

ALESSANDRO ANTÔNIO FORTUNATO

SILÍCIO NA RESISTÊNCIA DA BANANEIRA AO MAL DO PANAMÁ

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2009

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

T

F745s  
2009  
Fortunato, Alessandro Antônio, 1982-  
Silício na resistência da bananeira ao mal do Panamá /  
Alessandro Antônio Fortunato. – Viçosa, MG, 2009.  
ix, 45f.: il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Fabrício Ávila Rodrigues.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Referências bibliográficas: f. 40-45.

1. Banana - Doenças e pragas. 2. Banana - Resistência a  
*Fusarium oxysporum*. 3. Banana - Efeito do silício.  
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 634.77294

ALESSANDRO ANTONIO FORTUNATO

**SILICIO NA RESISTÊNCIA DA BANANEIRA AO MAL DO PARAMÁ**

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

APROVADA: 28 de Julho de 2009.

---

Olinto Liparini Pereira  
(Co-Orientador)

---

Onkar Dev Dhingra  
(Co-Orientador)

---

Ivanete Tonole da Silva

---

Eduardo Seiti G. Mizubuti

---

Fabício de Ávila Rodrigues  
(Orientador)

*À DEUS,  
Aos meus pais Maria Aparecida e Antônio,  
Ao meu irmão Thiago  
Às minhas amadas filhas Maria Eduarda e Ana Luísa  
e ao meu orientador Fabrício de Ávila Rodrigues  
Por toda dedicação e carinho.*

**DEDICO**

## **BIOGRAFIA**

**ALESSANDRO ANTÔNIO FORTUNATO**, filho de Antônio Fortunato e Maria Aparecida Fortunato, nasceu em Nepomuceno, Minas Gerais, em 29 de setembro de 1982. Em maio de 2002, ingressou no curso de Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa (UFV) graduando-se em março de 2007. Em agosto de 2007, ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, submetendo-se a defesa da dissertação em 27 de julho de 2009.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS por mais uma conquista alcançada em minha vida.

Aos meus pais, Antônio Fortunato e Maria Aparecida Fortunato, pelo carinho, apoio, companheirismo, confiança e por sempre terem sido para mim um referencial de dedicação, honestidade e perseverança.

A Universidade Federal de Viçosa (UFV), ao Departamento de Fitopatologia e ao Programa de Pós-graduação em Fitopatologia por proporcionarem condições de realizar este trabalho.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de Mestrado, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e a Excell Minerais e Fertilizantes Ltda pelo apoio financeiro para a realização desse projeto.

Ao Professor Fabrício de Ávila Rodrigues pela orientação, amizade, apoio, paciência e confiança, sendo não somente um orientador de excelência, mas um amigo e um exemplo a ser seguido.

Aos professores Olinto Liparini Pereira, Onkar Dev Dhingra e Eduardo Seiti G. Mizubuti, pelos aconselhamentos e incentivo.

Ao Prof. Eduardo Seiti G. Mizubuti por disponibilizar a utilização de alguns equipamentos em seu laboratório.

A Dra. Ivanete Tonole da Silva e ao Prof. Eduardo Seiti G. Mizubuti por participarem na minha banca de defesa de dissertação.

Ao Prof. Gilberto F. Corrêa da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) por indicar a classe de solo utilizada nesse estudo. Ao Prof. Gaspar H. Korndörfer (UFU) por realizar as análises de silício no material vegetal.

A Empresa Multiplanta Tecnologia Vegetal pelo fornecimento das mudas de bananeira para execução dos experimentos.

Ao Dr. Miguel Angel Dita Rodríguez (EMBRAPA Fruticultura Tropical) pelo fornecimento do isolado monospórico de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*.

Aos estudantes Júlio Cezar Parpaola Baroni e Wiler Ribas Moreira pela amizade, companheirismo e auxílio na execução dos experimentos.

Aos professores do Departamento de Fitopatologia da UFV pelos ensinamentos durante o cursar das disciplinas.

A todos os colegas do Laboratório da Interação Planta-Patógeno pela amizade e companheirismo durante este tempo de convivência.

Aos amigos do curso de Mestrado pelo companheirismo e amizade. Aos amigos Alexandre Capucho, Danilo Pinho, Carlos Bragança, Rafael Alfenas, Jaime Honorato, Míriam Fumiko, Fabrício Lanza, Daniel Lage, Henrique Duarte, Alessandro Nicoli, Silvino Intra Moreira e Ivanete Tonole pelo incentivo e companheirismo durante esta jornada. A Kelly Telles pela amizade e auxílio na execução das análises bioquímicas.

Aos funcionários Bruno, Camilo, Geraldo (“Fizinho”), Renato (“Renatinho”), Dagoberto, Delfin, Paulo, Braz, Adão, Rita e Délio pela demonstração de boa vontade e ajuda durante a execução desse trabalho.

A todas as pessoas que de alguma forma ou de outra contribuíram para realização desse trabalho.

## SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO.....	Vii
ABSTRACT.....	Ix
REVISÃO DE LITERATURA	01
O mal do Panamá.....	01
Uso do silício (Si) no manejo de doenças de plantas.....	03
INTRODUÇÃO	07
MATERIAL E MÉTODOS	09
Material solo utilizado para o crescimento das plantas.....	09
Fonte, doses de silício e adubação das plantas de bananeira.....	09
Obtenção do isolado de <i>Foc</i> e inoculação das plantas de bananeira.....	10
Avaliação do Si na redução dos sintomas do mal do Panamá.....	11
Avaliação indireta da doença.....	11
Avaliação direta da doença.....	11
Determinação da concentração de Si e cálcio (Ca) .....	14
Determinação de variáveis fisiológicas e bioquímicas da resistência da bananeira ao mal do Panamá afetadas pelo silício.....	14
Concentração de pigmentos (clorofila <i>a</i> e <i>b</i> , clorofila total e de carotenóides).....	14
Determinação da concentração de aldeído malônico.....	14
Determinação da concentração de peróxido de hidrogênio.....	15
Determinações enzimáticas .....	15
Fenilalanina amônia-liase.....	15
Polifenoloxidase.....	16
Peroxidase.....	16
$\beta$ -1,3-glucanase.....	17
Quitinase.....	17
Determinação da concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFST) e concentração dos derivados da lignina-ácido tioglicólico (DLATG).....	18
Delineamento experimental e análise estatística dos dados.....	19
RESULTADOS.....	20
DISCUSSÃO.....	33
CONCLUSÕES.....	39
REFERÊNCIAS.....	40



## RESUMO

FORTUNATO, Alessandro Antônio, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2009. **Silício na resistência da bananeira ao mal do Panamá.** Orientador: Fabrício de Ávila Rodrigues. Co-Orientadores: Olinto Liparini Pereira e Onkar Dev Dhingra.

O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito do silício (Si) em reduzir os sintomas do mal do Panamá, causado por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (*Foc*), em bananeira, além da potencialização de mecanismos bioquímicos de defesa. Plantas das cultivares Grande Naine (resistente) e Maçã (suscetível), foram crescidas em solo contendo 0 (-Si) e 0,39 g Si (+Si)/kg de solo e foram inoculadas com *Foc* aos 60 dias após o transplântio. A avaliação do progresso do mal do Panamá (avaliado de forma indireta e direta) e as determinações bioquímicas foram realizadas posteriormente. Não houve diferença na concentração de Si no sistema radicular e no rizoma-pseudocaule entre as duas cultivares de bananeira, mas a concentração desse elemento foi maior em plantas supridas com Si quando comparadas com as não supridas. Plantas da cultivar Maçã apresentaram maior concentração de Si no rizoma-pseudocaule quando comparadas com plantas da cultivar Grande Naine. A concentração de cálcio no sistema radicular e no rizoma-pseudocaule foi similar entre as plantas das duas cultivares. As variáveis área abaixo da curva do progresso dos sintomas reflexos nas folhas, área abaixo da curva do progresso dos sintomas no sistema radicular e a área abaixo da curva do progresso do escurecimento do rizoma foram reduzidas somente nas plantas supridas com Si. O fornecimento de Si às plantas das duas cultivares também reduziu as variáveis área abaixo da curva do progresso da colonização fúngica assintomática, área abaixo da curva do progresso do comprimento relativo de lesão e a área abaixo da curva do progresso do mal do Panamá. A concentração de pigmentos nas folhas das plantas das duas cultivares supridas com Si foi maior em comparação com as plantas não supridas. A concentração de aldeído malônico e peróxido de hidrogênio não diferiu entre as duas cultivares supridas ou não com Si. A concentração de CFST e dos DLATG foi maior no sistema radicular das plantas das duas cultivares supridas com Si. Não houve efeito pronunciado do Si em potencializar a atividade das enzimas FAL, PER, PFO, GLU e QUI no sistema radicular das plantas das duas cultivares. Os resultados deste trabalho sugerem um efeito do Si em potencializar respostas de defesa da bananeira à

*Foc*, principalmente para a cultivar suscetível, através da redução dos sintomas da doença associada com uma maior lignificação e produção de compostos fenólicos no sistema radicular.

