia a capacidade de difusão equitativa do produto a partir do ponto de aplicação e ou pela ativação de mecanismos de resistência da plantas (resistência sistêmica adquirida, RSA) que impedem ou dificultam o estabelecimento e ou o desenvolvimento do patógeno, mesmo não havendo constatado efeito algum na fase de pré-penetração (germinação e formação do apressório).

Guzzo et al. (2004) observaram incremento nas atividades de quitinase e  $\beta$ -1,3-glucanase, proteínas de defesa expressas típicas da RSA, um dia após a aplicação foliar com ASM, as quais mantiveram-se altas até 35 dias após a aplicação, proporcionando redução na severidade da ferrugem em 60% a 80%. Nardi et al. (2006), utilizando-se das técnicas de PCR quantitativo em tempo real e de microarranjo, observaram que a pulverização com ASM em cafeeiro induziu a expressão de genes de defesa, típicos da resistência sistêmica adquirida. A principal resposta nas folhas foi a expressão de genes relacionados à explosão oxidativa e ao aumento de barreiras físicas e químicas, como glutationa-S-transferase, superóxido dismutase, peroxidase, quitinase e lipoxigenase.

O produto Agro-Mos<sup>®</sup>, constituído à base de um mananoligossacarídeo fosforilado proveniente da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* 1026 (Hansen), está registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e

Abastecimento como fertilizante foliar. Entretanto, tem sido amplamente pesquisado na proteção da videira contra o míldio (*Plasmopara viticola*) e oídio (*Uncinula necator*) (GOMES et al., 2007; ROSA et al., 2008), da goiabeira contra antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) em pós-colheita (SOARES-PESSOA et al., 2007) do cacauzeiro contra vassoura-de-bruxa (*Moniliophthora perniciosa*) (COSTA et al., 2010) e como um indutor de resistência, demonstrando eficiência no controle da antracnose do mamoeiro causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, proporcionando reduções na incidência da doença em torno de 70%, com níveis mais elevados nos tratamentos pós-colheita, coincidindo com o aumento da atividade da  $\beta$ -1,3-glucanases (DANTAS et al., 2004).

Outros possíveis ativadores de resistência utilizados no controle de doenças de plantas são os fosfitos. O termo fosfito é um nome genérico utilizado para sais de ácido fosforoso ( $H_3PO_3$ ). Estes sais mostram alta solubilidade, absorção rápida pelas plantas, significativa seletividade e translocação sistêmica (GUEST; GRANT, 1991). Fosfito é uma fonte pobre de fósforo (P) porque requer oxidação para ser metabolizado pela planta e compete com o fosfato pelos sítios de transportes (FORSTER et al., 1998; LOVATT; MIKKELSEN, 2006).

Os fosfitos estão sendo amplamente utilizados na agricultura, pois, apesar de serem registrados como fertilizantes foliares, aparentemente possuem modo de ação duplo no controle de doenças de plantas, agindo diretamente sobre patógenos e também indiretamente, induzindo respostas de defesa na planta (FENN; COFFEY, 1989; JACKSON et al., 2000; NOJOSA; RESENDE; RESENDE, 2005). São comercializado, há algum tempo, na forma de etil fosfonato (fosetyl-Al) e, recentemente, têm sido formulados com sais de manganês, cobre ou zinco, e recomendados para o controle de oomicetos e de

fungos causadores de podridões do colo, raiz, troncos e frutos (RESENDE et al., 2008; SÔNEGO; CZERMAINSKI, 2003).

A aplicação de produtos à base de fosfito tem proporcionado resultados expressivos na proteção de plantas de uva (PEREIRA et al., 2010; SÔNEGO; CZERMAINSKI, 2003), batata (LOBATO et al., 2010) e soja (SILVA et al., 2011), entre outras.

Em mudas de café, produtos contendo fosfitos foram eficazes no controle de *Phoma costarricensis*, reduzindo a severidade da doença, na dose 2,5mL/L e 5,0mL/L, em 60,18% e 63,40%, respectivamente (NOJOSA et al., 2009). Ribeiro Júnior (2008) observou que pulverizações de fosfitos de potássio, manganês e zinco em cafeeiros adultos, por dois anos consecutivos (de dezembro a julho), proporcionaram, em ano de alta produção, reduções de 30% e 25%, respectivamente, na severidade da ferrugem e da cercosporiose; no ano de baixa produção, reduções de 53% na severidade da ferrugem e 32% da cercosporiose. Como consequência, aumentos de 26% e 44% no enfolhamento das plantas foram detectados nos anos de alta e baixa produtividade, respectivamente. Utilizando pulverizações com fosfito de cobre, Toyota (2008) observou, em ano de baixa produção, redução de 81% na severidade da ferrugem, semelhante ao controle obtido com pulverizações de epoxiconazole + piraclostrobin.

Mudas de café inoculadas com *C. coffeicola* e pulverizadas com fosfitos de potássio, manganês e cobre apresentaram maior atividade das enzimas de defesa - peroxidases, quitinase e  $\beta$  1,3-glucanase - e também aumento no teor de fenóis solúveis totais (RIBEIRO JÚNIOR, 2008; TOYOTA, 2008).

## 2.7 Extratos vegetais na indução de resistência em plantas

Outra opção que pode ser utilizada no manejo de doenças de plantas que vem despertando o interesse dos especialistas da área é o uso de formulações à base de extratos vegetais possuidores de substâncias bioativas, capazes de atuar como indutores de resistência.

Os extratos vegetais são considerados como eliciadores bióticos (PASCHOLATI; LEITE, 1995), cuja eficiência no controle de fitopatógenos é observada em diversos patossistemas (GUZZO; MARTINS; MORAES, 1987; PEREIRA et al., 2008; VENTUROSUO; BACCHI; BAVASSONI, 2011).

No campo, esses produtos naturais podem ser utilizados no intuito de se reduzir o impacto da aplicação de fungicidas convencionais, sendo compatíveis com as técnicas utilizadas na agricultura orgânica. Por se tratarem de tecnologias mais limpas, a partir de matéria-prima reciclável existe a possibilidade de substituir paulatinamente a aplicação de fungicidas pelo uso dessas formulações, seja isoladamente ou combinadas/alternadas entre si.

Resende et al. (2006, 2007) solicitaram depósito de patente para formulação à base de extratos de folhas de café (*Coffea* spp.) e para formulação à base de cascas de frutos de café. Tais formulações, cuja principal matéria-prima reciclável é formada por folhas que caem ao solo (devido a doenças, à colheita de frutos, senescência e a outros estresses) e o subproduto do beneficiamento dos grãos (endocarpo, mesocarpo e exocarpo), podem ser utilizadas com ou sem espalhantes adesivos ou outros adjuvantes, para o controle de doenças em várias culturas.

Barguil et al. (2005), em um dos primeiros estudos com o extrato de folhas de café infectadas por *Hemileia vastatrix* (Efid), observaram redução de 38% na severidade da mancha foliar causada por *Phoma costarricensis*, quando comparada com a testemunha inoculada.

Em condições especiais de manejo da lavoura cafeeira, como na agricultura orgânica, a utilização de extratos indutores de resistência pode ser uma forma eficiente no controle das doenças foliares. Santos et al. (2007) demonstraram, em experimentos de campo, satisfatório controle da ferrugem, cercosporiose e mancha-de-phoma do cafeeiro, com tratamentos à base de Efid e de extratos de casca de frutos de café (Cfc). A incidência da ferrugem nos cafeeiros pulverizados com Efid e Cfc foi menor do que na testemunha pulverizada com água. O tratamento Efid proporcionou área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) 31% inferior ao observado na testemunha pulverizada com água, porém, o Cfc reduziu em 49% a AACPS da ferrugem. Constataram também que o tratamento Efid demonstrou menor incidência da mancha-de-phoma. A área abaixo da curva de progresso foi reduzida em 61%, comparada à testemunha pulverizada com água e cerca de 30% de redução em relação à testemunha pulverizada com Viça Café plus®.

Segundo Pereira et al. (2008), o extrato de casca de frutos de café (ECC), aplicado 7 dias antes da inoculação, proporcionou controle da cercosporiose em mudas de cafeeiro em 35%. Em ensaio com a utilização da microscopia eletrônica de varredura, foi observado que o ECC não afetou a germinação nem o desenvolvimento do tubo germinativo de conídios de *C. coffeicola*.

Amaral (2008) verificou que extratos de folhas de café naturalmente infectadas por *H. vastatrix* (Efid) e caídas no solo (Nefid) conferiram proteção em mudas de café contra *C. coffeicola*. Observou proteção de 52% para o ASM, 51% para a formulação de Efid e 42% para a formulação de Efid+ASM. Em outro experimento, em que duas pulverizações dos tratamentos foram realizadas, o mesmo autor observou que Nefid e Efid foram significativamente semelhantes entre si e também ao produto padrão utilizado, Viça Café, proporcionando maior proteção contra a cercosporiose, quando comparados à testemunha inoculada.

Em estudo realizado em cafeeiro convencional, Toyota (2008) avaliou o efeito da aplicação de extratos vegetais sobre a ferrugem. A adição do ASM ao extrato Efid e o Efid puro reduziram a severidade da doença em 52% e 26%, respectivamente, quando comparados à testemunha.

Diante do exposto, nota-se que estudos de resistência induzida em cafeeiro já apresentam resultados preliminares promissores. No entanto, a indução de resistência com a aplicação de formulações à base de extratos naturais e produtos comerciais, bem como a natureza das respostas bioquímicas de defesa de cafeeiros contra *H. vastatrix*, ainda necessitam de mais estudos.

### 3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A intensa utilização de pesticidas nas lavouras, além do alto custo, pode resultar em diversas alterações ecológicas, como desequilíbrio ambiental, contaminação do solo/água e seleção de pragas e patógenos resistentes. Ademais, a pressão exercida pela sociedade por uma produção de alimentos mais seguros e com qualidade ambiental tem exigido dos pesquisadores maior empenho em encontrar medidas alternativas de manejo fitossanitário, por meio de um modelo de sustentabilidade no qual se deve utilizar o mínimo de pesticidas possível e produtos de menor toxicidade para combater pragas e doenças. Para tanto, uma possível alternativa consiste na utilização de produtos comerciais como fertilizantes foliares e subprodutos abundantes na cadeia produtiva do café, como folhas e cascas de frutos. Buscam-se, então, alternativas, por meio de estudos de diferentes formulações à base de extratos, em diferentes patossistemas, com o objetivo de potencializar os efeitos destes extratos com efeito comprovado, como o caso da formulação Nefid.

Também há a necessidade de inovar a tecnologia de aplicação, combinações desses extratos vegetais com outros produtos, como indutores de resistência e micronutrientes, a fim de promover maior eficiência no controle de doenças. Além disso, é preciso estudar a associação destes produtos a fungicidas já utilizados na cafeicultura, por meio da aplicação alternada ou em mistura, visando à redução do número de aplicações destes pesticidas. Para pesquisas sobre resposta de defesa em cafeeiro, torna-se necessário ampliar o número de enzimas de defesa estudadas, bem como o estudo da expressão de genes que codificam para a síntese dessas enzimas.

## REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. New York: Academic, 2005. 922 p.
- AMARAL, D. R. **Formulações de extratos vegetais e micronutrientes na indução de resistência em mudas de cafeeiro contra *Cercospora coffeicola***. 2008. 92 p. (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.
- AMARAL, D. R. et al. Silicato de potássio na proteção do cafeeiro contra *Cercospora coffeicola*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 33, n. 6, p. 425-431, Nov./Dec. 2008.
- ARAÚJO, F. F.; MENEZES, D. Indução de resistência a doenças foliares em tomateiro por indutores biótico (*Bacillus subtilis*) e Abiótico (Acibenzolar-S-Metil). **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 35, n. 3, p. 169-172, 2009.
- ATHAYDE SOBRINHO C.; FERREIRA, P. T. O.; CAVALCANTI, L. S. C. Indutores abióticos. In: CAVALCANTI, L. S. et al. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 51-80.
- BARGUIL, B. M. et al. Effect of extracts from citric biomass, rusted coffee leaves and coffee berry husks on *Phoma costarricensis* of coffee plants. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 5, p. 535-537, set./out. 2005.
- BOAVA, L. P. et al. Atividade de quitinases e peroxidases em folhas de eucalipto em diferentes estágios de desenvolvimento após tratamento com acibenzolar-S-metil (ASM) e inoculação com *Puccinia psidii*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, n. 2, p. 124-128, 2010.
- BRUNNER, F. et al. Substrate specificities of tobacco chitinases. **Plant Journal**, Oxford, v. 14, n. 2, p. 225-234, Apr. 1998.
- CAMPOS, A. D. et al. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 7, p. 637-643, jul. 2004.

CAVALCANTI, F. R. **Resistência induzida a *Xanthomonas vesicatoria* em tomateiro e *Verticillium dahliae* em cacauero por extratos naturais:** caracterização bioquímica, fisiológica e purificação parcial de eliciadores protéicos. 2005. 192 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

CAVALCANTI, F. R. et al. Induced defence responses and protective effects on tomato against *Xanthomonas vesicatoria* by an aqueous extract from *Solanum lycopersicum* infected with *Crinipellis perniciosa*. **Biological Control**, Guildford, v. 39, n. 3, p. 408-417, Dec. 2006.

CAVALCANTI, F. R.; RESENDE, M. L. V.; OLIVEIRA, J. T. A. Peroxidases ativadas por frações protéicas de extrato biológico eficaz na proteção do tomateiro contra a mancha bacteriana. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 6, p. 507-511, nov./dez. 2007.

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

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira café safra 2011, segunda estimativa, maio/2011**. Disponível em:  
<[http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/2\\_levantamento\\_2011.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/2_levantamento_2011.pdf)>  
. Acesso em: 5 jun. 2011.

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

COSTA, J. B. et al. Indução de resistência em mudas de cacauero contra *Moniliophthora perniciosa* por produto à base de mananoligossacarídeo fosforilado. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 35, n. 5, p. 285-294, 2010.

COSTA, M. J. N.; ZAMBOLIM, L.; RODRIGUES, F. A. Avaliação de produtos alternativos no controle da ferrugem do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 1, p. 150-155, jan./fev. 2007.

DANTAS, S. A. F. et al. Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões pós-colheita. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 30, n. 3, p. 314-319, 2004.

DATNOFF, L. E.; SEEBOLD, K. W.; CORREA, F. J. Use of silicon for integrated disease management: reducing fungicide applications and enhancing host plant resistance. In: DATNOFF, L. E.; SNYDER, G. H.; KORNDORFER, G. H. (Ed.). **Silicon in agriculture**. Amsterdam: Elsevier Science, 2001. p. 171-184.

EVARISTO, I. M.; LEITÃO, M. C. Identificação e quantificação por DAD-HPLC, da fração fenólica contida em folhas de *Quercus suber* L.<sup>1</sup>. **Silva Lusitana**, Lisboa, v. 9, n. 2, p. 135-141, 2001.

FARMER, E. E.; RYAN, C. A. Octadecanoid precursors of jasmonic acid activate the synthesis of wound-inducible proteinase inhibitors. **Plant Cell**, Rockville, v. 4, n. 2, p. 129-134, Feb. 1992.

FENN, M. E.; COFFEY, M. D. Quantification of phosphonate and ethyl phosphate in tobacco and tomato tissues and significance for the mode of action of two phosphonate fungicides. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 79, n. 1, p. 76-82, Jan. 1989.

FORSTER, H. et al. Effect of phsphite on tomato and pepper plants and on susceptibility of pepper to Phytophthora root and crown rot in hydroponic culture. **Plant Disease**, Quebec, v. 82, n. 10, p. 1165-1170, Oct. 1998.

GODOY, C. V.; BERGAMIN FILHO, A.; SALGADO, C. L. Doenças do cafeeiro (*Coffea arabica* L.). In: KIMATI, H.; BERGAMINI FILHO, A.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p. 184-200.