## ABSTRACT

FORTUNATO, Alessandro Antônio, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2009. **Silicon on banana resistance to Panamá disease.** Advisor: Fabrício Ávila Rodrigues. Co-Advisors: Olinto Liparini Pereira and Onkar Dev Dhingra.

This study aimed to determine the effect of silicon (Si) to reduce the symptoms of Panamá disease, caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (*Foc*), on banana, besides the potentialization of some biochemical mechanisms of defense. Plants from cultivars “Grande Naine” (resistant) and “Maçã” (susceptible), were grown on plastic pots amended with 0 (-Si) and 0.39 g Si (+Si) per kg of soil and inoculated with *Foc* at 60 days after transplanting. Panamá disease progress (indirect and direct evaluations) and some biochemical determinations were performed. There was no difference between cultivars for Si concentration on the root system and on the rhizome-pseudostem, but Si concentration was higher on plants supplied with Si than on plants non-supplied with this element. Plants from cultivar “Maçã” showed the highest Si concentration on the pseudostem as compared to plants from cultivar “Grande Naine”. Calcium concentration on the root system and on the rhizome-pseudostem was similar between plants from the two cultivars. The values for the variables area under reflex symptoms progress curve on leaves, area under symptoms progress on root system progress curve, and area under dark pseudostem progress curve were reduced in the presence of Si. Plants supplied with Si from both cultivars also showed reduced values for area under asymptomatic fungic colonization progress curve, area under relative lesion length progress curve, and area under Panamá disease progress curve. The concentration of pigments on leaves from the two cultivars supplied with Si was greater as compared to plants non supplied with this element. The concentration of malonic aldehyde and hydrogen peroxide was not different between the two cultivars supplied or not with Si. The concentration of total soluble phenolics and lignin-thioglycolic acid derivatives was greater on root system of plants from the two cultivars supplied with Si. The activities of the enzymes phenylalanine ammonia lyase, peroxidase, polyphenoloxidase, glucanase, and chitinase on the root system of the two cultivars were not potentiated by Si. The results of this study show an effect of Si to potentiate defense responses of banana to *Foc*, especially for the susceptible cultivar through the reduction of disease

symptoms in association with a greater lignification and production of phenolics on the root system.

## 1. REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1 O mal do Panamá da bananeira

O mal do Panamá, causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (E. F. Smith) Snyder & Hansen (*Foc*), é uma das doenças mais destrutivas da cultura da bananeira, sendo encontrada na maioria das regiões produtoras no mundo (Cordeiro et al., 2005; Kupper, 2008; Ploetz, 2003, 2006). No Brasil, o problema é ainda mais grave em função das cultivares utilizadas que, na maioria dos casos, são suscetíveis ao fungo. A partir do momento em que o patógeno se estabelece no solo, é praticamente impossível erradicá-lo, pois o mesmo pode sobreviver na ausência de plantas hospedeiras por vários anos (Cordeiro et al., 2005; Kupper, 2008, Ploetz, 2003).

O fungo produz macro e microconídios, que são responsáveis pela sua dispersão, mas também produz clamidósporos que permitem sua sobrevivência no solo (Cordeiro et al., 2005; Ploetz, 2003). As condições ideais para a ocorrência da doença são temperaturas entre 21 a 33°C, solos ácidos e pobres em nutrientes (Cordeiro et al., 2005; Kupper, 2008; Nogueira, 2002; Ploetz, 2003, 2006).

A dispersão do patógeno ocorre principalmente pela liberação de conídios produzidos em restos culturais de plantas doentes, e em muitas áreas, pelo emprego de material propagativo contaminado. Outras formas de dispersão são via água de irrigação, ferramentas empregadas nos tratos culturais e vento (Cordeiro et al., 2005; Kupper, 2008; Ploetz, 2003, 2006).

As plantas infectadas por *Foc* exibem sintomas externos caracterizados por um amarelecimento progressivo das folhas mais velhas para as mais novas, começando pelos bordos do limbo foliar e evoluindo no sentido da nervura principal (Cordeiro et al., 2005; Kupper, 2008; Ploetz, 2003, 2006). Conseqüentemente, as folhas murcham, secam e se quebram junto ao pseudocaule, o que confere à planta a aparência de um guarda-chuva fechado. Isso ocorre devido à formação de géis e e tiloses em resposta ao desenvolvimento do patógeno, que dificultam o transporte ascendente de água e nutrientes para a parte aérea (Cordeiro et al., 2005; Ploetz, 2003). Internamente, ocorre escurecimento do sistema vascular que pode ser observado em raízes, no rizoma e no pseudocaule de plantas infectadas por *Foc*. No rizoma, é comum observar pontuações pardo-avermelhadas em todo o cilindro central e ao cortar transversalmente o pseudocaule, visualiza-se um anel pardo-

avermelhado tornando-se escuro à medida que a doença progride (Cordeiro et al., 2003, 2005; Kupper, 2008; Ploetz, 2003, 2006).

Trabalhos filogenéticos indicam que este patógeno originou do sudoeste da Ásia e provavelmente coevoluiu com a bananeira nestas regiões. O patógeno apresenta uma grande variabilidade genética, e atualmente grupos de compatibilidade vegetativa ou somática têm sido usados extensivamente para caracterizá-lo (Koenig et al., 1997). Comumente a variabilidade de *Foc* é representada por meio de raças fisiológicas, sendo que existem quatro subtropicais (raças 1, 2, 3 e 4) e uma raça tropical (TR4). A raça 1 é responsável pela infecção das cultivares pertencentes aos subgrupos Prata e Gros Michel; a raça 2 infecta cultivares pertencentes ao subgrupo Bluggoe como as cultivares Figo cinza, Figo Vermelho ou Marmelo, Pelipita e Bluggoe entre outras; a raça 3 infecta plantas da família Heliconiaceae e a raça 4, que ainda não foi detectada nas Américas, infecta cultivares pertencentes ao subgrupo Cavendish (Ploetz, 2003; Cordeiro et al., 2005). A raça tropical, conhecida como TR4, é a mais importante dentre todas as raças descritas, pois apresenta a capacidade de infectar as cultivares resistentes, às raças mais comuns (raças 1 e 2), que são responsáveis por mais de 80% da produção mundial de banana como Gros Michel Silk, Grande Naine, Williams, Plátano, entre outras (Cordeiro et al., 2005; Ploetz, 2006).

Várias medidas são propostas visando o manejo do mal do Panamá, mas até o momento estes esforços não produziram os efeitos esperados. Normalmente, recomenda-se adquirir mudas provenientes de cultura de tecidos, evitar áreas com histórico de ocorrência de *Foc*, controlar fitonematóides (*Pratylenchus* e *Radopholus similis*) por favorecerem a penetração do patógeno através dos ferimentos causados, desinfestar ferramentas empregadas nos tratamentos culturais, realizar calagem, usar fungicidas tais como thiabendazole e carbendazim e usar cultivares resistentes. Geralmente, os bananicultores tem adotado o uso de cultivares resistentes (pertencentes ao grupo Cavendish, resistentes às raças subtropicais 1 e 2) associado a obtenção de mudas via cultura de tecidos como alternativa de garantir eficiência no manejo da doença (Cordeiro et al., 2005; Ploetz, 2003). Entretanto, devido ao enorme risco de dispersão da raça subtropical 4 e a TR4 de *Foc*, que são altamente agressivas e capazes de suplantar a resistência das cultivares resistente (grupo Cavendish), medidas alternativas de controle vem sendo estudadas como forma de garantir sucesso na exploração desta cultura.

## 1.2 Uso do silício (Si) no manejo de doenças de plantas

Em relação à constituição do solo por elementos minerais, o Si é o segundo elemento em prevalência (Epstein, 1999). Para que esse elemento seja absorvido pelas raízes das plantas faz-se necessário que o mesmo esteja disponível na solução do solo na forma de ácido monossilícico ( $\text{H}_2\text{SiO}_4$ ) e também nas formas iônicas ( $\text{SiO}_4^{-2}$ ,  $\text{Si}^{-4}$ ) (Ma et al., 2001). O que caracteriza a prevalência de uma forma disponível de Si em relação à outra é o pH do solo, sendo que quanto maior a alcalinidade maior será o grau de ionização do ácido monossilícico (Iler, 1979; Oliveira, 2007).