GOMES, E. C. S. et al. Efeito de indutores de resistência na proteção de uva “Itália” e de vinho “Cabernet Sauvignon” contra oídio e o míldio na vale do São Francisco. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, p. S256, 2007. Suplemento.

GUEST, D.; GRANT, B. R. The complex action of phosphonates as antifungal agents. **Biological Review**, Victoria, v. 66, n. 2, p. 159-187, May 1991.

GUZZO, S. D. et al. Ação protetora do acibenzolar- S- methyl em plantas de cafeeiro contra ferrugem. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 68, n. 1, p. 89-94, jan./jun. 2001.

\_\_\_\_\_. Resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e indução local e sistêmica de quitinases e  $\beta$ -1,3- glucanases por acibenzolar-S-metil. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 30, n. 3, p. 376-381, 2004.

GUZZO, S. D.; MARTINS, E. M. F.; MORAES, W. B. C. Induced protection of coffee plants to *Hemileia vastatrix*: I., partial purification of the extracellular inducer from heat-killed urediniospores of the pathogen. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 4, p. 377-385, dez. 1987.

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

HAMMOND-KOSACK, K.; JONES, J. D. G. Responses to plant pathogens. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. (Ed.). **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville: American Society of Plant Biologists, 2000. p. 1102-1157.

HIRAGA, S. et al. A large family of class III plant peroxidases. **Plant Cell Physiology**, London, v. 42, n. 5, p. 462-468, 2001.

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. **Total production of exporting countries**. Disponível em: <<http://dev.ico.org/prices/po.htm>>. Acesso em: 20 jun. 2011.

JACKSON, T. J. et al. Action of the fungicide phosphite on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, Honolulu, v. 49, n. 1, p. 147-154, Feb. 2000.

JUNG, W. J. et al. Inoculation of *Paenibacillus illinoisensis* alleviates root mortality, activates of lignification-related enzymes, and induction of the isozymes in pepper plants infected by *Phytophthora capsici*. **Biological Control**, Orlando, v. 30, n. 3, p. 645-652, July 2004.

KESSMANN, H. et al. Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 32, p. 439-459, Sept. 1994.

KUHN, O. J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de produção**. 2007. 140 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiroz", Piracicaba, 2007.

KUHN, O. J.; PASCHOLATI, S. F. Custo adaptativo da indução de resistência em feijoeiro mediada pela rizobactéria *Bacillus cereus* ou acibenzolar-S-metil: atividade de enzimas, síntese de fenóis e lignina e biomassa. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 36, n. 2, p. 107-114, 2010.

LOBATO, M. C. et al. Antimicrobial activity of phosphites against different potato pathogens. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Stuttgart, v. 117, n. 3, p. 102-109, 2010.

LOON, L. C. van. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis related proteins. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 103, n. 9, p. 753-765, Dec. 1997.

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

LOON, L. C. van et al. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. **Plant Molecular Biology Reporter**, Athens, v. 12, n. 3, p. 245-264, 1994.

LOON, L. C. van; STRIEN, E. A. van. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 55, n. 2, p. 85-97, Aug. 1999.

LOVATT, C. J.; MIKKELSEN, R. L. Phosphite fertilizers: what are they?: can they do? **Better Crops**, Atlanta, v. 90, n. 4, p. 11-13, 2006.

MATIELLO, J. B. et al. Cultura de café no Brasil. In: MATIELLO, J. B. (Ed.). **Novo manual de recomendação**. Rio de Janeiro: MAPA/PROCAFÉ, 2002. p. 387.

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

MEDEIROS, F. C. L. et al. Defense gene expression induced by a coffee-leaf extract formulation in tomato. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 74, n. 2, p. 175-183, Apr. 2009.

MÉTRAUX, J. P. Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, n. 1, p. 13-18, Jan. 2001.

NARDI, B. et al. Differential responses of *Coffea arabica* L. leaves and roots to chemically induced systemic acquired resistance. **Genome**, Ottawa, v. 49, n. 12, p. 1594-1605, 2006.

NOJOSA, G. B. A. et al. Efeito de indutores de resistência em cafeeiro contra a mancha de Phoma. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 35, n. 1, p. 60-62, 2009.

NOJOSA, G. B. A.; RESENDE, M. L. V.; RESENDE, A. V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S. et al. (Org.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. v. 1, p. 139-153.

PASCHOLATI, S. F. et al. Resistência Sistêmica Adquirida (SAR) x resistência Sistêmica Induzida (ISR). In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA, 5., 2010, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2010. p. 29-40.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p. 365-392.

PATRÍCIO, F. R. A. et al. Effectiveness of acibenzolar-S-methyl, fungicides and antibiotics for the control of brown eye spot, bacterial blight, brown leaf spot and coffee rust in coffee. **Annual Applied Biology**, Warks, v. 152, n. 1, p. 29-39, 2008.

PENG, X. et al. Induced resistance to *Cladosporium cucumerinum* in cucumber by pectinases extracted from *Penicillium oxalicum*. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 32, n. 4, p. 377-387, Aug. 2004.

PEREIRA, R. B. **Extrato de casca de café e óleo de tomilho no controle de *Cercospora coffeicola* Berk & Cooke em cafeeiro**. 2006. 96 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

PEREIRA, R. B. et al. Extrato de casca de café, óleo essencial de tomilho e acibenzolar-S-metil no manejo da cercosporiose-do-cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 10, p. 1287-1296, out. 2008.

- PEREIRA, S. C. et al. Aplicação foliar de silício na resistência de soja à ferrugem e na atividade de enzimas de defesa. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, n. 3, p. 164-170, 2009.
- PEREIRA, V. F. et al. Produtos alternativos na proteção da videira contra o míldio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 1, p. 25-31, jan. 2010.
- POZZA, E. A. **Manejo integrado de doenças do cafeeiro**. Lavras: UFLA, 2004. 111 p.
- POZZA, E. A.; CARVALHO, L. V.; CHALFOUN, S. M. Sintomas de injúrias causadas por doenças em cafeeiro. In: GUIMARÃES, R. J.; MENDES, A. N. G.; BALIZA, D. P. (Ed.). **Semiologia do cafeeiro: sintomas de desordens nutricionais, fitossanitárias e fisiológicas**. Lavras: UFLA, 2010. p. 67-106.
- RESENDE, M. L. V. Indução de resistência na cafeicultura: perspectivas de uso. In: NÚCLEO DE ESTUDOS EM FITOPATOLOGIA. **Manejo fitossanitário da cultura do cafeeiro**. Brasília: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2008. v. 1, p. 25-35.
- RESENDE, M. L. V.; ISHIDA, A.K.N.; SANTOS, F.S.; AMARAL, D.R.; COSTA, J.C.B. **Composição para indução de resistência em plantas, a base de extratos de casca de frutos de café** (PI 0705598-6). 2007.
- RESENDE, M.L.V.; CAVALCANTI, F.R.; SANTOS, F.S.; AMARAL, D.R.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M. **Formulação para indução de resistência em plantas, a base de extrato vegetal obtido de folhas do cafeeiro** (PI 0603575-2). 2006
- RIBEIRO JÚNIOR, P. M. **Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola***. 2008. 107 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.
- RIDE, J. P. Cell walls and other structural barriers in defence. In: CALLOW, J. A. (Ed.). **Biochemical plant pathology**. New York: J. Wiley, 1983. p. 215-235.
- ROSA, R. C. T. et al. Efeito de produtos alternativos e de fungicidas no controle do míldio da videira. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 34, n. 3, p. 256-258, 2008.

RYALS, J. A. et al. Systemic acquired resistance. **The Plant Cell**, Rockville, v. 8, n. 10, p. 1809-1819, Oct. 1996.

SANTOS, F. et al. Efeito de extratos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 1, p. 59-63, jan./fev. 2007.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S. F. (Org.). **Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 227-248.

SERA, G. H. et al. Seleção para a resistência à ferrugem em progênies das cultivares de café IPR 99 e IPR 107. **Bragantia**, Campinas, v. 69, n. 3, p. 547-554, 2010.

SILVA, O. C. et al. Potassium phosphite for control of downy mildew of soybean. **Crop Protection**, Guildford, v. 30, n. 6, p. 598-604, June 2011.

SOARES-PESSOA, W. et al. Efeito do tratamento hidrotérmico associado a indutores de resistência no manejo da antracnose da goiaba em pós-colheita. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 20, n. 3, p. 129-135, jul./set. 2007.

SÔNEGO, O. R.; CZERMAINSKI, A. B. C. **Avaliação de fosfitos no controle do mildio da videira**. Bento Gonçalves: EMBRAPA Uva e Vinho, 2003. 14 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 11).

STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Proteção de plântulas de milho pipoca contra *Exserohilum turcicum* pelo uso de *Saccharomyces cerevisiae*. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 20, p. 16-21, 1994. Suplemento.

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

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

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

VARZEA, V. M. P. et al. Resistência do cafeeiro a *Hemileia vastatrix*. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **O estado da arte de tecnologias na produção de café**. Viçosa, MG: UFV, 2002. p. 297-320.

VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L. Antifungal activity of plant extracts on the development of plant pathogens. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.

VIECELLI, C. A. et al. Indução de resistência em feijoeiro a mancha angular por extratos de micélio de *Pycnoporus sanguineus*. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 36, n. 1, p. 73-80, 2010.

WARNER, L. A. et al. The phenylalanine ammonia-lyase gene family in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 27, n. 2, p. 327-338, Jan. 1995.

ZAMBOLIM, L. et al. Epidemiologia e controle integrado da ferrugem-do-cafeeiro. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **O estado da arte de tecnologias na produção de café**. Viçosa, MG: UFV, 2002. p. 369-450.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R. Estratégias múltiplas no manejo integrado de doenças do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 137-153, jan./fev. 2003.

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

**SEGUNDA PARTE – ARTIGOS**

**ARTIGO 1**

**Produtos alternativos na  
proteção do cafeeiro contra a ferrugem**

**Alternative products for the control of coffee leaf rust**

Preparado de acordo com as normas da Tropical Plant Pathology  
(versão preliminar)

Márcia Toyota, Mário L. V. de Resende, Pedro M. Ribeiro Júnior, Bruno H. G.  
Costa, Henrique C. B. Dias e Moisés A. de Pádua.

## RESUMO

Objetivou-se, neste trabalho, investigar o efeito de produtos alternativos como formulações à base de extratos vegetais e produtos comerciais como fertilizantes foliares no manejo da ferrugem do cafeeiro, em condições de campo. O ensaio foi instalado em área cultivada com cafeeiro Catuaí Vermelho IAC/144, com 4 anos, sob sistema convencional de produção, no período de 2008 a 2010. Os produtos utilizados foram: extrato aquoso de folha de café com ferrugem (Nefid), extrato aquoso de casca de fruto de café (Ecfc), acibenzolar-S-metil (ASM), fosfito de cobre, mananoligossacarídeo fosforilado proveniente da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*, Viça-Café plus<sup>®</sup> e testemunha sem aplicação. Foi utilizado também um fungicida (ciproconazol + azoxistrobina). Foram realizadas pulverizações mensais dos produtos, à exceção do fungicida, que foi pulverizado duas vezes a cada ano. No ano de 2009, os extratos vegetais Nefid e Ecfc, o mananoligossacarídeo fosforilado e o fosfito de cobre reduziram a severidade da ferrugem em 30%, 29%, 22% e 20%, respectivamente. Em 2010, Ecfc, Nefid, fosfito de cobre e mananoligossacarídeo fosforilado proporcionaram redução na severidade da ferrugem de 40%, 40%, 36%, 26%, respectivamente. Os tratamentos ASM e Viça-Café plus<sup>®</sup> não apresentaram controle da ferrugem do cafeeiro.

Palavras-chave: *Coffea arabica*, *Hemileia vastatrix*, extratos vegetais, produtos alternativos.

## ABSTRACT

The aim of this work was to examine the effect of alternative products, such as formulations based on plant extracts and commercial products such as foliar fertilizers, on the management of coffee leaf rust in the field. The experiment was carried out in an area cultivated with Catuai IAC/144 red coffee with 4 years of age under conventional coffee production systems during 2008 to 2010. The products utilized were: aqueous extract of coffee leaves with symptoms of leaf rust (Nefid), aqueous extract of coffee berry husk (Efcf); *acibenzolar S-methyl* (ASM); copper phosphite, phosphorylated mannanoligosaccharide from cellular walls of the *Saccharomyces cerevisiae*; Viça-Café plus<sup>®</sup>, a control treatment without spraying, and a fungicide (cyproconazol+ azoxystrobin). The applications were conducted monthly, except for the fungicide, which was sprayed twice a year. In 2009, the plant extracts Nefid and Efcf, phosphorilade mannanoligosaccharide and copper phosphite decreased the severity of leaf rust by 30%, 29%, 22% and 20%, respectively. These percentages are lower than the percentage from the fungicide, 93%. In 2010, the Efcf, Nefid, copper phosphite and phosphorylated mannanoligosaccharide caused a decrease in the severity of leaf rust by 40%, 40%, 36%, and 26%, respectively, while the fungicide had 93% control. The ASM and Viça-Café plus<sup>®</sup> treatments were ineffective in controlling coffee leaf rust.

Keywords: *Coffea arabica*, *Hemileia vastatrix*, plant extracts, alternative products.

## INTRODUÇÃO

A ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) é considerada a principal doença do cafeeiro. Quando não controlada adequadamente, pode causar severa desfolha, comprometendo a produção do cafeeiro (Zambolim et al., 1997).

O manejo da ferrugem é baseado, principalmente, em aplicações de fungicidas protetores e/ou sistêmicos. Entretanto, na decisão sobre o seu uso, devem ser levados em consideração vários fatores, entre eles o alto custo para o produtor, além do impacto que pode causar ao homem e ao meio ambiente (Zambolim et al., 2002). Além disso, a agricultura moderna prioriza o uso de produtos ecologicamente mais seguros, que sejam compatíveis com a qualidade ambiental visada no manejo sustentável e a saúde dos trabalhadores rurais e consumidores.

Formulações à base de extratos vegetais têm demonstrado eficiência no controle de fitopatógenos em diversas culturas, como cafeeiro contra mancha-de-phoma (Barguil et al., 2005); na cultura da mandioca, contra murcha bacteriana (Kuhn et al., 2006) e em cacaueteiro, contra vassoura-de-bruxa (Resende et al., 2007). Por sua vez, produtos disponíveis no mercado, como indutores de resistência e fertilizantes foliares, demonstraram ser promissores na proteção de plantas contra doenças. A utilização de fosfitos e acibenzolar-S-metil (ASM) reduziu a intensidade da doença em diversos patossistemas, como cafeeiro-*Phoma costaricensis* (Nossoja, et al., 2009), videira-*Plasmopara viticola* (Pereira et al., 2010) e soja-*Peronospora manshurica* (Silva et al., 2011). Da mesma maneira, mananoligossacarídeo fosforilado proveniente da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* foi utilizado no controle de doenças, como míldio em videira (Rosa et al., 2008), mancha-aquosa em meloeiro (Cabral et al., 2010) e vassoura-de-bruxa em cacaueteiro (Costa et al., 2010).

Diante disso, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a eficiência de formulações à base de extratos vegetais e produtos comerciais na proteção do cafeeiro contra a ferrugem sob condições de campo, em três anos de avaliação.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em área experimental da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG, com cafeeiro da cultivar Catuaí Vermelho IAC/144 suscetível à ferrugem, plantado em espaçamento de 3,5 m x 0,7 m, com 4 anos de idade, sob o sistema convencional de produção. O experimento foi conduzido nos anos de 2008 a 2010 e recebeu os devidos tratos culturais e adubações inerentes ao seu sistema de cultivo. A adubação aplicada foi recomendada com base nas análises de solo e em critérios de interpretação dos níveis de fertilidade propostos pela 5ª aproximação das recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais (Guimarães et al., 1999).

Os tratamentos utilizados no experimento foram: extrato aquoso de folha de café com ferrugem (Nefid); extrato aquoso de casca de fruto de café (Ecfc); acibenzolar-S-metil (ASM) (0,05 g L<sup>-1</sup>), da Syngenta Proteção de Cultivos; fosfito de cobre - Fulland<sup>®</sup>, da Sudoeste Fertilizantes Ltda. (5 mL L<sup>-1</sup> e 10 mL L<sup>-1</sup>); mananoligossacarídeo fosforilado, proveniente da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* - AgroMos<sup>®</sup> da Improcop do Brasil Ltda. (5 mL L<sup>-1</sup> e 10 mL L<sup>-1</sup>); fertilizante foliar Viça-Café plus<sup>®</sup>, da Café Brasil Insumos Agrícolas Ltda. (7 g L<sup>-1</sup>) e testemunha sem aplicação. Foi utilizado também o fungicida ciproconazol + azoxistrobina - PrioriXtra<sup>®</sup>, da Syngenta Proteção de Cultivos Ltda. (0,5 L ha<sup>-1</sup>). As formulações à base de extratos de folhas de café (Resende et al., 2006) e de cascas de frutos de café (Resende et al., 2007) estão sob sigilo de patente.

As pulverizações dos tratamentos foram realizadas mensalmente, durante todos os anos de duração do experimento, com exceção do tratamento com fungicida, que foi pulverizado duas vezes (dezembro e fevereiro), a cada ano. Nas pulverizações foi utilizado pulverizador costal manual com volume de calda variando de 300 L ha<sup>-1</sup> a 500 L ha<sup>-1</sup>, de acordo com o desenvolvimento do cafeeiro. Em todas as pulverizações foi adicionado o óleo mineral parafínico a 0,5% do volume de calda.

A intensidade da ferrugem foi avaliada mensalmente, coletando-se dados de severidade utilizando-se escala diagramática preconizada por Cunha et al. (2001), avaliando-se o segundo ou o terceiro par de folhas em seis ramos plagiotrópicos, no terço médio dos cafeeiros, em amostragem não destrutiva. A incidência da ferrugem foi estimada a partir do número de folhas com lesões, dividido pelo número total de folhas avaliadas. Os índices médios de incidência e severidade observados foram transformados em área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) e da severidade (AACPS), determinada pela equação proposta por Shaner & Finney (1977). Os efeitos dos tratamentos também foram comparados por meio das curvas de progresso das intensidades da doença ao longo do tempo.

O acompanhamento do enfolhamento do cafeeiro também foi realizado, ocorrendo 90 dias após a colheita, de acordo com a escala diagramática preconizada por Boldini (2002), estabelecendo notas de 1 a 5, representando 0% a 20%, 21% a 40%, 41% a 60%, 61% a 80% e 81% a 100% de enfolhamento, respectivamente.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com quatro repetições e parcela experimental composta por dez plantas, considerando-se as seis plantas centrais como parcela útil. Os valores de AACPI, AACPS e enfolhamento foram submetidos à análise de variância. As variáveis

significativas no teste F foram submetidas ao teste de Scott Knott, a 5% de significância.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

No primeiro ano do experimento (2008), não houve diferença significativa entre os tratamentos em relação à incidência e severidade da doença. No ano de 2009, constatou-se que todos os tratamentos foram semelhantes à testemunha na redução da incidência da doença quanto à área abaixo da curva de progresso da incidência (Figura 1 A). Os extratos Nefid e Ecfc, e os produtos AgroMos<sup>®</sup>, na dose de 5 mL L<sup>-1</sup> e Fulland<sup>®</sup>, na dose de 10 mL L<sup>-1</sup>, foram iguais entre si, apresentando um controle intermediário da doença quanto a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS). A AACPS foi reduzida em 30%, 29%, 22% e 20%, respectivamente, quando comparados à testemunha (Figura 1B). As pulverizações com os demais tratamentos mostraram menor eficiência em reduzir a severidade da ferrugem (Figura 1B).

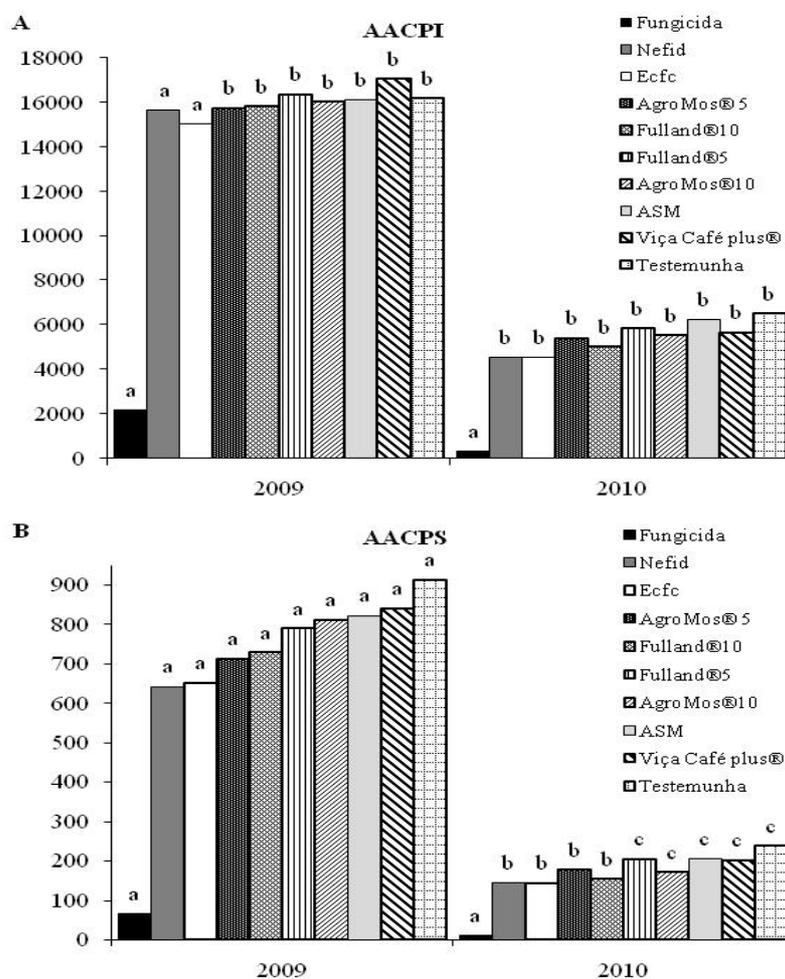


Figura 1 Efeito dos tratamentos sobre a área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) (A) e da severidade (AACPS) da ferrugem do cafeeiro cv Catuaí Vermelho IAC/144, nos anos de 2009 e 2010. Tratamentos: fungicida (ciproconazol + azoxistrobina), Ecfc (extrato aquoso de casca de fruto de café), Nefid (extrato aquoso de folha de café com ferrugem), Fulland® 10 e 5 (fosfito de cobre nas doses 10 mL L<sup>-1</sup> e 5 mL L<sup>-1</sup>), AgroMos® 10 e 5 (mananoligossacarídeo fosforilado nas doses 10 mL L<sup>-1</sup> e 5 mL L<sup>-1</sup>), ASM (acibenzolar-S-metil) e testemunha. Médias seguidas pelas mesmas letras, no mesmo ano de avaliação, não diferem, pelo teste de Scott & Knott ( $P \leq 0,05$ )

No ano seguinte, 2010, o efeito dos tratamentos na área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) foi similar ao observado no ano de 2009 (Figura 1 A). Semelhante também em relação à AACPS do ano anterior, com exceção do produto AgroMos<sup>®</sup>, na dose de 10 mL L<sup>-1</sup>, que apresentou controle intermediário, não diferindo dos extratos Ecfc, Nefid e dos produtos Fulland<sup>®</sup>, na dose de 10 mL L<sup>-1</sup> e AgroMos<sup>®</sup>, na dose de 5 mL L<sup>-1</sup>. Ecfc, Nefid, Fulland<sup>®</sup>, na dose de 10 mL L<sup>-1</sup> e AgroMos<sup>®</sup>, nas doses de 10 e 5 mL L<sup>-1</sup>, promoveram reduções na AACPS da ferrugem de 40%, 40%, 36%, 28% e 26. Os tratamentos Viça Café plus<sup>®</sup>, ASM e Fulland<sup>®</sup>, na dose de 5 mL L<sup>-1</sup>, não proporcionaram redução na severidade da doença, quando comparados à testemunha (Figura 1A).

Avaliando-se a intensidade da ferrugem de forma acumulada, nos três anos de avaliação (2008, 2009 e 2010), observou-se que os extratos vegetais (Nefid e Ecfc) e o Fulland<sup>®</sup>, na dose de 10 mL L<sup>-1</sup>, foram capazes de reduzir a AACPI da ferrugem do cafeeiro (Figura 2A). Além desses tratamentos, o AgroMos<sup>®</sup>, na dose de 5 mL L<sup>-1</sup>, também reduziu a AACPS (Figura 2B). Entretanto, todos os tratamentos reduziram a AACPS, quando comparados com a testemunha (Figura 2B).

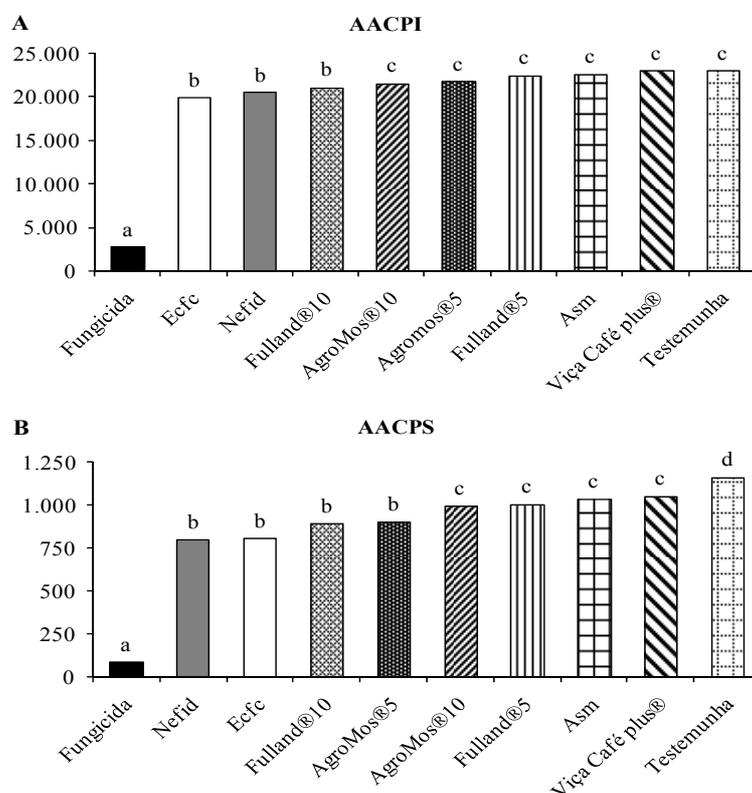


Figura 2 Efeito dos tratamentos sobre a área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) (A) e da severidade (AACPS) (B) da ferrugem do cafeeiro cv Catuaí Vermelho IAC/144, em três anos de avaliação. Fungicida (ciproconazol + azoxistrobina), Ecfc (extrato aquoso de casca de fruto de café), Nefid (extrato aquoso de folha de café com ferrugem), Fulland®10 e 5 (fosfito de cobre nas doses 10 mL L<sup>-1</sup> e 5 mL L<sup>-1</sup>), AgroMos®10 e 5 (mananoligossacarídeo fosforilado nas doses 10 mL L<sup>-1</sup> e 5 mL L<sup>-1</sup>) e ASM (acibenzolar-S-metil). Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem, pelo teste de Scott & Knott (P≤0,05)

Há relatos sobre a eficiência de formulações à base de extratos de folhas e de casca de frutos de café contra doenças do próprio cafeeiro e também do tomateiro (Pereira et al, 2008; Medeiros et al., 2009). Santos et al. (2007), em primeiros estudos dos precursores dos extratos Nefid e Ecfc, denominados Efid e

Cfc, respectivamente, para ferrugem, cercospora e mancha-de-phoma, sob condições de campo em cafeeiro orgânico, obtiveram resultados semelhantes. A incidência da ferrugem nos cafeeiros pulverizados com os extratos foi menor do que na testemunha. O tratamento Efid proporcionou AACPS da ferrugem, 31% inferior ao observado na testemunha. O Cfc reduziu em 49% a AACPS da ferrugem, o que foi observado no presente trabalho, cuja redução proporcionada pelos extratos foi, em média, de 35% na AACPS, nos dois últimos anos avaliados. Toyota (2008) verificou que o uso do extrato Efid também reduziu em 23% a severidade desta doença em cafeeiro, em condição de campo.

Os extratos de tecidos do cafeeiro são ricos em compostos fenólicos (Ramirez, 1987) que são capazes de disparar reações de defesa do vegetal contra fatores externos (Pascholati et al., 1994). O efeito do extrato de folhas de cafeeiro infectadas por ferrugem (Nefid) na redução da intensidade da ferrugem está de acordo com estudos realizados por Guzzo et al. (1987) que supõem a presença de eliciadores envolvidos em respostas de defesa da planta derivados de tecido do cafeeiro infectado por *H. vastatrix*. Medeiros et al. (2009) observaram que o Nefid foi eficiente no controle da mancha bacteriana em tomateiro e comprovaram a capacidade do extrato em induzir a expressão de genes responsável por várias respostas de defesa na planta com potencial de ação contra múltiplos patógenos.

A redução da severidade da ferrugem pelo fosfíto de cobre (Fulland<sup>®</sup>) observada no presente estudo confirma o efeito verificado no míldio da videira, pois este produto proporcionou controle intermediário do míldio nas folhas e em cachos de videira (Pereira et al., 2010). Em cafeeiro cv. Rubi, em condição de campo, a pulverização com Fulland<sup>®</sup>, na dose 10 mL L<sup>-1</sup>, reduziu a severidade da ferrugem em 81%, quando comparado à testemunha e apresentou controle semelhante ao do fungicida (epoxiconazol + piraclostrobina). Este mesmo produto, aplicado na dose de 5 mL L<sup>-1</sup>, obteve controle inferior ao do fungicida,

entretanto, diferiu da testemunha sem pulverização (Toyota, 2008). No presente estudo, o fosfito de cobre, na dose de 10 mL L<sup>-1</sup>, foi capaz de reduzir a severidade da doença em 20% e 36%, nos anos de 2009 e 2010, respectivamente, quando comparado à testemunha, sendo um controle satisfatório para as condições de campo. Existem muitos estudos com fosfitos relacionados ao controle de doenças de plantas. Em cafeeiro, trabalhos demonstraram a eficiência de outros sais de fosfito no controle de doenças, como fosfito de potássio controlando mancha-de-phoma (Nojosa et al., 2009), fosfito de zinco, potássio e manganês no controle de ferrugem e cercosporiose (Ribeiro Junior, 2008) e associação dos extratos Nefid e Ecfc com fosfito de cobre e de manganês na redução da severidade de ferrugem (Monteiro, 2011).

O AgroMos<sup>®</sup> já vem sendo utilizado no manejo de doenças em diversas culturas com resultados expressivos, porém, em cafeeiro, é praticamente inexistente. Toyota (2008), em um dos primeiros experimentos realizados em condições de campo, observou que o produto, na dose 5 mL L<sup>-1</sup>, apresentou controle intermediário da doença, reduzindo em 33% a severidade, comparado à testemunha. O efeito do AgroMos<sup>®</sup> na redução da severidade da ferrugem no presente estudo foi, em média, de 24% em relação à testemunha.

O tratamento com ASM, apesar de apresentar menor incidência da doença no primeiro ano avaliado, não apresentou efeito protetor nas demais avaliações em que houve maior intensidade da ferrugem, resultado que concorda com o de outros trabalhos (Soares et al., 2004; Pereira et al., 2010). Nem sempre o efeito de um composto químico, obtido em laboratório, corresponde à sua performance em campo, devido à decomposição do produto em compostos pouco tóxicos, lavagem pela chuva e cobertura desuniforme na folhagem (Costa et al., 2007). A baixa eficiência dos produtos testados pode estar relacionada ao número de pulverizações realizadas neste experimento.