Mesmo que o sistema radicular das plantas esteja em contato com o elemento na solução e este possa estar em concentrações elevadas, o teor final na parte aérea pode variar de 0,1 a 10% do peso da matéria seca (Epstein, 1991). Essa variação ocorre devido às diferenças existentes na habilidade do sistema radicular das diferentes espécies de plantas em absorver o Si da solução do solo, bem como a existência de transportadores específicos desse elemento nas raízes das diferentes espécies de plantas (Mitani & Ma, 2005; Ma et al., 2006). Uma planta acumuladora de Si apresenta uma absorção ativa do elemento maior do que a absorção de água, plantas intermediárias apresentam absorção passiva e similar à absorção de água e plantas ineficientes por apresentarem absorção menor do que a absorção de água (Jones & Handreck, 1967). A bananeira apresenta alta capacidade de absorção e pode acumular de 0,7 a 3,8% na matéria seca de plantas jovens (Jauhari et al., 1974). Henriet et al. (2006) verificaram que o nível de Si disponível às bananeiras não afetou o crescimento, a absorção de água e de nutrientes. A taxa de absorção e a concentração de Si nos tecidos das plantas aumentaram consideravelmente com o suprimento desse elemento e a sua distribuição na parte aérea acompanhou a transpiração sendo que as folhas apresentaram os maiores teores de Si.

De acordo com os conceitos de essencialidade dos nutrientes minerais estabelecidos por Arnon & Stout (1939), o Si não seria considerado um elemento essencial, pois a planta consegue completar o seu ciclo de vida sem a presença desse elemento e por esse não participar da constituição de nenhuma molécula essencial à planta. No entanto, plantas crescendo em ambiente rico em Si podem diferir de outras que estão presentes em ambientes deficientes nesse elemento principalmente quanto à resistência mecânica das células, características de superfície foliar, tolerância a estresses abióticos oferecendo proteção contra a toxicidade de alumínio e

de metais pesados e aliviando os efeitos da salinidade no solo (Epstein, 1999; Epstein & Blom, 2005; Ma et al., 2006). Considerando a importância que o Si apresenta para muitas espécies de plantas, esse elemento tem sido classificado como sendo quase-essencial (Epstein & Bloom, 2005).

O Si também está envolvido no controle de doenças fúngicas em culturas de expressão econômica. Cita-se como exemplos a brusone, a mancha parda e a podridão do colmo em arroz; o míldio pulverulento em alguns cereais de inverno (trigo, a cevada e o centeio) e em cucurbitáceas (Datnoff et al., 2007). Os mecanismos de resistência conferidos pelo Si ainda permanecem em discussão pela comunidade científica. Do ponto de vista morfológico, o aumento da resistência do arroz a brusone, o qual é considerado um patossistema modelo nos estudos envolvendo Si, está associado com o número de células da epiderme silicificadas (Ishiguro, 2001). De outro lado, a deposição e a polimerização do ácido monossilícico abaixo da cutícula formando uma camada dupla cutícula-sílica é outra hipótese aceita para explicar o aumento da resistência do arroz a penetração pelo fungo *Pyricularia grisea* causador da brusone do arroz (Kim et al., 2002).

Rodrigues et al. (2003) investigaram os efeitos da suplementação de Si às plantas de arroz e o seu efeito na infecção por *P. grisea* a nível ultraestrutural e citoquímico. Os autores apresentaram as primeiras evidências citológicas de que o aumento na resistência do arroz a brusone mediada pelo Si foi devido ao acúmulo de compostos fenólicos. Também foi possível verificar que células da epiderme e do mesófilo de plantas que não foram supridas com Si estavam desprovidas de organelas funcionais, além de terem a parede celular completamente degradada por enzimas produzidas pelo fungo. A ocorrência de células fúngicas vazias circundadas por material amorfo (osmiofílico) associado com células fúngicas nas amostras de plantas supridas com Si sugere claramente que compostos fenólicos tiveram um papel na resistência do arroz a brusone.

Bélanger et al. (2003) estudaram o papel ativo do Si na resistência do trigo a *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* a nível citológico e evidenciaram que as células da parede epidermal de plantas supridas com esse elemento reagiram à penetração e a colonização do fungo com respostas de defesa específicas como a formação de papilas, produção de calose e deposição de material osmiofílico eletro-denso na região da papila de natureza fenólica. Os autores observaram que as papilas contendo material osmiofílico raramente foram penetradas, entretanto quando o fungo



conseguiu penetrá-las, foi observado aumento na produção do material osmiofílico e este reagiu positivamente com  $\beta$ -1-3 glucanas (constituintes da calose), recobrando a célula mãe do haustório restringindo o desenvolvimento normal do fungo. Também observaram que os compostos fenólicos não acumularam somente entre as paredes celulares, mas também se associaram com a alteração da integridade do haustório, fato esse semelhante ao modo de ação das fitoalexinas em outras interações planta-patógeno.

Em outro trabalho, Rodrigues et al. (2005) investigaram o efeito do suprimento de Si sobre os eventos citológicos e moleculares em interações compatíveis e incompatíveis de cultivares de arroz-*P. grisea*. Com o auxílio da técnica de microscopia de contraste por interferência diferencial os autores caracterizaram, a nível citológico, as respostas decorrentes do fornecimento de Si às plantas de arroz e observaram que todos os sítios de penetração da hifa infectiva com ou sem granulação tornaram-se autofluorescentes e que o menor decréscimo na frequência de penetrações das hifas associou-se com a presença do Si. O menor número de células fluorescentes por sítio de penetração foi observado nas folhas de plantas supridas com Si da cultivar M201, entretanto não houve diferença entre as plantas da cultivar resistente (Katy) supridas ou não com Si para a qual uma reação de resistência vertical ocorreu. A acumulação diferencial de transcritos dos genes  $\beta$ -1,3-glucanases, peroxidases e PR-1 foram associadas com a colonização limitada do fungo nas células da epiderme de plantas da cultivar suscetível supridas com Si. No entanto, plantas da cultivar resistente Katy em resposta à raça avirulenta de *P. grisea*, independente do suprimento de Si, apresentaram resposta de hipersensibilidade e uma maior transcrição dos genes PR-1 e peroxidases.

Diogo e Wydra (2007) estudaram o efeito do Si na indução de resistência basal à patogênese de *Ralstonia solanacearum* em três genótipos de tomate: L390 (suscetível), Hawaii 7998 (resistente) e King Kong 2 (moderadamente resistente). Verificaram que a incidência da murcha bacteriana reduziu em plantas supridas com Si nos genótipos Hawaii 7998 (38,1%) e King Kong 2 (100%) quando comparadas com as plantas não supridas (11,4%), indicando que o silício induziu a resistência. A concentração final de Si em plantas de ambos os genótipos foi maior nas raízes do que nos caules, com concentrações variando de 8,26 a 10,88 mg/g de matéria seca.

O Si também pode afetar os componentes de resistência de diversas culturas a patógenos (Datnoff et al., 2007; Dallagnol, 2009). Dallagnol et al. (2009) estudaram

o efeito da absorção de Si em plantas de arroz da cultivar Oochikara e do mutante *lsi1* (deficiente na absorção ativa de Si via raiz), cultivadas em solução nutritiva, sobre alguns componentes de resistência do arroz a mancha parda. Os autores verificaram que houve uma diferença de 112% no conteúdo de Si nos tecidos das folhas da cultivar Oochikara em comparação ao mutante e que o teor de Si foliar correlacionou-se positivamente com o período de incubação e negativamente com a eficiência relativa de infecção, área abaixo da curva de progresso da mancha parda, tamanho final de lesão, taxa de expansão de lesão e área abaixo da curva de progresso da expansão de lesão. As plantas supridas com Si tanto da cultivar Oochikara e do mutante *lsi1* apresentaram diferença significativa em comparação as plantas não supridas com Si para todos os componentes de resistência avaliados.

Em outro trabalho, Resende et al. (2009) investigaram o efeito do Si em alguns componentes de resistência do sorgo à antracnose causada por *Colletotrichum sublineolum* em linhagens suscetível (BR009) e resistente (BR005). Os autores observaram que o aumento nas doses de Si aumentou o período de incubação (PI) e o período latente (PL<sub>60</sub>), e reduziu o número e o tamanho das lesões necróticas e a intensidade da clorose. Nas plantas da linhagem resistente, houve descréscimo na área abaixo da curva do progresso da eficiência relativa de infecção e na severidade final de antracnose quando comparadas com as plantas não supridas com Si.

## 2. INTRODUÇÃO

A banana constitui-se como fonte complementar na alimentação humana e é um dos frutos mais apreciados pelas pessoas ao redor do mundo. O Brasil é o segundo maior produtor mundial de banana com uma produção de 7,1 milhões de toneladas em 2006, ou seja, cerca de 10% da produção mundial, com uma área plantada de aproximadamente 507.000 hectares (Cordeiro et al., 2003; Gonçalves et al., 2005).