Em relação ao enfolhamento do cafeeiro no ano de 2008, não se observaram diferenças significativas entre os tratamentos. No ano de 2009, houve diferença significativa entre os tratamentos (Figura 3), tendo a percentagem de enfolhamento sido maior em cafeeiros pulverizados com o fungicida Fulland<sup>®</sup>, nas duas doses testadas e Nefid, com aumento de 36%, 34%, 24% e 20%, respectivamente, em relação à testemunha (Figura 3). Em 2010, para todos os tratamentos, foi observado um enfolhamento médio superior ao do ano de 2009. Para o tratamento com Fulland<sup>®</sup>, na dose de 10 mL L<sup>-1</sup> e AgroMos<sup>®</sup>, na dose de 10 mL L<sup>-1</sup> e do extrato Nefid no enfolhamento do cafeeiro (Figura 3), observou-se aumento de 13%, 10% e 8%, respectivamente, em relação à testemunha. Os demais tratamentos não diferiram entre si e nem da testemunha (Figura 3).

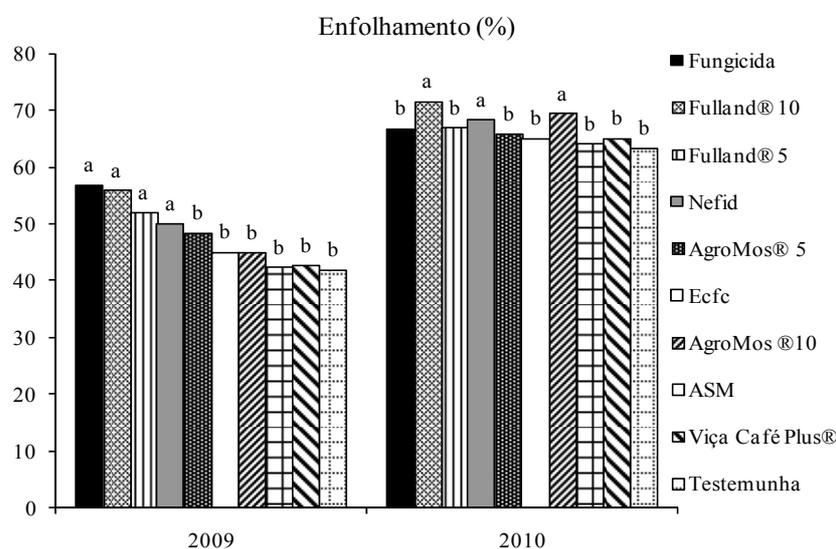


Figura 3 Efeito dos tratamentos no enfolhamento (%) do cafeeiro cultivar Catuai Vermelho IAC/144, 90 dias após a colheita, para cada ano (2009 e 2010). Fungicida (ciproconazol + azoxistrobina), Ecfc (extrato aquoso de casca de fruto de café), Nefid (extrato aquoso de folha de café com ferrugem), Fulland®10 e 5 (fosfito de cobre nas doses 10 mL L<sup>-1</sup> e 5 mL L<sup>-1</sup>), AgroMos®10 e 5 (mananoligossacarídeo fosforilado nas doses 10 mL L<sup>-1</sup> e 5 mL L<sup>-1</sup>); ASM (acibenzolar-S-metil). Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem, pelo teste de Scott & Knott (P≤0,05)

De acordo com os resultados apresentados, provavelmente, no primeiro ano de avaliação, não houve diferença significativa para enfolhamento e intensidade da doença entre os tratamentos, devido aos tratos culturais dados no ano anterior, antes de iniciados os trabalhos na área. Além disso, essa baixa intensidade da ferrugem no cafeeiro pode estar relacionada à baixa carga pendente, pois o cafeeiro ainda estava em formação.

No ano seguinte, a carga pendente alta, resultado de uma força maior de dreno para os frutos, aliada à alta pressão de inóculo na área, fez com que ocorresse maior grau de desfolha nas plantas em relação ao ano anterior.

Os produtos e os extratos estudados neste trabalho são considerados indutores de resistência, possuindo proteção contra amplo espectro de patógenos. Assim, esses produtos, provavelmente, podem ter atuado na proteção do cafeeiro contra outras doenças que não foram avaliadas, como cercosporiose e mancha-de-phoma, resultando em menor desfolha do cafeeiro.

Nas condições experimentais adotadas, os resultados indicam que pulverizações mensais dos extratos Nefid e Ecfc, dos fertilizantes foliares Fulland<sup>®</sup>, na dose de 10 mL L<sup>-1</sup> e AgroMos<sup>®</sup>, na dose de 5 mL L<sup>-1</sup>, promoveram redução na severidade da ferrugem do cafeeiro, mesmo apresentando nível de controle inferior ao fungicida e podem representar uma ferramenta importante no manejo integrado dessa doença, em condições nas quais o uso do fungicida seja restrito. Mais estudos com esses extratos e fertilizantes foliares devem ser realizados, reduzindo o número de aplicações, pulverizando-os em mistura com outros produtos ou de forma alternada com fungicidas. Devem ser realizados também estudos avaliando o efeito desses extratos e fertilizantes em outras doenças do cafeeiro, como mancha-de-phoma e cercosporiose, dentre outras.

### **AGRADECIMENTOS**

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro e a concessão da bolsa de estudos; ao setor de Cafeicultura da Universidade Federal de Lavras, por disponibilizar a área experimental e ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnológica do Café (INCT - Café), pelo apoio na condução do experimento.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barguil BM, Resende MLV, Resende RS, Beserra Junior JEA, Salgado SL (2005) Effect of extracts from citric biomass, rusted coffee leaves and coffee berry husks on *Phoma costarricensis* of coffee plants. *Fitopatologia Brasileira* 30(5):535-537.
- Boldini JM (2002) Epidemiologia da ferrugem e da cercosporiose em cafeeiro irrigado e fertirrigado. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras. Lavras.
- Cabral CP, Gama MAS, Alexandre ER, Mariano RLR, Silveira EB (2010) Efeito de acibenzolar-S-metil, mananoligossacarídeo e bioflavonóides cítricos no controle da mancha-aquosa e no crescimento do meloeiro. *Tropical Plant Pathology* 35(2):119-123.
- Costa JB, Resende MLV, Ribeiro Júnior PM, Camilo FR, Monteiro ACA, Pereira RB (2010) Indução de resistência em mudas de cacaueteiro contra *Moniliophthora perniciosa* por produto à base de mananoligossacarídeo fosforilado. *Tropical Plant Pathology* 35(5):285-294.
- Costa MJN, Zambolim L, Rodrigues FA (2007) Avaliação de produtos alternativos no controle da ferrugem do cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira* 32(1):150-155.
- Cunha RL, Pozza EA, Dias WP, Barretti PB (2001) Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para avaliar a severidade da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do cafeeiro. In: Simpósio brasileiro de pesquisas dos cafês do Brasil, 2., 2001, Vitória. Resumos... Brasília. Embrapa. pp.77-78.
- Guimarães PTG, Garcia AWR, Venegas VHA, Prezotti LC, Viana AS, Miguel AS, Malavolta E, Corrêa JB, Lopes AS, Nogueira FD, Monteiro AVC, Oliveira JA (1999) Cafeeiro. In: Ribeiro AC, Guimarães PTG, Venega VHA (Ed.). *Recomendações para uso de corretivos e fertilizantes em Minas Gerais: 5ª aproximação*. Viçosa MG. CFSEMG. pp. 289-302.
- Guzzo SD, Martins EMF, Moraes WBC (1987) Induced protection of coffee plants to *Hemileia vastatrix*: I., partial purification of the extracellular inducer from heat-killed urediniospores of the pathogen. *Fitopatologia Brasileira* 12(4):377-385.

Kuhn OJ, Portz RL, Stangarlin JR, Del Águila RM, Schwan-Estrada KRF, Franzener G (2006) Efeito do extrato aquoso de cúrcuma (*Curcuma longa*) em *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. Semina: Ciência Agrária 27:13-20.

Kushalappa AC, Eskes AB (1989) Advances in coffee rust research. Annual Review Phytopathology 27(1):503-531.

Medeiros FCL, Resende MLV, Medeiros FHV, Zhang HM, Pará PW (2009) Defense gene expression induced by a coffee-leaf extract formulation in tomato. Physiological and Molecular Plant Pathology 74(2):175-183.

Monteiro ACA (2011) Associação de indutores de resistência para o manejo da ferrugem do cafeeiro e análise bioquímica da resposta de defesa induzida. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Nojosa GBA, Resende MLV, Barguil BM, Moraes SRG, Vilas-Boas CH (2009) Efeito de indutores de resistência em cafeeiro contra a mancha de Phoma. Summa Phytopathologica 35(1):60-62.

Pascholati SF, Leite B (1994) Mecanismos bioquímicos de resistência às doenças. Revisão Anual de Patologia de Plantas 2:1-51.

Pereira RB, Alves E, Ribeiro Júnior PM, Resende MLV, Lucas GC, Ferreira JB (2008) Extrato de casca de café, óleo essencial de tomilho e acibenzolar-S-metil no manejo da cercosporiose-do-cafeeiro. Pesquisa Agropecuária Brasileira 43:1287-1296.

Pereira VF, Resende MLV, Monteiro ACA, Ribeiro Júnior PM, Regina MA, Medeiros FCL (2010) Produtos alternativos na proteção da videira contra o míldio. Pesquisa Agropecuária Brasileira 45(1):25-31.

Ramirez J (1987) Compuestos fenólicos em la pulpa de café: cromatografía de papel da pulpa fresca de 12 cultivares de *Coffea arabica* L. Turrialba 37:317-323.

Resende, M.L.V.; Cavalcanti, F.R.; Santos, F.S.; Amaral, D.R.; Ribeiro Júnior, P.M. Formulação para indução de resistência em plantas, a base de extrato vegetal obtido de folhas do cafeeiro (PI 0603575-2). 2006.

Resende ML, Costa JCB, Cavalcanti FR, Ribeiro Júnior PM, Camilo FR (2007) Seleção de extratos vegetais para indução de resistência e ativação de respostas de defesa em cacaueteiro contra a vassoura-de-bruxa. *Fitopatologia Brasileira* 32:213-221.

Resende, M.L.V.; Ishida, A.K.N.; Santos, F.S.; Amaral, D.R.; Costa, J.C.B. Composição para indução de resistência em plantas, a base de extratos de casca de frutos de café (PI 0705598-6). 2007.

Ribeiro Júnior PM (2008) Fosfitos na proteção e na indução de resistência do cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola*. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Rosa RCT, Cavalcanti VALB, Coelho RSB, Paiva JE (2008) Efeito de produtos alternativos e de fungicidas no controle do míldio da videira. *Summa Phytopathologica* 34(3):256-258.

Santos FS, Souza PE, Resende MLV, Pozza EA, Miranda JC, Ribeiro Júnior PM, Manerba FC (2007) Efeito de extratos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. *Fitopatologia Brasileira* 32:59-63.

Shaner G, Finney RE (1977) The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. *Phytopathology* 70(80):1183-1186.

Silva OC, Santos HAA, Dalla Pria M, May-de Mio LL (2011) Potassium phosphite for control of downy mildew of soybean. *Crop Protection* 30:598-604.

Soares RM, Maringoni AC, Lima GPP (2004) Ineficiência de acibenzolar-S-methyl na indução de resistência de feijoeiro à murcha-de-Curtobacterium. *Fitopatologia Brasileira* 29:373-377.

Toyota M (2008) Extratos vegetais e produtos comerciais no manejo da ferrugem e nos mecanismos de defesa do cafeeiro à cercosporiose. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Zambolim L, Vale FXR, Costa H, Pereira AA, Chaves GM (2002) Epidemiologia e controle integrado da ferrugem-do-cafeeiro. In: Zambolim L. (Ed.). O estado da arte de tecnologias na produção de café. Viçosa MG. UFV. pp. 369-450.

Zambolim L, Vale FXR, Pereira AA, Chaves GM (1997) Café (*Coffea arabica* L.), controle de doenças causadas por fungos, bactérias e vírus. In: Vale FXR, Zambolim L (Ed.). Controle de doenças de plantas. Viçosa MG. Suprema. pp. 83-180.

**ARTIGO 2**

**Proteção do cafeeiro contra *Hemileia vastatrix* por indutores de resistência  
bióticos e abióticos**

Preparado de acordo com as normas da revista Pesquisa Agropecuária Brasileira  
(versão preliminar)

Márcia Toyota, Mário Lúcio V. Resende, Pedro M. Ribeiro Júnior, Ana Cristina  
A. Monteiro, Lívia M Pereira, Vanessa F. Pereira, Thaís C. T. Valente, Joyce A.  
G. da Silva

## RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a eficiência de produtos alternativos na proteção de mudas de cafeeiro contra a ferrugem e caracterizar alguns mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta de defesa da planta. Para o controle da doença, os tratamentos utilizados foram: produtos à base de extrato aquoso de folha de café com ferrugem (Nefid) e extrato aquoso de casca de fruto de café (Ecfc), manano-oligossacarídeos fosforilados, nas doses de 5 mL L<sup>-1</sup> e 10 mL L<sup>-1</sup>, fosfito de cobre, nas doses de 5 mL L<sup>-1</sup> e 10 mL L<sup>-1</sup>, acibenzolar-S-metil, Viça-Café plus<sup>®</sup> e fungicida (ciproconazol + azoxistrobina), além de testemunha inoculada. Verificou-se que o extrato Nefid e o produto à base de fosfito de cobre, na dose 10 mL L<sup>-1</sup>, conferiram proteção intermediária às mudas de cafeeiro em relação à testemunha. Em plantas tratadas com Nefid, Fulland<sup>®</sup> e ASM, observou-se aumento nas atividades das enzimas peroxidase, polifenoloxidase, β-1,3-glucanase e quitinase em folhas de cafeeiro, sem alteração nos teores de lignina e fenóis solúveis totais.

**Palavras-chave:** *Coffea arabica*, ferrugem do cafeeiro, indução de resistência, extratos vegetais, fosfito de cobre.

### ABSTRACT

The aim of this work was to examine the effect of alternative products on coffee leaf rust management in coffee seedlings and characterize the biochemical mechanism involved in the plant defense responses. To control the disease, the treatments were: aqueous extract of coffee leaves with leaf rust (Nefid) symptoms, aqueous extract of coffee berry husk (Ecfc); phosphorylated mannanoligosaccharide (5 mL L<sup>-1</sup> and 10 mL L<sup>-1</sup>), copper phosphite at 5 mL L<sup>-1</sup> e 10 mL L<sup>-1</sup>, *acibenzolar-Smethyl* (ASM), Viça-Café plus<sup>®</sup> and a fungicide (cyproconazol+ azoxystrobin), plus a control treatment without inoculation. It was observed that Nefid extract and the copper phosphite (10 mL L<sup>-1</sup>) product presented intermediate protection of coffee seedlings compared to the control. In plants treated with Nefid, Fulland<sup>®</sup> and ASM, we found an increase in enzyme activities of the peroxidase, *polyphenol* oxidase,  $\beta$ -1,3-glucanase and chitinase in the coffee leaves. However, there were no alterations in the lignin and total soluble phenol levels.

**Keywords:** *Coffea arabica*, coffee leaf rust, resistance induction, plant extract, copper phosphite.

## INTRODUÇÃO

A ferrugem, causada pelo agente etiológico *Hemileia vastatrix* Berk. & Br., é considerada a principal doença do cafeeiro. Essa doença provoca queda precoce das folhas, menor florada, menor formação de chumbinhos e também pode causar seca dos ramos plagiotrópicos. As perdas provocadas por essa doença podem variar de 35% a 50%, na ausência de medidas de controle (Zambolim et al., 2005).

O controle da ferrugem tem sido realizado, na grande maioria dos casos, por meio de pulverização das plantas com fungicidas protetores e sistêmicos. A crescente preocupação com a qualidade ambiental e do aumento da procura por produtos saudáveis tem levado à busca de informações por práticas de produção favoráveis à boa qualidade dos produtos, aliadas à conservação do meio ambiente (Campanhola & Bettiol, 2003).

Neste contexto, destacam-se os métodos de controle alternativos de doenças em plantas, como o uso de eliciadores capazes de induzir a resistência sistêmica, a qual ativa os mecanismos de defesas latentes na planta, evitando ou atrasando a entrada e ou a subsequente atividade do patógeno em seus tecidos (Athayde Sobrinho et al., 2005; Nojosa et al., 2005). Com o reconhecimento pela planta desses eliciadores, ocorre a ativação de genes que codificam em uma série de proteínas relacionadas à patogênese (PRPs) (Van Loon, 1997) e enzimas envolvidas na síntese de fitoalexinas e lignina (Anterola & Lewis, 2002). As PRPs incluem famílias de proteínas com características variadas, como quitinases,  $\beta$ -1,3-glucanases e peroxidases, dentre outras, mas com o fato em comum de estarem todas relacionadas aos processos de defesa durante a patogênese, apresentando potencial para serem exploradas na proteção de plantas (Durrant & Dong, 2004). Cavalcanti et al. (2004) e Resende et al. (2004) citam que a resistência induzida em plantas pode ocorrer por meio do tratamento

com agentes bióticos, como extratos vegetais, microrganismos ou parte desses, ou abióticos, substâncias químicas.

A eficiência dos extratos vegetais no controle de fitopatógenos é observada em diversas culturas, como em cacaueteiro contra murcha-de-verticílio (Pereira et al., 2008) e mancha bacteriana em tomateiro (Cavalcanti et al., 2007). Formulação à base de extratos de folhas de café e formulação à base de cascas de frutos de café proporcionaram proteção em cafeeteiro contra mancha-de-phoma (Barguil et al., 2005), em cacaueteiro contra vassoura-de-bruxa (Resende et al., 2007) e em tomateiro contra mancha bacteriana (Medeiros et al., 2009).

No Brasil, apenas um produto comercial, à base de acibenzolar-S-metil (ASM), está registrado como indutor de resistência em plantas. Entretanto, outros produtos comerciais, como fertilizantes foliares, a utilização do acibenzolar-S-metil (ASM) e fosfitos vem se destacando na proteção de plantas contra doenças, como míldio em videira (Pereira et al., 2010), mancha-de-phoma em cafeeteiro (Nossoja et al., 2009) e podridão radicular em mamoeiro (Tavares et al., 2009). Da mesma maneira, o mananoligossacarídeo fosforilado proveniente da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* têm sido utilizado no controle de doenças, como míldio em videira (Rosa et al., 2008) e vassoura-de-bruxa em cacaueteiro (Costa et al., 2010).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito do uso de indutores bióticos e abióticos na proteção de mudas de cafeeteiro contra *H. vastatrix* e a caracterização de mecanismos envolvidos na resposta de defesa, com base na atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase,  $\beta$ -1,3-glucanase e quitinase, além dos teores de lignina e fenóis totais.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fisiologia do Parasitismo do Departamento de Fitopatologia da UFLA, em Lavras, MG.

### **Obtenção das formulações bióticas**

As formulações à base de extratos de folhas de café com ferrugem (Nefid) e de casca de frutos de café (Ecfc) foram processadas no Laboratório de Fisiologia do Parasitismo do Departamento de Fitopatologia da UFLA. Para os dois experimentos, foram utilizados o Nefid, com concentração ajustada para 15 g de peso seco L<sup>-1</sup> e o Ecfc, para 20 g de peso seco L<sup>-1</sup>. A forma de processamento e a composição dos extratos encontram-se sob sigilo de patente (Resende et al., 2006, 2007).

### **Obtenção do inóculo de *H. vastatrix* e inoculação**

Para a inoculação, urediniósporos de *H. vastatrix* foram coletados de folhas de cafeeiro naturalmente infectadas com *H. vastatrix*, de lavoura localizada em campo experimental da UFLA. Os urediniósporos foram raspados das pústulas com pincel de cerdas macias, acondicionados em microtubos de 2,0 mL, armazenados à temperatura ambiente, protegidos da luz, por um período máximo de 48 horas.

Para a inoculação das plantas, foi preparada uma suspensão de urediniósporos na concentração de  $1,0 \times 10^5$  urediniósporos.mL<sup>-1</sup> de ágar-água (0,2%) contendo Tween 20 (0,05%) (Salustiano et al., 2008). Antes de cada inoculação, a viabilidade do inóculo foi testada, determinando-se a percentagem de urediniósporos viáveis.

### **Proteção de mudas de cafeeiro contra *H. vastatrix* por extratos vegetais e produtos comerciais**

Foram realizados dois experimentos com mudas de cafeeiro cultivar Mundo Novo com oito meses de idade, que foram transplantadas para sacos de polietileno de 2,0 kg contendo terra, areia e esterco bovino, na proporção 2:1:1. As mudas foram mantidas em casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia da UFLA, onde foram irrigadas periodicamente e receberam adubações conforme recomendação técnica para a cultura (Guimarães et al., 1999).

Os produtos comerciais utilizados foram: fosfito de cobre (Fulland<sup>®</sup>), adquirido da Sudoeste Fertilizantes Ltda.; fertilizante foliar (Viça-Café Plus<sup>®</sup>), da Café Brasil Insumos Agrícolas Ltda., como padrão de controle da ferrugem em cultivos orgânicos; acibenzolar-S-metil - ASM (Bion<sup>®</sup>), como padrão de indução de resistência e o fungicida ciproconazol + azoxistrobina (PrioriXtra<sup>®</sup>), como padrão de controle em cultivos convencionais, ambos da Syngenta Proteção de Cultivos Ltda.

Estes ensaios foram conduzidos em delineamento de blocos casualizados, com 15 tratamentos (Tabela 1) e 4 repetições, sendo a parcela experimental constituída por 7 plantas.

Tabela 1 Tratamentos com formulações à base de extratos e produtos comerciais utilizados nos dois experimentos contra a ferrugem em cafeeiro cv Mundo Novo

Tratamentos	Doses
Ecfc	20 g peso seco L <sup>-1</sup>
Nefid	15 g peso seco L <sup>-1</sup>
ASM	0,2 g L <sup>-1</sup>
AgroMos <sup>®</sup> 5	5 mL L <sup>-1</sup>
AgroMos <sup>®</sup> 10	10 mL L <sup>-1</sup>
Fulland <sup>®</sup> 5	5 mL L <sup>-1</sup>
Fulland <sup>®</sup> 10	10 mL L <sup>-1</sup>
Viça-Café Plus <sup>®</sup>	7 g L <sup>-1</sup>
Fungicida	1,25 mL L <sup>-1</sup>
Testemunha inoculada	-

No primeiro experimento, foi realizada apenas uma pulverização dos produtos, até o ponto de escorrimento. Demais procedimentos foram semelhantes ao segundo experimento. Para o experimento 2, foram realizadas três aplicações dos tratamentos, até o ponto de escorrimento, em intervalo de 40 dias. Para os dois experimentos, sete dias após a primeira aplicação, as plantas foram inoculadas com *H. vastatrix*, mediante pulverização com uma suspensão de urediniósporos, como descrito anteriormente e, em seguida, submetidas a uma câmara úmida, na ausência de luz, pelo período de 48 horas.

No segundo experimento, a altura das plantas foi avaliada no dia da primeira pulverização e, a partir desta, foi realizada em intervalos quinzenais, até o final do experimento.

As avaliações da ferrugem foram realizadas a partir dos 30 dias após a inoculação, em intervalos de 15 dias, utilizando-se a escala diagramática proposta por Cunha et al. (2001) e os dados foram transformados em área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI), da severidade da doença (AACPS) e da altura das plantas (AACPA), conforme a equação de Shaner &

Finney (1977). Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott e Knott ( $p \leq 0,05$ ).

### **Caracterização dos mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta de defesa**

Neste experimento, foram utilizadas mudas de cafeeiro cultivar Mundo Novo com quatro pares de folhas verdadeiras. Esse experimento foi realizado em casa de vegetação, no intuito de fornecer material foliar para a determinação das atividades das enzimas peroxidase de guaicol (POX; EC 1.11.1.7), polifenoloxidase (PPO), quitinase (CHI; EC 3.2.1.14) e  $\beta$ -1,3-glucanase (GLU; EC 3.2.1.6), além dos teores de lignina solúvel e fenóis solúveis totais. Avaliaram-se os tratamentos mais eficientes no controle da ferrugem nos dois experimentos citados anteriormente, Nefid e fosfito de cobre na dose  $10 \text{ mL L}^{-1}$ , e ASM ( $0,2 \text{ g L}^{-1}$ ) inoculados e não inoculados com *H. vastatrix*, além de duas testemunhas, uma inoculada com *H. vastatrix* e outra absoluta (plantas pulverizadas somente com água).

A inoculação com o patógeno, conforme descrito anteriormente, foi realizada sete dias após a aplicação dos produtos e as coletas das amostras foliares foram realizadas nos tempos 0; 0,5; 2; 4; 7; 7,5; 8; 9 e 11. Para os fenóis solúveis e lignina, foram 2; 7,5 e 11 dias após a pulverização dos tratamentos.

As amostras coletadas foram acondicionadas em papel alumínio, identificadas, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a  $-80^\circ\text{C}$ . Para o preparo dos extratos enzimáticos, cada amostra congelada foi pesada (2 g) e triturada em nitrogênio líquido, com almofariz e pistilo, até a obtenção de um pó fino. Posteriormente, adicionou-se o tampão acetato de sódio 50 mM pH 5,2 acrescido de 1 mM de EDTA e 1 mM de  $\beta$ -mercaptoetanol (5 mL de tampão para cada grama de amostra) e homogeneizou-se por 20 segundos. O extrato

obtido foi centrifugado, a 12.000 g, por 15 minutos, a 4 °C e o sobrenadante foi coletado em microtubos e armazenado, a -80 °C, para posterior análise.

A concentração de proteínas totais foi aferida de acordo com o método de Bradford (1976), ajustando-se uma curva padrão de albumina sérica bovina (BSA). A atividade de peroxidases de guaiacol (POX, EC 1.11.1.7) foi determinada seguindo o método de Urbanek et al. (1991). A atividade da POX foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 26,6 mM e expressa como  $\mu\text{mol}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  oxidado por miligrama de proteína por minuto. A atividade de polifenoloxidasas (PPO) foi determinada pela mensuração da conversão do catecol em quinona (Gauillard et al., 1993). A atividade enzimática foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de  $3.450 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ . A atividade de quitinase (CHI; EC 3.2.1.14) foi determinada de acordo com a metodologia de Wirth & Wolf (1990), utilizando-se o substrato CM-Chitin-RBV. A atividade CHI foi expressa em unidade de atividade por miligrama de proteína por minuto. A atividade da  $\beta$ -1,3-glucanase (GLU; EC 3.2.1.6) foi medida seguindo modo análogo ao da quitinase, apenas substituindo o substrato para CM-Curdlan-RBB ( $4 \text{ mg mL}^{-1}$ ; LOEWE Biochemica GmbH) e sua atividade expressa em unidade de atividade por miligrama de proteína solúvel por minuto.

Para a determinação dos teores de fenóis solúveis totais e lignina, cada amostra congelada foi triturada em nitrogênio líquido com almofariz e pistilo até a obtenção de um pó fino. Posteriormente, as amostras foram liofilizadas por 24 horas. Uma alíquota de 30 mg do material liofilizado foi transferida para microtubo de 2 mL e homogeneizada, com 1,5 mL de metanol a 80% e mantida sob agitação, por 15 horas, em agitador rotativo, protegido da luz à temperatura ambiente. A suspensão foi centrifugada a 12.000 g, por 10 minutos, a 4 °C. O sobrenadante (extrato metanólico) foi utilizado para a determinação dos fenóis

solúveis e o resíduo sólido foi empregado para determinar a concentração de lignina, como descrito por Rodrigues et al. (2004).

Todas as análises bioquímicas foram realizadas em triplicata. Para os ensaios bioquímicos, foi utilizado o delineamento de blocos casualizados, com três repetições e 4 plantas por parcela por coleta. As atividades enzimáticas dos extratos foram comparadas ao longo do tempo com as testemunhas inoculadas e não inoculadas. As médias, quando significativas pelo teste F, para fenóis solúveis e lignina, foram comparadas pelo teste de Scott e Knott ( $p \leq 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### **Proteção de mudas de cafeeiro contra *H. vastatrix* por extratos vegetais e produtos comerciais**

Todos os tratamentos apresentaram efeito sobre a incidência e a severidade da ferrugem nos dois experimentos, pois diferiram significativamente da testemunha inoculada (Figura 1 e 2), porém, com menor controle do que o fungicida. No primeiro experimento, os tratamentos Nefid, Fulland<sup>®</sup>, na dose 10 mL L<sup>-1</sup> e Ecfc reduziram a área abaixo da curva de incidência da doença (AACPI), quando comparados à testemunha inoculada (Figura 1 A). Demais tratamentos proporcionaram reduções na AACPI variando de 65% a 55% em relação à testemunha inoculada (Figura 1 A). Os efeitos dos extratos Nefid e Ecfc e do Fulland<sup>®</sup>, na dose 10 mL L<sup>-1</sup>, para a severidade foram semelhantes à variável incidência, proporcionando controle intermediário da ferrugem (Figura 1 B). AgroMos<sup>®</sup>, na dose 5 mL L<sup>-1</sup>, ASM e Viça-Café plus<sup>®</sup> apresentaram reduções na área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) variando de 63% a 60%, quando comparados à testemunha inoculada (Figura 1 B). AgroMos<sup>®</sup>, na dose 10 mL L<sup>-1</sup> e Fulland<sup>®</sup>, na dose 5 mL L<sup>-1</sup>, foram iguais entre si e diferiram da testemunha inoculada (Figura 1 B).

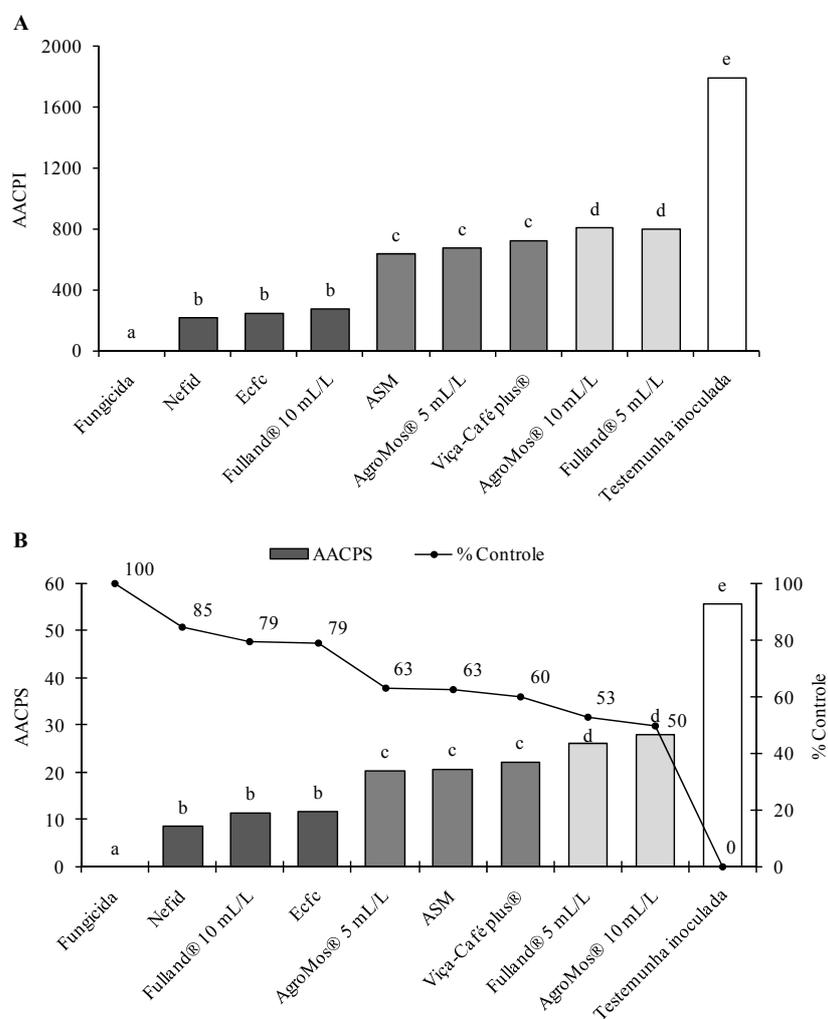


Figura 1 Efeito dos tratamentos sobre a área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) (A), da severidade (AACPS) (B) e na porcentagem de controle da ferrugem em mudas de caféiro cultivar Mundo Novo. Tratamentos: fungicida (ciproconazol + azoxistrobina), Ecfc (extrato aquoso de casca de fruto de café), Nefid (extrato aquoso de folha de café com ferrugem), Fulland® (fosfito de cobre), AgroMos® (mananoligossacarídeo fosforilado) e ASM (acibenzolar-S-metil). Médias com mesmas letras não diferem estatisticamente, pelo teste de Scott & Knott, a 5% de probabilidade

No segundo experimento, reduções intermediárias na severidade e incidência da ferrugem foram proporcionadas por Nefid e Fulland<sup>®</sup>, na dose 10 mL L<sup>-1</sup>, que diferiram significativamente dos demais tratamentos e da testemunha inoculada (Figura 2 A e B). Para a AACPI, demais tratamentos foram semelhantes entre si estatisticamente, porém, diferiram da testemunha inoculada, proporcionando reduções, em média, de 44%, quando comparados à testemunha inoculada (Figura 2A).