Apesar da bananeira ser importante mundialmente, existem limitações que impedem o seu estabelecimento como condições climáticas favoráveis ao crescimento da planta (temperatura média ( $T_m$ ) nos meses mais frios (junho e julho) e deficiência hídrica anual (DEF), que indica se a área oferece aptidão climática com ou sem irrigação suplementar, nos períodos mais críticos da planta) e a ocorrência de pragas e doenças (Cordeiro et al., 2005). Uma das doenças mais destrutivas para a bananeira é o mal do Panamá, causado por *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (E. F. Smith) Snyder & Hansen (*Foc*) (Cordeiro et al., 2005; Kupper, 2008; Ploetz, 2003, 2006). Esta doença é endêmica na maioria das regiões produtoras de banana do mundo. No Brasil, o problema é ainda mais grave em função das cultivares plantadas, que na maioria dos casos, são suscetíveis. A partir do momento em que o patógeno se estabelece no solo, praticamente é impossível erradicá-lo, pois o mesmo pode sobreviver na ausência de plantas hospedeiras por vários anos através da renovação de inóculo. Clamidosporos presentes no solo ao entrarem em contato com a rizosfera de qualquer espécie de planta são estimulados a germinar e neste processo, novos clamidósporos são produzidos e conseqüentemente há renovação de inóculo no campo (Cordeiro et al., 2005; Kupper, 2008).

Embora várias medidas de controle têm sido adotadas para controlar o mal do Panamá, a agressividade e a variabilidade do patógeno na forma de raças, a capacidade de sobreviver saprofiticamente nos restos culturais e a grande dificuldade em se obter cultivares resistentes dificultam o manejo da doença no campo. O tratamento das plantas provenientes da propagação vegetativa com o fungicida tebuconazole e até mesmo a injeção do fungicida carbendazin no pseudocaule da planta tem sido utilizados pelos bananicultores (Ploetz, 2000). O controle biológico através do emprego de microrganismos antagonistas tais como isolados não-patogênicos de *Fusarium*, *Pseudomonas fluorescens* e do fungo micorrízico arbuscular *Gigaspora margarita* é outra medida de controle a ser adotada (Borges et

al., 2007; Ploetz, 2006; Mohandas et al., 2004; Nel et al., 2006). Várias medidas de controle vêm sendo adotadas pelos bananicultores tais como o emprego de plantas provenientes de cultura de tecido, a calagem, a desinfestação de ferramentas e dos implementos empregados (Peng et al., 1999; Ploetz, 2000, 2005). Entretanto, o uso de cultivares resistentes pertencentes ao grupo Cavendish, resistentes às raças 1 e 2, que são mais comuns nas regiões produtoras, é a medida de controle que tem apresentado a maior eficiência (Ploetz, 2000, 2005). Considerando o risco da facilidade da disseminação das raças R4 e TR4 de *Foc* (que são mais agressivas) e suplantação da resistência das cultivares do grupo Cavendish, outras medidas emergenciais e alternativas de controle que permitam o manejo desta doença precisam ser pesquisadas.

Um exemplo de medida de controle que vem auxiliando o manejo de muitas doenças é a nutrição mineral. Dentre os vários elementos já estudados, um que está recebendo maior interesse atualmente por apresentar um possível efeito potencializador de mecanismos de defesa das plantas é o silício (Si). O efeito do Si na redução da intensidade de doenças tem sido verificado em diversas espécies de plantas que possuem a habilidade de acumulá-lo em seus tecidos (Datnoff et al., 2007). A bananeira apresenta alta capacidade de absorção e pode acumular de 0,7 a 3,8% na matéria seca de plantas jovens (Jauhari et al., 1974). O Si pode estar envolvido em dois mecanismos de defesa das plantas: atuar na forma de uma barreira física após a sua deposição e acúmulo na forma de sílica amorfa abaixo da cutícula ou pela potencialização da produção de compostos fenólicos e fitoalexinas, além de uma maior atividade de enzimas relacionadas com a defesa da planta que acaba restringindo a colonização fúngica nos tecidos das plantas (Datnoff et al., 2007).

Considerando a importância econômica do mal do Panamá para a cultura da bananeira e o controle restrito pela utilização de cultivares resistentes, esse trabalho teve como objetivo estudar o efeito do Si em reduzir os sintomas dessa doença, além da potencialização de mecanismos bioquímicos de defesa.

### 3. MATERIAL & MÉTODOS

#### 3.1 Material de solo utilizado para o crescimento das plantas

Foram utilizados os primeiros 20 cm do perfil de um solo pertencente à classe Latossolo Amarelo ácrico típico (EMBRAPA, 2006) de textura muito argilosa, coletado no município de Uberlândia, Minas Gerais. Essa classe de solo foi escolhida por apresentar baixo teor de Si disponível. A análise físico-química desse material de solo encontra-se nas Tabelas 1 e 2.

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

Análise Granulométrica				
Areia Grossa	Areia Fina	Silte	Argila	Classe Textural
g/kg				
140	59	84	717	Muito Argiloso

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

Características Químicas													
pH	Si	P	K	Al	Ca	Mg	H+Al <sup>3+</sup>	SB	t	T	V	M	M.O.
	mg/kg	mg.dm <sup>-3</sup>					cmol.c.dm <sup>-3</sup>				%		dag/kg
4,3	8,6	1,1	8	0,3	0,1	0,1	4,2	0,22	0,52	4,42	5,0	58	1,9

#### 3.2 Fonte, doses de Si e adubação das plantas

Como fonte de Si foi utilizado o produto comercial AgroSilício<sup>®</sup> (silicato de cálcio, CaSiO<sub>3</sub>) da Empresa Excell Minerais e Fertilizantes Ltda, Timóteo, MG. Este produto apresenta as seguintes características químicas: poder relativo de neutralização total (PRNT) de 88%, teor total em Si de 10,5%, teor total em Ca de 25% e teor total em Mg de 6%. Foram empregadas as doses de 0 e 1,75 g de silicato de cálcio/kg de solo, correspondendo, respectivamente, a 0 e 0,39 g Si/kg de solo. Objetivando equilibrar a concentração de Ca e Mg presente em 1,75 g de silicato de cálcio/kg de solo, adicionou-se 1,19 g de CaCO<sub>3</sub> e 0,48 g de MgCO<sub>3</sub>/kg de solo. Com este procedimento, as concentrações de Ca e de Mg provenientes do silicato de cálcio e do carbonato de cálcio ficaram padronizadas em 0,27 g Ca/kg de solo e 0,05 g de Mg/kg de solo, respectivamente. Apenas a concentração de Si variou entre os tratamentos.

O material de solo, após receber os tratamentos, foi colocado em bandejas plásticas (40x25x8 cm) na quantidade de 5 kg por bandeja ou em vasos plásticos (3 kg de solo por vaso), molhado com água destilada até atingir a capacidade de campo,

coberto com lona plástica e incubado por aproximadamente 20 dias para a correção da acidez e elevação da saturação de bases (V) para 70%.

Após a incubação do material de solo, plantas das cultivares Grande Naine (resistente) e Maçã (suscetível), provenientes de cultura de tecidos (Multiplanta Tecnologia Vegetal, Andradas, MG), foram transplantadas e crescidas nas bandejas ou nos vasos plásticos por aproximadamente 60 dias. Aplicou-se 0,44 g de super simples/kg de solo dois dias antes do transplante e no dia do transplante foram aplicados 1 g de cloreto de potássio e 0,34 g de uréia/kg de solo. Em cobertura, foi fornecido às plantas 100 mL de solução nutritiva/kg de solo contendo: 192 mg de KCl, 104,42 mg de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 150,35 mg de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 61 mg de CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O, 0,27 mg de (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>MO<sub>7</sub>)<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O, 1,61 mg de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 6,67 mg de ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 1,74 mg de CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O e 4,10 mg de MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O. Essa solução nutritiva foi aplicada a cada quinze dias.

### **3.3 Obtenção do isolado de *Foc* e inoculação das plantas**

Foi utilizado o isolado monospórico VG01206 de *Foc* (raça 1) fornecido pela EMBRAPA-Mandioca e Fruticultura Tropical comprovadamente patogênico à bananeira. Para a obtenção dos conídios de *Foc*, foi utilizada a metodologia descrita por Subramaniam et al. (2006), no qual o fungo foi repicado para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar. Posteriormente, as placas foram mantidas por aproximadamente 12 dias em incubadora a 25°C e fotoperíodo de 12 h luz/escuro. Após a comprovação da presença de conídios em microscópio de luz, foi preparada uma suspensão desses em água destilada estéril na concentração de  $2 \times 10^6$  microconídios/mL ajustada com o auxílio de um hemacitômetro. O isolado de *Foc* foi preservado pelo método da sílica gel e armazenado em geladeira.

Foi adotado o método do corte do sistema radicular e da imersão desse em uma suspensão de microconídios por aproximadamente 2 h (Mohamed et al., 1999; Subramaniam et al., 2006) para a inoculação das plantas de bananeira com *Foc*. Apesar de ser um método de inoculação drástico, esse permite uma maior uniformidade de inoculação e uma rápida manifestação dos sintomas em comparação a outros métodos existentes. Após a inoculação, as plantas foram novamente transplantadas para as respectivas bandejas ou vasos plásticos. Adicionalmente, 2 mL da suspensão de conídios foi colocada ao redor de cada planta. As plantas inoculadas foram mantidas em condições de casa de vegetação até aos 40 dias após a inoculação, o que correspondeu ao final das avaliações.