Os tratamentos Nefid e Fulland<sup>®</sup>10 foram capazes de reduzir a severidade da ferrugem quando comparados à testemunha inoculada (Figura 2 B). AgroMos<sup>®</sup>, na dose de 5 mL L<sup>-1</sup>, ASM, Fulland<sup>®</sup>, na dose de 5 mL L<sup>-1</sup> e Ecfc demonstraram reduzir a AACPS, em média, em 52%, comparados à testemunha (Figura 2 B). Os tratamentos Viça Café plus<sup>®</sup> e AgroMos<sup>®</sup>, na dose 10 mL L<sup>-1</sup>, não diferiram entre si e foram menos eficientes na redução da severidade da doença (Figura 2 B). Entretanto, os extratos Nefid e Ecfc promoveram maior incremento no crescimento das mudas de café inoculadas com *H. vastatrix*, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos, inclusive da testemunha inoculada (Figura 3).

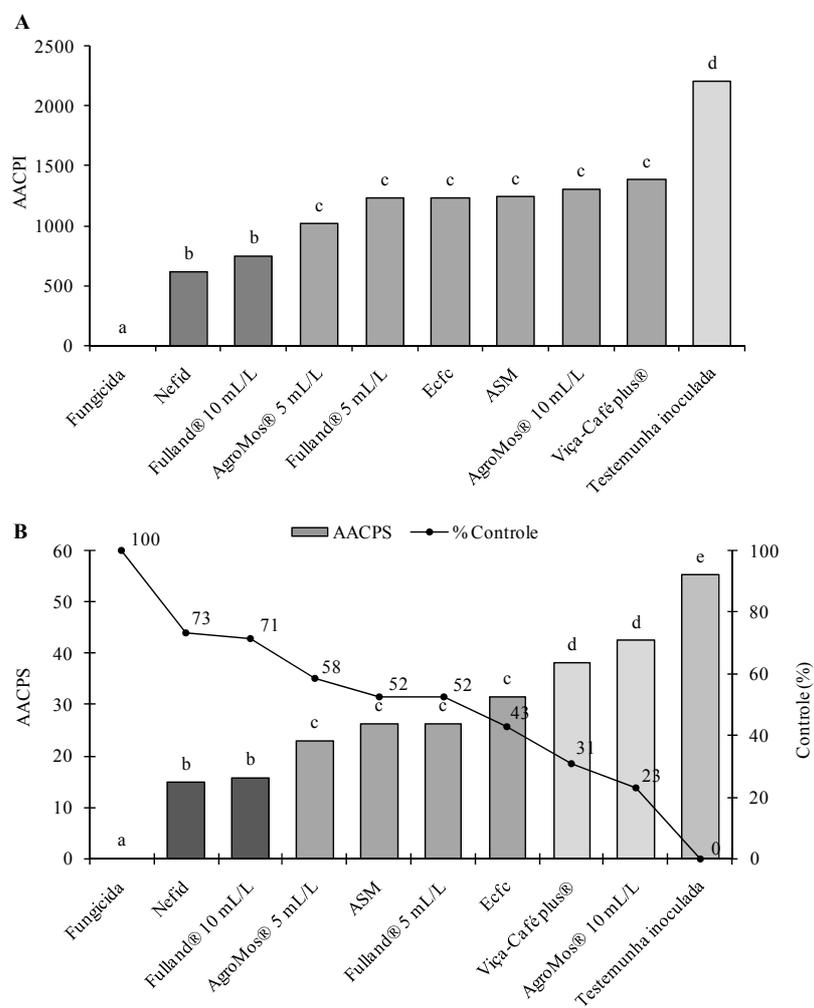


Figura 2 Efeito dos tratamentos sobre a área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) (A) e da severidade (AACPS) e no controle da ferrugem (B) em mudas de cafeeiro cultivar Mundo Novo. Tratamentos: fungicida (ciproconazol + azoxistrobina), Ecfc (extrato aquoso de casca de fruto de café), Nefid (extrato aquoso de folha de café com ferrugem), Fulland® (fosfito de cobre), AgroMos® (mananoligossacarídeo fosforilado) e ASM (acibenzolar-S-metil). Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente, pelo teste de Scott & Knott, a 5% de probabilidade

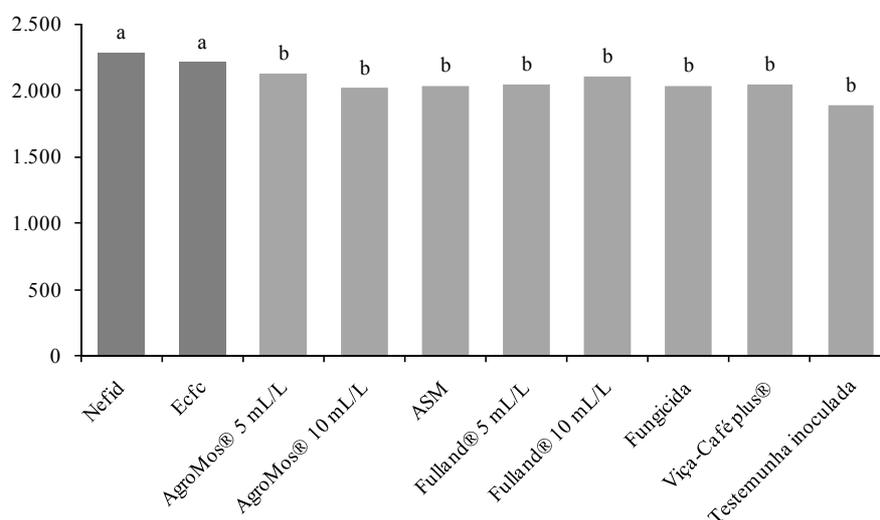


Figura 3 Área abaixo da curva de progresso da altura das mudas (AACPA) de cafeeiro cultivar Mundo Novo. Médias com mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott Knott ( $P \leq 0,05$ ). Tratamentos: fungicida (ciproconazol + azoxistrobina), Ecfc (extrato aquoso de casca de fruto de café), Nefid (extrato aquoso de folha de café com ferrugem), Fulland® (fosfito de cobre), AgroMos® (mananoligossacarídeo fosforilado) e ASM (acibenzolar-S-metil)

De acordo com os resultados, observou-se que os extratos vegetais (Nefid e Ecfc) e o produto à base de fosfito de cobre na dose de 10 mL L<sup>-1</sup> (Fulland®) foram eficientes em controlar a ferrugem em mudas de cafeeiro. Observou-se também que os extratos vegetais proporcionaram incrementos na altura das plantas, o que corrobora o resultado relatado por Amaral (2008). No presente estudo, verificou-se que os extratos apresentaram reduções na AACPS, em média, de 82% em relação à testemunha no primeiro experimento e de 58% no segundo experimento. A utilização de extratos de folha de café e fosfitos no controle da ferrugem do cafeeiro e doenças em plantas vem sendo estudada no controle de doenças em diversos patossistemas. Costa et al. (2007) observaram

que o extrato de folhas de café, quando comparado com fungicidas sistêmicos e indutores de resistência, promoveu efeito protetor do cafeeiro contra *H. vastatrix*, porém, nunca superior ao fungicida (epoxiconazole + piraclostrobin). Santos et al. (2007), ao estudarem estes extratos vegetais no controle da ferrugem, cercosporiose e mancha-de-phoma, em cafeeiro orgânico, obtiveram resultados relevantes. Para a ferrugem, o tratamento com extrato de folha de café proporcionou AACPS 31% inferior ao observado na testemunha pulverizada com água, enquanto o extrato de casca de fruto de café reduziu em 49%.

Extratos de tecidos do cafeeiro são ricos em compostos fenólicos (Ramirez, 1987), substâncias bioativas capazes de disparar reações de defesa do vegetal contra fatores externos (Pascholati & Leite, 1995). Em estudos tem sido proposta a presença de eliciadores de resistência em folhas de cafeeiro infectadas por ferrugem, causada por *H. vastatrix*. Esporos de *H. vastatrix* inativados por autoclavagem e preparados em forma de filtrado aquoso induziram proteção contra *H. vastatrix* em cafeeiro (Guzzo et al., 1987). Segundo os autores, a parede do fungo é composta pela combinação de  $\beta$ -glucanas e quitinas, que seriam responsáveis pela resposta de defesa de plantas ao patógeno. Segundo Resende et al. (2007), quando se utilizam apenas os esporos de ferrugem para induzir resistência em plantas, podem estar sendo descartados os eliciadores endógenos presentes no próprio tecido das folhas de café e mais bem disponibilizados após a colonização fúngica.

Em pesquisas realizadas em outros patossistemas comprovou-se a eficiência de fosfitos na proteção de várias culturas contra doenças. Os fosfitos vêm se destacando por atuarem diretamente sobre o patógeno, além de atuarem indiretamente, induzindo resposta de defesa na planta (Jackson et al., 2000). Possivelmente, no presente trabalho, o modo de ação dos fosfitos utilizados foi direto e indireto. Nojosa et al. (2009), avaliando o efeito de indutores de resistência contra mancha-de-phoma em mudas de cafeeiro, verificaram que o

fosfito de potássio promoveu severidade, em média, 63% inferior à observada na testemunha, sendo esses percentuais superiores ao observado em plantas tratadas com fungicida. Destes estudos, porém, muitos foram realizados com outros sais de fosfito, sendo praticamente inexistentes os estudos com fosfito de cobre.

### **Caracterização dos mecanismos bioquímicos envolvidos na resposta de defesa**

Na determinação da atividade enzimática e dos teores de lignina solúvel e fenóis totais, utilizaram-se o extrato Nefid e o fosfito de cobre, na dose de 10 mL L<sup>-1</sup>, por proporcionarem menores incidência e severidade da ferrugem nos experimentos com mudas de cafeeiro, além do indutor de resistência padrão, ASM.

A atividade de peroxidases em mudas tratadas com Nefid, sem inoculação com o patógeno, apresentou maior aumento da atividade dessa enzima em relação à testemunha sem inoculação aos 7,5 e 8 dias após a pulverização (Figura 4 A). Em mudas pulverizadas com Nefid e inoculadas, foi observada maior atividade desta enzima após a inoculação com o patógeno (Figura 4 A). Confirmando os resultados do presente estudo, Cardoso (2009) utilizando a técnica de RT-qPCR, observou que plantas pulverizadas com o extrato Nefid induziram maior nível de expressão de genes que codificam peroxidases e quitinases. Medeiros et al. (2009) verificaram que mudas de tomateiro tratadas com Nefid apresentaram superexpressão da atividade da POX um dia após a pulverização, sugerindo que o produto induz eliciação de amplo espectro e de longa duração. No presente estudo, o rápido aumento da atividade da POX em mudas tratadas com Nefid e inoculadas com o patógeno, observada no momento da inoculação, aos 7 dias após a pulverização, pode ser atribuído ao efeito *priming*, caracterizado pela ativação rápida e intensa de respostas de

defesa celular, apenas após o contato com o patógeno, em plantas previamente induzidas (Conrath et al., 2002).

Plantas pulverizadas com Fulland<sup>®</sup> (fosfito de cobre) e não inoculadas, apresentaram maior atividade em relação à testemunha aos 8 dias após pulverização e, em mudas inoculadas com o patógeno, a maior atividade ocorreu aos 11 dias após pulverização (Figura 4 B). Mudas tratadas com ASM e não inoculadas expressaram maior atividade de peroxidases aos 0,5 e 4 dias após pulverização (Figura 4 C). Tanto nas mudas não inoculadas quanto nas inoculadas e tratadas com ASM, a atividade da enzima foi maior em todo o intervalo estudado, comparadas às testemunhas (Figura 4 C).

Boava et al. (2010), estudando o efeito de indutores de resistência bióticos e abióticos nas atividades de quitinase e peroxidase em eucalipto contra ferrugem causada por *Puccinia psidii*, verificaram que a atividade dessas enzimas aumentou 48 horas após a inoculação com o fungo, quando as plantas foram previamente tratadas com os indutores (ASM e *S. cerevisiae*).

Segundo Nojosa (2003), a atividade de peroxidase em mudas de cafeeiro tratadas com fosfito de potássio e ASM, isoladamente e inoculadas com *H. vastatrix*, apresentaram atividade superior à das testemunhas absoluta e inoculada. Porém, Ribeiro Júnior et al. (2006) observaram que o fosfito de potássio não apresentou efeito sobre a atividade dessa enzima em mudas de cacaueteiro contra *Verticillium dahliae*, demonstrando que a ativação desta enzima por fosfito depende do genótipo estudado. As peroxidases de plantas participam em diversos processos fisiológicos, dentre eles a formação de lignina. A atividade desta enzima é frequentemente aumentada em resposta aos estresses, ataque de patógenos e tratamentos com indutores, sendo a proteção celular contra reações oxidativas também uma das principais funções das enzimas (Anterola & Lewis, 2002).

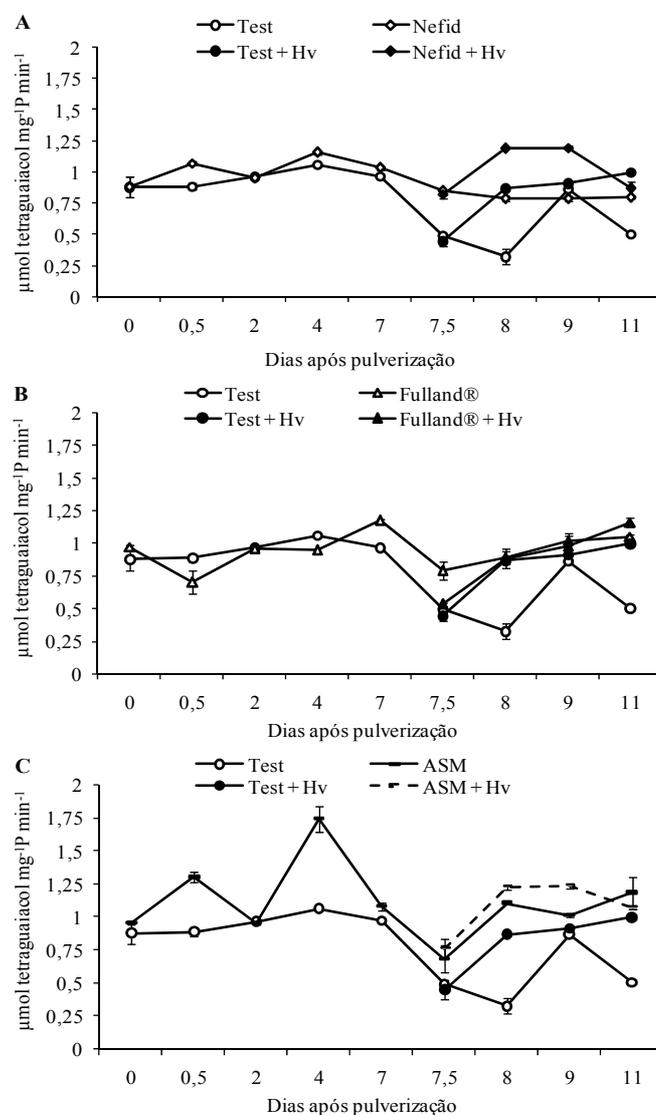


Figura 4 Atividade de peroxidase de guaiacol em folhas de mudas de cafeeiro cv. Mundo Novo, após tratamentos com: Nefid (A), Fulland® (B) e acibenzolar-S-metil (ASM) (C) comparados com a testemunha. A inoculação com *H. vastatrix* (Hv) ocorreu aos 7 dias após pulverização. Barras indicam desvio padrão da média

Para a atividade de polifenoloxidasas, observou-se que mudas tratadas com Nefid, sem inoculação do patógeno, praticamente não apresentou incrementos significativos na atividade de polifenoloxidase quando comparadas à testemunha (Figura 5 A). Em plantas inoculadas, aumento da atividade da PPO ocorreu aos 8 e aos 11 dias após a pulverização (Figura 5 A). Amaral (2005) observou que a atividade da enzima em mudas de cafeeiro tratadas com extrato à base de casca de café sem inoculação com *Cercospora coffeicola* foi maior aos 20 dias após a pulverização e aos 15 dias após a pulverização em mudas inoculadas. Esses dados não puderam ser confirmados no presente trabalho, pois a última coleta foi realizada aos 11 dias após a pulverização. Porém, verificou-se que a atividade da enzima em mudas não inoculadas foi maior em relação à testemunha e houve aumento da atividade em mudas inoculadas aos 11 dias após a pulverização. Nas mudas tratadas com o Fulland<sup>®</sup> sem a inoculação, a atividade da PPO apresentou picos aos 7,5 dias após pulverização, enquanto, em mudas inoculadas, as maiores atividades foram aos 8 dias após pulverização (Figura 5 B). Nas mudas tratadas com ASM e não inoculadas, foi observada maior atividade a partir de 4 dias após pulverização e em todos os intervalos estudados, quando comparado à testemunha (Figura 5 C). Nas mudas inoculadas, maior atividade, quando comparadas com a testemunha inoculada, foi aos 11 dias após pulverização (Figura 5 C).

A importância da atividade das polifenoloxidasas na defesa das plantas a fitopatógenos provavelmente deve-se à sua propriedade de oxidar compostos fenólicos para quinonas, as quais são mais tóxicas aos microrganismos do que os fenóis originais e à sua ação protetora no local do ferimento (Taiz e Zeiger, 2004). Por esta razão, admite-se que um aumento na atividade da polifenoloxidase resulte em altas concentrações de produtos tóxicos de oxidação e, portanto, maior grau de resistência à infecção. (Agrios, 2005).

Em estudo realizado por Peng et al. (2004) foi demonstrado que a indução do pepino com pectinases extraídas de *Penicilium oxalicum* contra *Cladosporium cucumerinum* reduziu em até 70% a severidade da doença, dependendo da dose, conferindo o aumento da atividade da PPO após 72 horas. Entretanto, Melo et al. (2006), estudando a atividade da PPO em folhas de café e o seu papel na resistência contra *H. vastatrix* e o inseto *Leucoptera coffeella*, verificaram que houve diferentes respostas na atividade da PPO quando expostos a danos mecânicos, pulverização com metil jasmonato, inoculação com *H. vastatrix* e infestação com *L. coffeella*. Porém, estes autores sugerem que a resistência da planta esteja relacionada com o potencial oxidativo dos tecidos em relação à composição fenólica, em vez de simplesmente ao aumento da atividade da PPO.

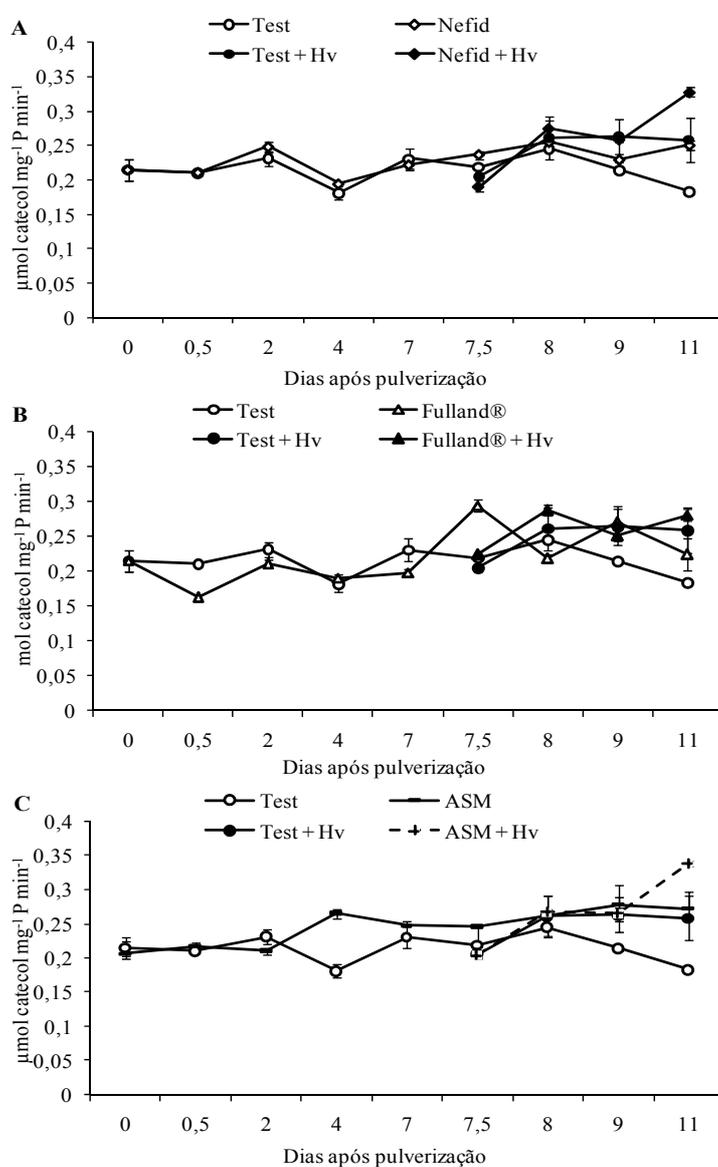


Figura 5 Atividade de polifenoloxidase em folhas de mudas de cafeeiro cv. Mundo Novo, após tratamentos com: Nefid (A), Fulland® (B) e acibenzolar-S-metil (ASM) (C) comparados com a testemunha. A inoculação com *H. vastatrix* (Hv) ocorreu aos 7 dias após pulverização. Barras indicam desvio padrão da média

O tratamento de mudas de cafeeiro com o Nefid e sem inoculação aumentou a atividade da enzima  $\beta$ -1,3-glucanase (GLU) nas primeiras horas (0,5 dias após pulverização) e manteve-se até aos 7 dias após pulverização, ocorrendo um decréscimo após 7,5 dias, em relação à testemunha (Figura 6 A). Em mudas inoculadas, ocorreu um pico da atividade aos 9 dias após pulverização (Figura 6 A). Amaral (2008) observou, em mudas de cafeeiro tratadas com Nefid e inoculadas com *C. coffeicola*, aumento da atividade de  $\beta$ -1,3-glucanase a partir de 3 dias após a pulverização. Medeiros et al. (2009) observaram, em plantas de tomate tratadas com Nefid, maior incremento na atividade enzimática a partir do primeiro dia após pulverização até o último dia analisado, que corresponde ao quinto dia após pulverização.

Plantas de cafeeiro pulverizadas com Fulland<sup>®</sup> sem inoculação com o patógeno também mostraram aumento na atividade da GLU aos 4 dias após pulverização, em relação à testemunha não inoculada, enquanto mudas inoculadas expressaram maior atividade de GLU aos 9 dias após pulverização (Figura 6 A). Também trabalhando com cafeeiro, Ribeiro Júnior (2008) observou que fosfito de manganês em plantas inoculadas com *C. coffeicola* proporcionou atividade de  $\beta$ -1,3-glucanase semelhante à da testemunha inoculada. Toyota (2008) observou que o fosfito de cobre induziu a atividade de  $\beta$ -1,3-glucanases a partir do sexto dia após a pulverização. Observou também que plantas tratadas e inoculadas induziram a produção dessa enzima, apresentando maior atividade aos 21 dias após a pulverização. Lobato et al. (2008) observaram a expressão de genes que codificam para  $\beta$ -1,3-glucanase em plantas de batata após tratamento com fosfito de potássio e inoculação com *Phytophthora infestans*.

Em relação ao tratamento ASM, a atividade da enzima apresentou aumento de 0,5 a 4 dias após pulverização (Figura 6 C). Mudas inoculadas e tratadas com ASM apresentaram um acréscimo na atividade a partir de 8 dias

após pulverização, tendo o pico ocorrido aos 9 dias (Figura 6 C). Trabalhos relatam a ativação da  $\beta$ -1,3-gluconase por ASM em tomateiro, mamoeiro e cacauero (Cavalcanti et al., 2006; Tavares et al., 2009 e Costa et al., 2010).

Em trabalhos com cafeeiro, Ribeiro Júnior (2008) observou picos da atividade dessa enzima aos 3 e 11 dias após tratamento com ASM e Guzzo et al. (2009) observaram maior expressão gênica de  $\beta$ -1,3-gluconase 72 horas após tratamento com ASM e 48 horas após inoculação com *H. vastatrix*.

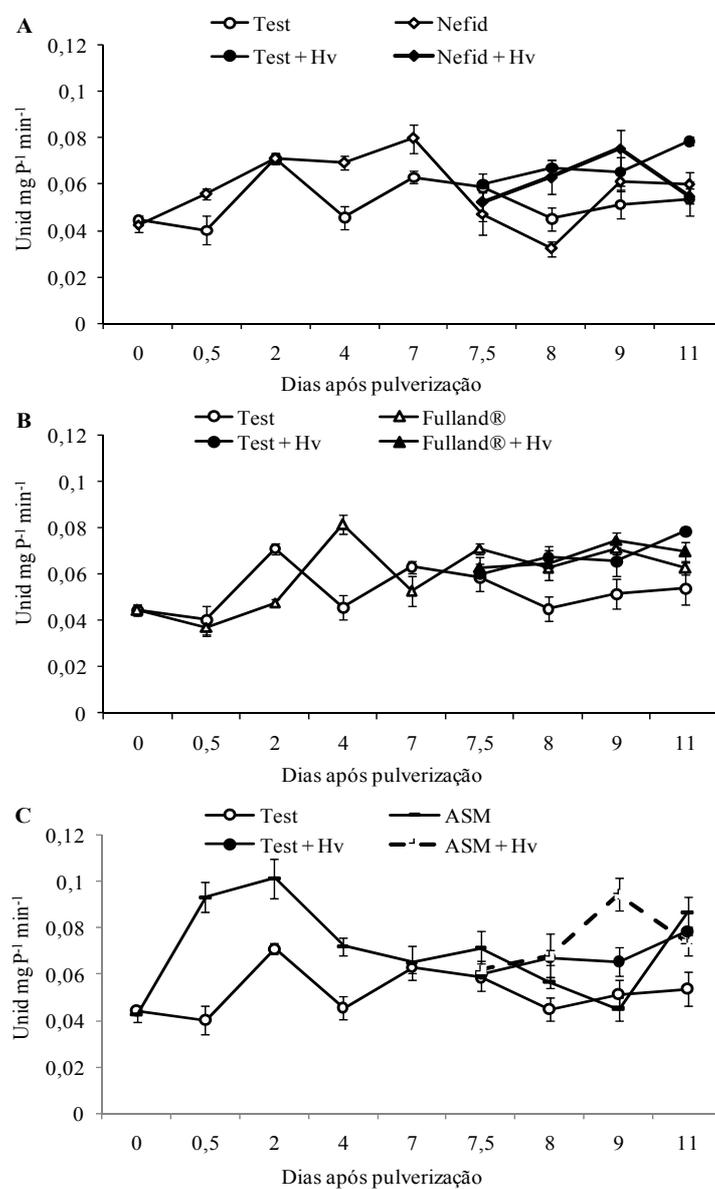


Figura 6 Atividade de  $\beta$ -1,3-glucanase (GLU) em folhas de mudas de cafeeiro cv. Mundo Novo, após tratamentos com: Nefid (A), Fulland<sup>®</sup> (B) e acibenzolar-S-metil (ASM) (C) comparados com a testemunha. A inoculação com *H. vastatrix* (Hv) ocorreu aos 7 dias após pulverização. Barras indicam desvio padrão da média

A atividade de quitinase (CHI) em mudas tratadas com Nefid sem inoculação foi superior à testemunha aos 2 dias após pulverização (Figura 7 A). Após os 4 dias, não apresentou diferenças em relação à testemunha não inoculada. Em mudas inoculadas, o tratamento com Nefid proporcionou aumento na atividade quando comparada com a testemunha inoculada, a partir de 7,5 dias após pulverização (Figura 7 A).

A pulverização com o Fulland<sup>®</sup> em plantas de cafeeiro tanto não inoculadas quanto inoculadas com *H. vastatrix* proporcionou aumento na atividade da CHI, com picos aos 2 e 8 dias após pulverização, respectivamente, quando comparadas as testemunhas (Figura 7 B). Para mudas tratadas com ASM sem inoculação, ocorreram dois picos de atividade, aos 2 e 7,5 dias após pulverização (Figura 7 C). Em mudas inoculadas, maior aumento foi verificado aos 11 dias após a pulverização (Figura 7 C).

Guzzo et al. (2004), em trabalho com cafeeiro, observaram incremento na atividade de quitinase 1 dia após a aplicação foliar com ASM, a qual manteve-se alta até 35 dias após aplicação. Boava et al. (2010) observaram, em clones de eucalipto previamente tratados com ASM, maior incremento na atividade de quitinase aos 3 dias após inoculação com *Puccinia psidii*. Medeiros et al. (2009) verificaram que mudas de tomateiro pulverizadas com Nefid apresentaram maiores incrementos nas atividades de glucanase e quitinase a 1 dia após a pulverização e durou até cinco dias a altos níveis em relação à testemunha.

Os picos da atividade de quitinase, observados em plantas tratadas com NEFID e Fulland<sup>®</sup> e inoculados com *H. vastatrix* aos 7,5 e 8 dias após pulverização, respectivamente, podem coincidir com os momento em que ocorre a germinação da maioria dos esporos, formação de apressórios e de “peg” de penetração próximos ao estômato das folhas de cafeeiro suscetíveis (Godoy et al., 1997). Entre as proteínas-RPs mais pesquisadas estão as  $\beta$ -1,3-glucanases e

as quitinases, que apresentam atividade antimicrobiana hidrolítica com quebra de polímeros estruturais presentes na parede dos patógenos, sendo expressas na SAR, associadas à cascata de sinais do ácido salicílico, o qual é o sinalizador para a expressão dessas proteínas relacionadas à patogenicidade (Glazebrook, 2005).