### 3.4 Avaliação do efeito do Si no desenvolvimento da doença

#### 3.4.1 Avaliação indireta da doença

O desenvolvimento do mal do Panamá foi avaliado aos 8, 16, 24, 32 e 40 dias após inoculação (dai) utilizando-se uma escala de notas para os sintomas reflexos da doença na parte aérea (Tabela 1) e os sintomas no sistema radicular (Tabela 2). Avaliou-se também o efeito da colonização por *Foc* no escurecimento do rizoma e do pseudocaule de acordo com a escala proposta por Mahomed et al. (1999) (Tabela 3). Com os dados obtidos, calculou-se a área abaixo da curva do progresso dos sintomas reflexos nas folhas (AACPSRF), área abaixo da curva do progresso dos sintomas no sistema radicular (AACPSSR) e a área abaixo da curva do progresso do escurecimento do rizoma (AACPER).

**Tabela 1.** Escala para avaliar os sintomas reflexos do mal do Panamá na parte aérea de plantas de bananeira.

Notas	Descrição
1	planta assintomática
2	folhas parcialmente amareladas e sem necrose
3	amarelecimento intenso das folhas com necrose moderada
4	amarelecimento intenso das folhas, necrose intensa e folhas deformadas
5	planta morta

**Tabela 2.** Escala para avaliação dos sintomas do mal do Panamá no sistema radicular.

Notas	Descrição
1	raízes assintomáticas
2	raízes com necrose
3	raízes com necrose intensa
4	necrose na raiz principal e raízes novas sem infecção
5	necrose na raiz principal e raízes nova com infecção
6	raízes mortas e apodrecidas

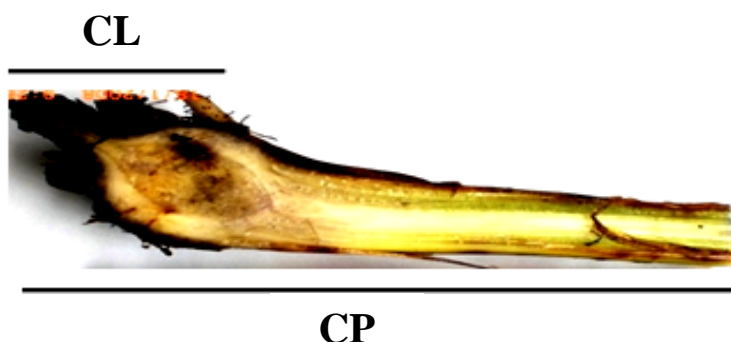
**Tabela 3.** Escala para avaliação do escurecimento do rizoma e do pseudocaule de plantas de bananeira.

Notas	Descrição
1	ausência de escurecimento do rizoma
2	região central do rizoma sem escurecimento, mas presente somente entre a junção da raiz com o rizoma
3	região central do rizoma com até 5% de escurecimento
4	região central do rizoma com 6 a 20% de escurecimento
5	região central do rizoma com 21 a 49% de escurecimento
6	região central do rizoma com mais de 50% de escurecimento
7	planta morta

### 3.4.2 Avaliação direta da doença

As plantas coletadas para avaliação indireta da doença (item 3.4.1) também foram utilizadas para avaliar de forma direta os danos causados por *Foc*, respeitando-se a individualidade de cada repetição.

Avaliando-se a extensão da colonização de *Foc* no rizoma-pseudocaule, em cada planta avaliada foi determinado o comprimento desde a base do rizoma até a extremidade distal do pseudocaule (CP) e o comprimento da lesão (CL) nesse intervalo. Com estas duas variáveis determinou-se o comprimento relativo de lesão (CRL) de acordo com a seguinte fórmula:  $CRL = CL \times 100/CP$  (Figura 1).



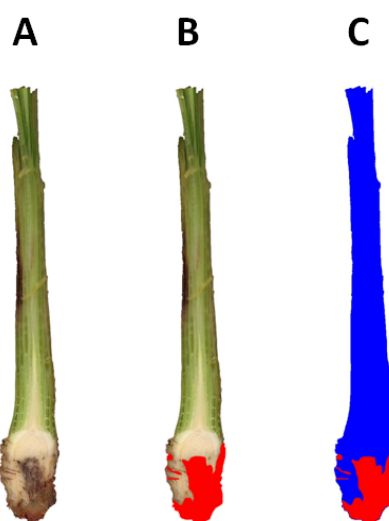
**Figura 1.** Exemplo ilustrativo da determinação do comprimento relativo de lesão. A região escurecida corresponde ao comprimento da lesão (CL) e o comprimento do pseudocaule (CP) é a distância da base do rizoma até a extremidade distal do pseudocaule.

No final das avaliações, a severidade da doença no rizoma e no pseudocaule das plantas inoculadas foi determinada com o auxílio do software QUANT 1.0 (Vale et al., 2003). As raízes e o tecido senescente de cada planta foram removidos de forma a reduzir possíveis interferências durante as avaliações. Cada planta foi padronizada para um comprimento de 90 mm (distância da base do rizoma até o ápice do pseudocaule). Em seguida, as plantas foram cortadas no seu eixo longitudinal e divididas em duas partes. Essas partes foram imediatamente colocadas em uma solução de ácido ascórbico a 2% para evitar a oxidação de compostos fenólicos naturalmente presentes nos tecidos da planta.

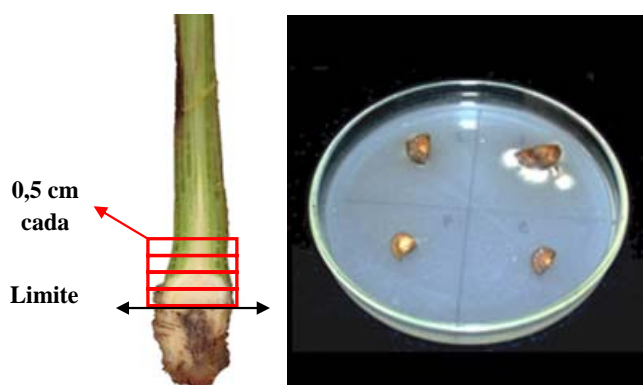
Em seguida, uma das partes de cada planta foi escaneada na resolução de 300 dpi e a imagem obtida foi utilizada para quantificar a severidade da doença no rizoma e no pseudocaule. Para facilitar essa análise, a área do tecido doente de cada planta foi previamente delimitada com o auxílio do software Adobe Photoshop CS2®. A Figura 2 representa as etapas seguidas para quantificar a severidade da doença.



Outra forma de avaliar o efeito do Si como barreira física nos tecidos das plantas foi o reisolamento de *Foc* a partir de fragmentos distanciados a cada 0,5 cm da área limítrofe entre o tecido doente e o tecido potencialmente sadio proveniente do rizoma e pseudocaule. Para tal, foram utilizados quatro fragmentos por planta para a obtenção da colonização fúngica assintomática (CFA). Esses fragmentos foram colocados em placas de Petri divididas em quadrantes e contendo meio de cultura pentacloronitrobenzeno-peptona-ágar, o qual é seletivo para espécies do gênero *Fusarium* (Leslie & Summerell, 2006) (Figura 3).



**Figura 2.** Esquema ilustrativo das etapas para determinar a severidade do mal do Panamá. O material foi escaneado (A), o tecido doente foi delimitado utilizando-se o software Adobe Photoshop CS2<sup>®</sup> (B) e a análise das imagens foi realizada com o software QUANT 1.0 (C). A área vermelha corresponde ao tecido doente e a área azul ao tecido sadio.



**Figura 3.** Esquema ilustrativo para a obtenção dos fragmentos de rizoma e pseudocaule utilizados para o reisolamento de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*.

Com os dados obtidos a partir das avaliações diretas mencionadas anteriormente, calculou-se a área abaixo da curva do progresso da colonização fúngica

assintomática (AACPCFA), área abaixo da curva do progresso do comprimento relativo de lesão (AACPCRL) e a área abaixo da curva do progresso do mal do Panamá (AACPMP).

### **3.5 Determinação da concentração de Si e cálcio (Ca)**

O material vegetal (sistema radicular e rizoma-pseudocaule) foi devidamente lavado em água destilada e secado em estufa com ventilação forçada de ar a 70°C até atingir peso constante e, em seguida, moído em moinho tipo Thomas-Wiley equipado com peneira de 20 mesh. A concentração de Si nas amostras do material vegetal foi determinado de acordo com a metodologia proposta por Korndörfer et al. (2004). A concentração de Ca foi determinada por digestão nitroperclórica e espectrofotometria de absorção atômica.