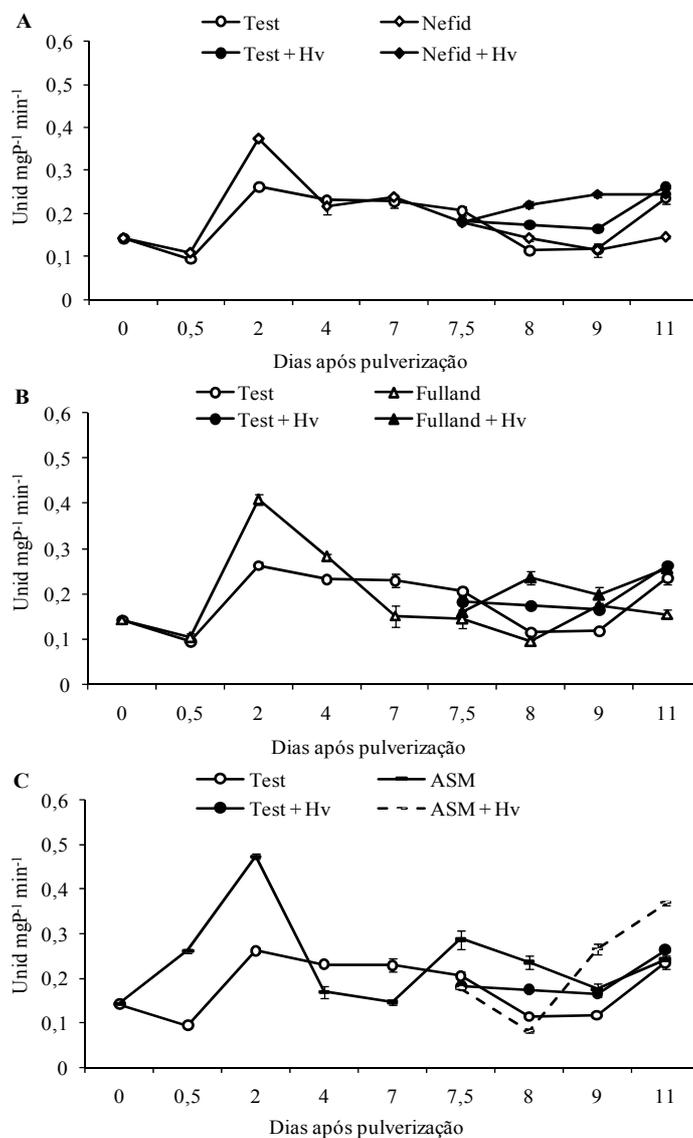


Figura 7 Atividade de quitinase (CHI) em folhas de mudas de cafeeiro cv. Mundo Novo, após tratamentos com: Nefid (A), Fulland® (B) e acibenzolar-S-metil (ASM) (C) comparados com a testemunha. A inoculação com *H. vastatrix* (Hv) ocorreu aos 7 dias após pulverização. Barras de indicam desvio padrão da média

A lignina é uma macromolécula fenólica, altamente complexa, sendo o segundo composto mais abundante nos tecidos vegetais. Sua estrutura ainda não é totalmente conhecida em função das dificuldades no processo de extração, mas acredita-se que ela seja originada da polimerização enzimática de monômeros de coniferil, sinapil e  $\rho$ -cumaril álcoois (Dence e Lin, 1992; Taiz e Zeiger, 2004).

Os teores de lignina solúvel e de fenóis totais em mudas tratadas com Nefid, Fulland<sup>®</sup> e ASM não proporcionaram diferença significativa em relação às testemunhas, nas épocas de avaliação.

Alves et al. (2006) também não observaram diferenças entre teores de lignina em cafeeiros inoculados e não inoculados, tratados com ASM ou extrato de casca de café. Resultado semelhante foi obtido por Costa et al. (2010) em mudas de cacaueteiro inoculadas e não inoculadas com *Moniliophthora perniciosa* e tratadas com ASM. Tal resultado pode estar relacionado ao tempo de avaliação do presente estudo, não sendo suficiente para detectar o incremento destes compostos. Além disso, as concentrações de lignina avaliadas foram as totais, formadas por ligninas constitutivas e induzidas, dificultando assim a detecção do que foi realmente incrementada pelos tratamentos testados.

## CONCLUSÕES

Formulação à base de extrato de folhas de café infectadas com ferrugem (Nefid) e fosfito de cobre, na dose 10 mL L<sup>-1</sup> (Fulland<sup>®</sup>), conferem proteção parcial, em mudas de cafeeiro, contra *Hemileia vastatrix*.

Os produtos estudados, Nefid, fosfito de cobre (Fulland<sup>®</sup>) e ASM, são capazes de promover o aumento na atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase,  $\beta$ -1,3-glucanase e quitinase em folhas de cafeeiro, mas não aumentam os teores de lignina solúvel e fenóis totais nos tempos avaliados.

## AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro e pela concessão da bolsa de estudos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 5<sup>th</sup> ed. New York: Academic, 2005. 922p.
- ALVES, E.; PEREIRA, R.B.; FERREIRA, J.B.; BOREL, J.C.; RESENDE, M.L.V. Inibição da germinação de conídios de *Cercospora coffeicola* sob diferentes doses do extrato de casca de café e óleo essencial de tomilho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.31, p.307, ago. 2006. Suplemento.
- AMARAL, D.R. **Formulações de extratos vegetais e micronutrientes na indução de resistência em mudas de cafeeiro contra *Cercospora coffeicola***. 2008. 92p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- AMARAL, D.R. **Indução de resistência em cafeeiro contra *Cercospora coffeicola* por eliciadores abióticos e extratos vegetais**. 2005. 96p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- ANTEROLA, A.M.; LEWIS, N.G. Trends in lignin modification: a comprehensive analysis of the effects of genetic manipulations/ mutations on lignification and vascular integrity. **Phytochemistry**, v.61, n.3, p.221-294, Oct. 2002.
- ATHAYDE SOBRINHO, C.; FERREIRA, P.T.O.; CAVALCANTI, L.S.C. Indutores abióticos. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p.51-80.
- BARGUIL, B.M.; RESENDE, M.L.V.; RESENDE, R.S.; BESERRA JUNIOR, J.E.A.; SALGADO, S.L. Effect of extracts from citric biomass, rusted coffee leaves and coffee berry husks on *Phoma costarricensis* of coffee plants. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, n.5, p.535-537, set./out. 2005.

BOAVA, L.P.; KUHN, O.J.; PASCHOLATI, S.F.; DI PIERO, R.M.; FURTADO, E.L. Efeito de indutores bióticos e abióticos na atividade de quitinase e peroxidase e no controle da ferrugem causada por *Puccinia psidii* em eucalipto. **Summa Phytopathologica**, v.36, n.2, p.168-172, 2010.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2003. 279p.

CARDOSO, D.C. **Análise quantitativa da expressão gênica de quitinase e peroxidase induzida por acibenzolar-S-metil e extrato vegetal em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix***. 2009. 66p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CAVALCANTI, F.R.; RESENDE, M.L.V.; OLIVEIRA, J.T.A. Peroxidases ativadas por frações protéicas de extrato biológico eficaz na proteção do tomateiro contra a mancha bacteriana. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.507-511, 2007.

CAVALCANTI, F.R.; RESENDE, M.L.V.; PEREIRA, R.B.; COSTA, J.C.B.; CARVALHO, C.P.S. Atividades de quitinase e beta-1,3-glucanase após eliciação das defesas do tomateiro contra a mancha-bacteriana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.12, p.1721-1730, dez. 2006.

CAVALCANTI, F.R.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; PEREIRA, R.B.; ZACARONI, A.B.; VILLAS-BOAS, C.H.; RESENDE, M.L.V. Natural extracts induce lignification on cocoa and tomato leaves. In: REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS, 2.; SIMPÓSIO DE CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS, 4., 2004, Lavras. **Anais**. Lavras: UFLA, 2004. p.107.

CONRATH, N.; PIESTERSE, C.M.J.; MANI, B.M. Priming in plant-pathogens interaction. **Plant Science**, v.7, n.5, p.210-216, 2002.

COSTA, J.B.; RESENDE, M.L.V.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; CAMILO, F.R.; MONTEIRO, A.C.A.; PEREIRA, R.B. Indução de resistência em mudas de cacaueteiro contra *Moniliophthora perniciosa* por produto à base de mananoligossacarídeo fosforilado. **Tropical Plant Pathology**, v.35, n.5, p.285-294, 2010.

COSTA, M.J.N.; ZAMBOLIM, L.; RODRIGUES, F.A. Avaliação de produtos alternativos no controle da ferrugem do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n.1, p.150-155, jan./fev. 2007.

CUNHA, R.L.; POZZA, E.A.; DIAS, W.P.; BARRETTI, P.B. Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para avaliar a severidade da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do cafeeiro. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 2., 2001, Vitória. **Resumos**. Vitória: Embrapa Café, 2001. p.77-78.

DENCE, C.W.; LIN, S.Y. Introduction. In: LIN, S.Y.; DENCE, C.W. (Ed.). **Methods in lignin chemistry**. Berlin: Springer-Verlag, 1992. p.1-19.

DURRANT, W.E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v.42, p.185-209, 2004.

GAUILLARD, F.; RICHARD-FORGET, F.; NICOLAS, J. New spectrophotometric assay for polyphenol oxidase activity. **Analytical Biochemistry**, v.215, p.59-65, 1993.

GLAZEBROOK, J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.43, p.205-227, 2005.

GODOY, C.V.; BERGAMIN FILHO, A.; SALGADO, C.L. Doenças do cafeeiro (*Coffea arabica* L.). In: KIMATI, H.; BERGAMINI FILHO, A.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p.184-200.

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

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

GUZZO, S.D.; HARAKAVA, R.; TSAI, S.M. Identification of coffee genes expressed during systemic acquired resistance and incompatible interaction with *Hemileia vastatrix*. **Journal of Phytopathology**, v.157, n.10, p.625-638, Oct. 2009.

GUZZO, S.D.; MARTINS, E.M.F.; MORAES, W.B.C. Induced protection of coffee plants to *Hemileia vastatrix*: I., partial purification of the extracellular inducer from heat-killed urediniospores of the pathogen. **Fitopatologia Brasileira**, v.12, n.4, p.377-385, 1987.

JACKSON, T.J.; BURGESS, T.; COLQUHOUN, I.; HARDY, G.E.S. Action of the fungicide phosphate on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, v.49, n.1, p.147-154, 2000.

LOBATO, M.C.; OLIVIERI, F.P.; GONZÁLEZ ALTAMIRANDA, E.A.; WOLSKI, E.A.; DALEO, G.R.; CALDIZ, D.O.; ANDREU, A.B. Phosphite compounds reduce disease severity in potato seed tubers and foliage. **European Journal of Plant Pathology**, v.122, n.3, p.349-358, Nov. 2008.

MEDEIROS, F.C.L.; RESENDE, M.L.V.; MEDEIROS, F.H.V.; ZHANG, H.M.; PARÉ, P.W. Defense gene expression induced by a coffee-leaf extract formulation in tomato. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.74, n.2, p.175-183, Apr. 2009.

MELO, G.A.; SHIMIZU, M.M.; MAZZAFERA, P. Polyphenoloxidase activity in coffee leaves and its role in resistance against the coffee leaf miner and coffee leaf rust. **Phytochemistry**, v.67, p.277-285, 2006.

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

NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; BARGUIL, B.M.; MORAES, S.R.G.; VILAS-BOAS, C.H. Efeito de indutores de resistência em cafeeiro contra a mancha de Phoma. **Summa Phytopathologica**, v.35, n.1, p.60-62, 2009.

NOJOSA, G.B.A.; RESENDE, M.L.V.; RESENDE, A.V. Uso de fosfitos e silicatos na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L.S. et al. (Org.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. v.1, p.139-153.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. p.365-392.

PENG, X.; ZHANG, H.; BAI, Z.; LI, B. Induced resistance to *Cladosporium cucumerinum* in cucumber by pectinases extracted from *Penicillium oxalicum*. **Phytoparasitica**, v.32, p.377-387, 2004.

PEREIRA, R.B.; RESENDA, M.L.V. de; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; AMARAL, D.R.; LUCAS, G.C.; CAVALCANTI, F.R. Ativação de defesa em cacauero contra a murcha-de-verticílio por extratos naturais e acibenzolar-S-metil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.171-178, 2008.

PEREIRA, V.F.; RESENDE, M.L.V.; MONTEIRO, A.C.A.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; REGINA, M.A.; MEDEIROS, F.C.L. Produtos alternativos na proteção da videira contra o míldio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.1, p.25-31, jan. 2010.

RAMIREZ, J. Compuestos fenólicos em la pulpa de café: cromatografia de papel da pulpa fresca de 12 cultivares de *Coffea arabica* L. **Turrialba**, v.37, p.317-323, 1987.

RESENDE, M.L.V.; BARGUIL, B.M.; RESENDE, R.S.; BESERRA JÚNIOR, J.E.A.; SALGADO, S.M.L. Induction of resistance against *Phoma costarricensis* on coffee leaves by extracts from citrus pulp and coffee leaves and husks. In: THE INTERNATIONAL JOINT WORKSHOP ON PR-PROTEINS AND INDUCED RESISTANCE, 1., 2004, Helsingor. **Abstract**. Helsingor: Universitas Friburgensis, 2004. p.79.

RESENDE, M.L.V.; CAVALCANTI, F.R.; SANTOS, F.S.; AMARAL, D.R.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M. **Formulação para indução de resistência em plantas, a base de extrato vegetal obtido de folhas do cafeeiro**. BR n. PI 0603575-2, 2006.

RESENDE, M.L.V.; COSTA, J.C.B.; CAVALCANTI, F.R.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; CAMILO, F.R. Seleção de extratos vegetais para indução de resistência e ativação de respostas de defesa em cacauero contra a vassoura-de-bruxa. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n.3, p.213-221, 2007.

RESENDE, M.L.V.; ISHIDA, A.K.N.; SANTOS, F.S.; AMARAL, D.R.; COSTA, J.C.B. **Composição para indução de resistência em plantas, a base de extratos de casca de frutos de café**. BR n. PI 0705598-6, 19 abr. 2007.

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

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

RODRIGUES, F.A.; JURICK, W.M.; DATNOFF, L.E.; JONES, J.B.; ROLLINS, J. Silicon influences cytological and molecular events in compatible and incompatible rice-Magnaporthe grisea interactions. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.66, p.144-159, 2005.

ROSA, R.C.T.; CAVALCANTI, V.A.L.B.; COELHO, R.S.B.; PAIVA, J.E. Efeito de produtos alternativos e de fungicidas no controle do míldio da videira. **Summa Phytopathologica**, v.34, n.3, p.256-258, 2008.

SALUSTIANO, M.E.; POZZA, E.A.; FERRAZ FILHO, A.C.; BOTELHO, A.O.; ALVES, E. Variabilidade em dez populações de *Hemileia vastatrix* em relação à germinação e ao comprimento do tubo germinativo em quatro temperaturas. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.5, p.1651-1656, set./out. 2008.

SANTOS, F.S.; SOUZA, P.E.; RESENDE, M.L.V.; POZZA, E.A.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; MIRANDA, J.C.; MANERBA, F.C. Efeito de extratos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.59-63, 2007.

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

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

TAVARES, G.M.; LARANJEIRA, D.; LUZ, E.D.M.N.; SILVA, T.R.; PRIMINHO, C.P.; RESENDE, M.L.V.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M. Indução de resistência do mamoeiro à podridão radicular por indutores bióticos e abióticos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.11, p.1416-1423, nov. 2009.

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

URBANEK, H.; KUZNIAK-GEBAROWSKA, E.; HERKA, H. Elicitation of defence responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.13, p.43-50, 1991.

VAN LOON, L.C. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis related proteins. **European Journal of Plant Pathology**, v.103, n.9, p.753-765, Dec. 1997.

WIRTH, S.J.; WOLF, G.A. Dye-labelled substrates for the assay and detection of chitinase and lysozyme activity. **Journal of Microbiological Methods**, v.12, p.197-205, 1990.

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