### **3.6 Determinação de variáveis fisiológicas e bioquímicas da resistência da bananeira ao mal do Panamá afetadas pelo Si**

Para a determinação da concentração de pigmentos, foram coletadas amostras (200 mg) da última, penúltima e antepenúltima folha das plantas das repetições às 96 hai. Foram coletadas amostras de raízes (200 mg) das plantas das repetições de cada tratamento para as determinações da concentração de aldeído malônico, peróxido de hidrogênio, determinação da concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFST) e derivados da lignina-ácido tioglicólico (DLATG) às 0, 72 e 120 hai e para determinações enzimáticas às 0, 24, 48, 72, 96 e 120 hai. Amostras coletadas às 0 hai foram obtidas de plantas que tiveram o seu sistema radicular imerso em água deionizada estéril por um período de 2 horas. Todas as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a -80°C.

**a) concentração de pigmentos (clorofila *a* e *b*, clorofila total e de carotenóides):** as amostras foram maceradas em almofariz contendo nitrogênio líquido com adição de 1 mg de carbonato de cálcio. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas com 2 mL de acetona 80% (v/v) por 1 min em ambiente com intensidade luminosa reduzida. A suspensão obtida foi filtrada em papel de filtro Whatman # 1 e o resíduo lavado quatro vezes com acetona 80%. O volume final foi completado para 25 mL com o mesmo solvente em balão volumétrico. As absorbâncias dos extratos foram lidas em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 470, 646,8 e 663,2 nm. Os teores de pigmentos (clorofilas *a* e *b* e carotenóides) foram estimados de acordo com

as fórmulas propostas por Lichtenthaler (1987). Os resultados obtidos foram expressos em mg de cada pigmento  $g^{-1}$  de matéria fresca (MF).

**b) determinação da concentração de aldeído malônico (MDA):** as amostras foram maceradas em almofariz contendo nitrogênio líquido, homogeneizadas com 2 mL de ácido tricloroacético (TCA) 0,1% (p/v), filtradas em quatro camadas de gaze e centrifugadas a 12.000 g por 15 min a 4°C. Um volume de 1,5 mL de uma solução de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,5% (p/v) em TCA 20% (p/v) foi adicionado nas alíquotas de 0,5 mL do sobrenadante de cada amostra, esta solução foi colocada em tudo de ensaio e em seguida levada a incubação em banho-maria a 95°C. Após 2 h, a reação foi paralisada com a transferência dos tubos de ensaio para banho de gelo. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 9.000 g por 10 min e a absorbância dos sobrenadantes foi determinada a 532 nm. A absorbância inespecífica a 600 nm foi medida e subtraída dos resultados obtidos para cada uma das amostras. A concentração do complexo aldeído malônico-TBA foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de  $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Heath & Packer, 1968).

**c) determinação da concentração de peróxido de hidrogênio:** as amostras foram maceradas em almofariz contendo nitrogênio líquido e homogeneizadas com 2,0 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 6,5) contendo hidroxilamina 1 mM. Após filtração em quatro camadas de gaze, o homogeneizado foi centrifugado a 10.000 g por 15 min a 4°C com coleta do sobrenadante (Kuo & Kao, 2003). Alíquotas de 50  $\mu\text{L}$  do sobrenadante foram adicionadas a uma mistura de reação constituída de sulfato ferroso amoniacal 100  $\mu\text{M}$ , ácido sulfúrico 25 mM, laranja de xilenol 250  $\mu\text{M}$  e sorbitol 100 mM totalizando um volume de 2 mL (Gay & Gebicki, 2000). As amostras foram mantidas no escuro por 30 min e a absorbância determinada a 560 nm em espectrofotômetro. Amostras controle (branco) para as cores dos reagentes e também dos extratos vegetais foram preparadas concomitantemente com as amostras em teste e subtraídas da absorbância de cada amostra. A concentração de peróxido de hidrogênio em cada uma das amostras foi determinada utilizando-se uma curva de calibração preparada com diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio.

**d) determinações enzimáticas:** a concentração total de proteínas do extrato obtido de cada amostra foi determinada de acordo com o método de Bradford (1976) utilizando-se uma curva de solução padrão de BSA (Albumina de Soro Bovino). A atividade das seguintes enzimas foi determinada:

**Fenilalanina amônia liase (FAL, EC 4.3.1.5):** as amostras foram maceradas em almofariz contendo nitrogênio líquido e 300 mg de polivinilpirrolidona (PVPP). Em seguida, cada amostra foi homogeneizada com 20 mL de solução de extração constituída de: borato de sódio 0,05 M (pH 8,3), 300 mg de polivinilpirrolidona (PVP), 5,0 mM  $\beta$ -mercaptoetanol e 1,0 mM ácido etileno diamino tetra-acético (EDTA). O homogeneizado foi filtrado em gaze e centrifugado por 15 min a 7000 g e novamente centrifugado sob as mesmas condições. O sobrenadante foi utilizado na reação enzimática. Todas as etapas do processo foram executadas a 4°C ou em gelo. A atividade da FAL foi determinada pela adição de 0,5 mL do extrato enzimático em 2 mL de meio de reação constituído de tampão borato de sódio 0,05 M (pH 8,8), *L*-fenilalanina 0,02 M e água MILLI-Q (Guo et al., 2007) As amostras foram incubadas a 30°C por 60 min e a reação foi paralisada pela adição de 0,1 mL de HCl 6 N. A atividade da FAL foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 10 M cm<sup>-1</sup> (Zucker, 1965) e o resultado foi expresso em nM min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína.

**Polifenoloxidase (PFO, EC 1.14.18.1):** as amostras foram maceradas em almofariz contendo nitrogênio líquido e 300 mg de PVPP. Em seguida, cada amostra foi homogeneizada com 2 mL de solução de extração constituída de PMSF 1 mM, EDTA 0,1 mM e tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 6,8). O homogeneizado foi filtrado em gaze e centrifugado por 10 min a 12000 g. Durante todas as etapas, os tubos de ensaio foram envolvidos com papel alumínio e tampados. A atividade de PFO foi determinada conforme metodologia proposta por Kar & Mishra (1976) utilizando como substrato o pirogalol a 100 mM. As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro a 420 nm no início da reação e, posteriormente, a cada 10 segundos durante um min, totalizando sete leituras. A atividade da PFO foi calculada utilizando-se o coeficiente de extinção molar de 2,47 mM<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup> (Chance & Maehley, 1955) e os resultados foram expressos em  $\mu$ M min<sup>-1</sup>mg<sup>-1</sup> de proteína.

**Peroxidase (POX, EC 1.11.1.7):** amostras foram maceradas em almofariz contendo nitrogênio líquido e 300 mg de PVPP. Em seguida, cada amostra foi homogeneizada com 20 mL de solução de extração constituída de ácido fenil-metil-sulfonil-fluorídrico (PMSF) 1 mM, EDTA 0,1 mM e tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 6,8). O homogeneizado foi filtrado em gaze e centrifugado por 15 min a 12000 g. O sobrenadante foi utilizado no teste enzimático. Todas as etapas do processo foram executadas a 4°C ou em gelo. A atividade de POX foi determinada pelo método de Kar & Mishra (1976). Aliquotas de 100  $\mu$ L do sobrenadante foram adicionadas a

uma mistura de reação composta de 950  $\mu\text{L}$  de água destilada, 750  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 6,8), 600  $\mu\text{L}$  de pirogalol 100 mM e 600  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrogênio 100 mM na temperatura de 25°C. O início da reação ocorreu com a adição do sobrenadante à mistura de reação. Durante todas as etapas, os tubos de ensaio foram envolvidos com papel alumínio e tampados. As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro a 420 nm no início da reação e, posteriormente, a cada 10 segundos durante um minuto, totalizando sete leituras. A atividade de POX foi determinada pela medição da quantidade de purpurogalina formada entre dois e cinco min de reação utilizando-se para o cálculo o coeficiente de extinção molar de 2,47  $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$  (Chance & Maehley, 1955).

**$\beta$ -1,3-glucanase (GLU, EC 3.2.1.6):** amostras foram maceradas em almofariz contendo nitrogênio líquido e 300 mg de PVPP. Em seguida, cada amostra foi homogeneizada com 2 mL solução de extração constituída de PMSF 1 mM, EDTA 0,1 mM e tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 6,8). O homogeneizado foi filtrado em gaze e centrifugado por 10 min a 12000 g. Todas as etapas do processo foram executadas a 4°C ou em gelo. A atividade de GLU foi determinada conforme método descrito por Lever (1972) com algumas modificações. O ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) foi substituído pela hidrazida do ácido *p*-hidroxibenzóico (Miller, 1956). A mistura de reação, que foi incubada a 45°C por 30 min, continha 230  $\mu\text{L}$  do tampão acetato de sódio 100 mM (pH 5,0), 250  $\mu\text{L}$  de solução do substrato laminarina (4 mg/mL) e 20  $\mu\text{L}$  do extrato vegetal. Após esse período, foram acrescentados 1 mL de DNS e, em seguida, a mistura foi aquecida a 100°C por 5 min. Após resfriamento em gelo até temperatura de 30°C, as amostras tiveram a absorvância determinada no comprimento de onda 540 nm em um ensaio colorimétrico no espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em unidades de absorvância  $\text{min}^{-1}\text{mg}^{-1}$  de proteína.

**Quitinase (QUI, EC 3.2.1.14):** as amostras foram maceradas em almofariz contendo nitrogênio líquido e 300 mg de PVPP. Em seguida, cada amostra foi homogeneizada com 2 mL de solução de extração constituída de PMSF (1 mM) e tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 6,5). O homogeneizado foi filtrado em gaze e centrifugado por 25 min a 20000 g. O sobrenadante foi utilizado no teste enzimático. Todas as etapas do processo foram executadas a 4°C ou em gelo. A atividade de QUI foi determinada pelo método de Roberts & Selitrennikoff (1988) modificado por Harman et al. (1993). Alíquotas de 20  $\mu\text{L}$  do sobrenadante foram adicionadas a uma mistura de

reação composta de 470  $\mu\text{L}$  de tampão acetato de sódio 50 mM (pH 5,0) e 10  $\mu\text{L}$  de substrato p-nitrofenil- $\beta$ -D-N-N'-diacetilquitobiose (PNP) 2 mg mL<sup>-1</sup>. Após incubação por duas horas na temperatura de 37°C, a reação foi interrompida com adição de 500  $\mu\text{L}$  de carbonato de sódio (0,2 M). As leituras de absorvância foram realizadas em espectrofotômetro a 410 nm imediatamente após a parada da reação. A atividade de QUI foi determinada considerando a diferença de absorvância entre as reações de duas horas e a observada no tubo controle. Os resultados foram expressos em unidades de absorvância min<sup>-1</sup>mg<sup>-1</sup> de proteína.

**e) determinação da concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFST) e derivados da lignina-ácido tioglicólico (DLATG):** as amostras foram maceradas em nitrogênio líquido e homogeneizadas com 1,5 mL de metanol 80%. O extrato metanólico foi centrifugado a 12000 g por 30 min e após centrifugação, o sobrenadante foi transferido para um novo tubo de plástico. O resíduo foi mantido a -80°C para posterior determinação da concentração dos derivados da lignina-ácido tioglicólico. A metodologia proposta por Zieslin & Ben-Zaken (1993) com algumas modificações foi usada para determinar a concentração dos DLATG. Um volume de 150  $\mu\text{L}$  do reagente Folin & Ciocalteu's Phenol 0,25 N foi adicionado a 150  $\mu\text{L}$  do extrato metanólico. A mistura foi homogeneizada e mantida em temperatura ambiente por 5 min. Posteriormente, 150  $\mu\text{L}$  de carbonato de sódio 1,0 M foi adicionado à mistura a qual sofreu nova homogeneização e permaneceu em temperatura ambiente por 10 min. Decorrido esse período, 1 mL de água destilada foi adicionado e, após 30 min, a absorvância das amostras foi mensurada a 725 nm em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em mg g<sup>-1</sup> MF.

Para a determinação da concentração dos DLATG, um volume de 1,5 mL água destilada foi adicionado ao resíduo obtido da extração de CFST. Após a homogeneização, a mistura foi centrifugada a 12000 g por 5 min. O sobrenadante foi descartado e o resíduo foi seco a 65°C por 12 h. O resíduo alcólico-insolúvel seco, contendo lignina e ácidos fenólicos associados à parede celular, foi usado para a determinação da concentração de lignina de acordo com o método de Barber & Ride (1988). Um volume de 1,5 mL da solução de ácido tioglicólico e HCl 2 N 1:10 foi adicionado ao resíduo seco. Os tubos plásticos foram levemente agitados para hidratar o resíduo e, em seguida, colocados em banho-maria (100°C) por 4 h. Após esse período, os tubos foram colocados em bandejas com gelo onde permaneceram por 5 min. Em seguida, a mistura foi centrifugada a 12.000 g por 10 min, sendo o

sobrenadante descartado e o precipitado lavado com 1,5 mL de água destilada com centrifugação a 10.000 g por 10 min. Após essa etapa, o sobrenadante foi descartado e o precipitado resuspenso em 1,5 mL de NaOH 0,5 N. A mistura permaneceu em mesa agitadora (150 r.p.m.) à temperatura de 25°C por 12 h. Após esse período, a mistura foi centrifugada novamente a 10.000 g por 10 min e o sobrenadante transferido para um novo tubo plástico. Após a adição de 200 µL de HCL concentrado ao sobrenadante, os tubos foram transferidos para uma bandeja com gelo e mantidos na geladeira (4°C) por 4 h para precipitação dos derivados da lignina-ácido tioglicólico. Após centrifugação a 10.000 g por 10 min, o sobrenadante foi descartado e o precipitado, de cor laranja-amarronzado, foi dissolvido em 2 mL de NaOH 0,5 N. A leitura da absorbância foi feita a 290 nm em espectrofotômetro. A concentração dos DLATG foi expressa em mg g<sup>-1</sup> MF. A concentração de DLATG foi obtida de acordo com uma curva padrão obtida com diferentes concentrações de lignina alcalina, éter 2-hidroxipropil (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO).

### **3.7 Delineamento experimental e análise estatística dos dados**

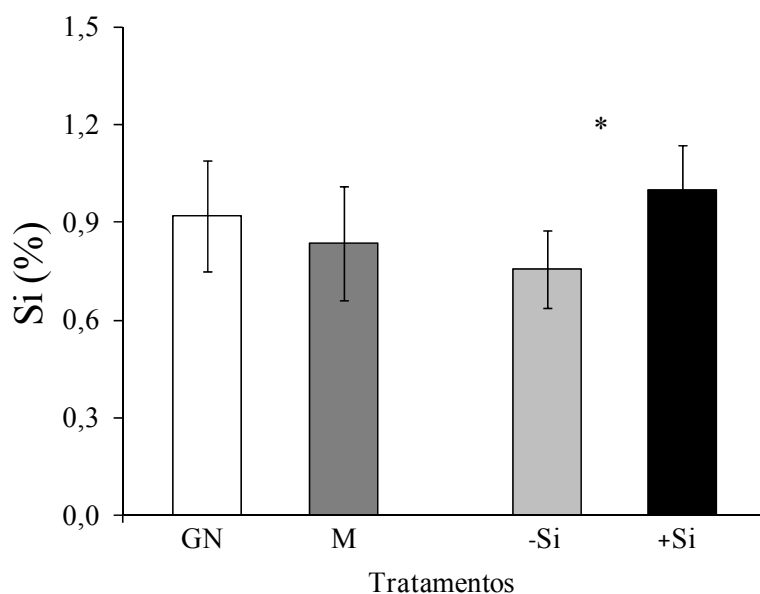
Para o experimento visando estudar o efeito do Si no desenvolvimento do mal do Panamá, o delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 2x2 com sete repetições. Cada parcela experimental correspondeu a uma bandeja plástica contendo cinco plantas caracterizando as cinco épocas de coleta (8, 16, 24, 32 e 40 dias após inoculação). Os fatores estudados foram: suprimento ou não de Si e duas cultivares de bananeira. Os dados obtidos desse experimento foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade utilizando-se o software SAEG 9.1 (SAEG, 2007).

No experimento que avaliou as respostas bioquímicas da interação bananeira-*Foc*, os dados médios das variáveis: concentração de pigmentos, aldeído malônico, peróxido de hidrogênio, compostos fenólicos solúveis totais (CFST), derivados da lignina-ácido tioglicólico (DLATG) e atividade das enzimas FAL, PFO, POX, GLU e QUI em cada época de coleta de cada repetição e tratamento foram comparadas pelo teste de Student (*t*), ao nível de 5% de probabilidade.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Concentração de Si e Ca no sistema radicular e no rizoma-pseudocaule

Não houve diferença na concentração de Si no sistema radicular quando bananeiras das cultivares Grande Naine e Maçã foram comparadas, mas plantas supridas com Si apresentaram maior concentração quando comparadas com as não supridas (Figura 1).



**Figura 1.** Concentração de silício (Si) no sistema radicular de bananeiras das cultivares Grande Naine (GN) e Maçã (M), inoculadas com *Foc*, supridas (+Si) ou não (-Si) com silício. \* = significativo ao nível de 5% pelo teste-t. O desvio padrão está representado em cada barra.

De acordo com a Tabela 1, observa-se que não houve diferença entre os tratamentos -Si e +Si quanto à concentração de Si no rizoma-pseudocaule das bananeiras da cultivar Maçã.

**Tabela 1.** Concentração de silício (Si) no rizoma-pseudocaule de bananeiras das cultivares Grande Naine e Maçã inoculadas com *Foc*, supridas ou não com Si.

Suprimento de Si	Cultivares	
	Grande Naine	Maçã
+Si	0,48 Ba	0,60 Aa
-Si	0,19 Bb	0,49 Aa
C.V. (%)	19,68	

\* Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. C.V. = coeficiente de variação.

Entretanto, o mesmo não foi observado para as plantas da cultivar Grande Naine, onde plantas supridas com Si apresentaram maior concentração do elemento.

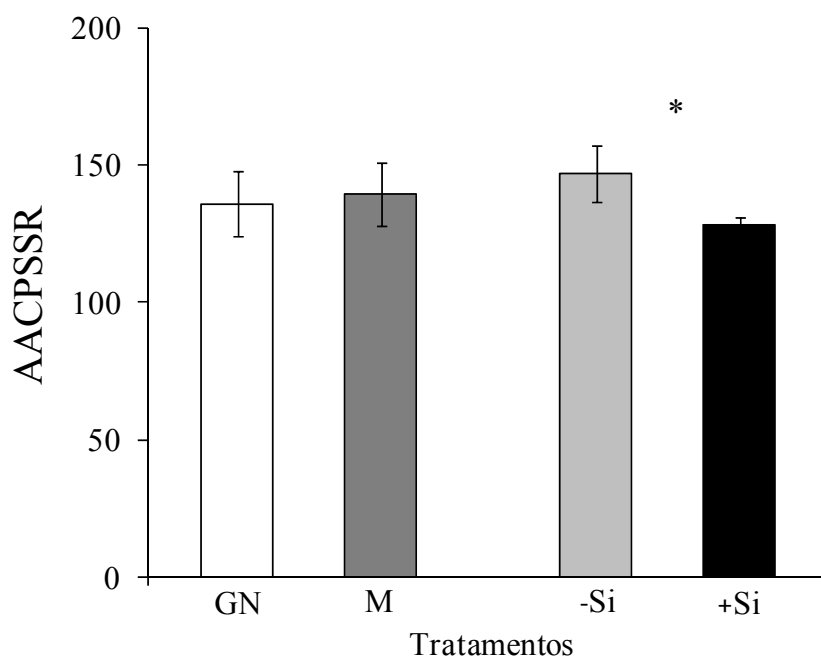


Ao comparar a concentração de Si entre as duas cultivares supridas ou não com Si, verificou-se que plantas da cultivar Maçã mostraram-se mais eficientes na absorção desse elemento.

Não foi observada diferença na concentração de Ca no sistema radicular para os fatores suprimento ou não de Si e cultivares de bananeira. Em relação à concentração de Ca no rizoma-pseudocaule de bananeiras das duas cultivares, não foi observado diferença entre plantas supridas (+Si) ou não (-Si) com Si, porém plantas da cultivar Grande Naine quando comparadas com as da cultivar Maçã, apresentaram uma maior concentração de Ca nos tecidos do rizoma-pseudocaule.

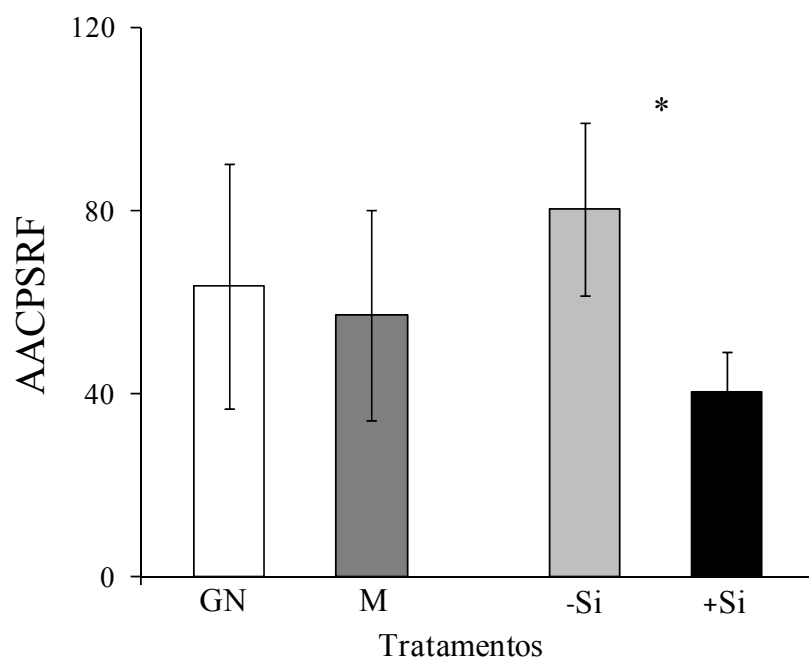
#### 4.2 Avaliação indireta do mal do Panamá

Não houve diferença na AACPSSR de plantas das cultivares Grande Naine e Maçã. Entretanto, plantas supridas com Si apresentaram-se mais resistentes à infecção por *Foc* quando comparadas com as não supridas (Figura 2).



**Figura 2.** Área abaixo da curva do progresso dos sintomas no sistema radicular (AACPSSR) de bananeiras das cultivares Grande Naine (GN) e Maçã (M), supridas (+Si) ou não (-Si) com silício. \* = significativo ao nível de 5% pelo teste-t. O desvio padrão está representado em cada barra.

Em relação à AACPSRF, não foi observado diferença entre as cultivares Grande Naine e Maçã. Bananeiras supridas com Si em comparação com as não supridas com esse elemento, foram menos suscetíveis (Figura 3).



**Figura 3.** Área abaixo da curva do progresso dos sintomas reflexos nas folhas (AACPSRF) de bananeiras das cultivares Grande Naine (GN) e Maçã (M), supridas (+Si) ou não (-Si) com silício. \* = significativo ao nível de 5% pelo teste-t. O desvio padrão está representado em cada barra.

Não houve diferença quanto a AACPER em bananeiras da cultivar Grande Naine supridas ou não com Si. Ao contrário, plantas da cultivar Maçã supridas com Si apresentaram os menores valores da AACPER do que as não supridas (Tabela 2). Plantas de ambas as cultivares crescidas na ausência de Si não diferiram entre si em relação à AACPER. Entretanto, plantas da cultivar Maçã supridas com Si apresentaram os menores valores da AACPER quando comparadas com as plantas da cultivar Grande Naine (Tabela 2).

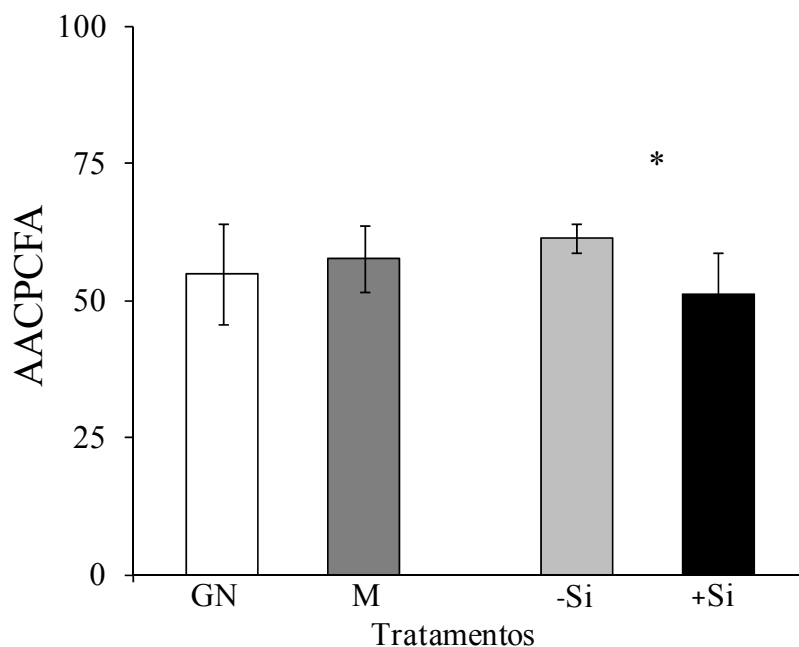
**Tabela 2.** Área abaixo da curva de progresso do escurecimento do rizoma (AACPER) em bananeiras das cultivares Grande Naine e Maçã, supridas ou não com silício.

Suprimento de Si	AACPER	
	Cultivares	
	Grande Naine	Maçã
-Si	114,29 <sup>1</sup> Aa	110,86 Aa
+Si	117,29 Aa	93,14 Bb
C.V. (%)	8,87	

<sup>1</sup> Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. C.V. = coeficiente de variação.

### 4.3 Avaliação direta do mal do Panamá

Não houve diferença para a AACPCFA nos rizomas das plantas da cultivar Grande Naine quando comparadas com as plantas da cultivar Maçã (Figura 4). Plantas supridas com Si quando comparadas com as não supridas, apresentaram menor os menores valores para AACPCFA do que as plantas não supridas (Figura 4).



**Figura 4.** Área abaixo da curva do progresso da colonização fúngica assintomática (AACPCFA) de bananeiras das cultivares Grande Naine (GN) e Maçã (M), supridas (+Si) ou não (-Si) com silício. \* = significativo ao nível de 5% pelo teste-t. O desvio padrão está representado em cada barra.

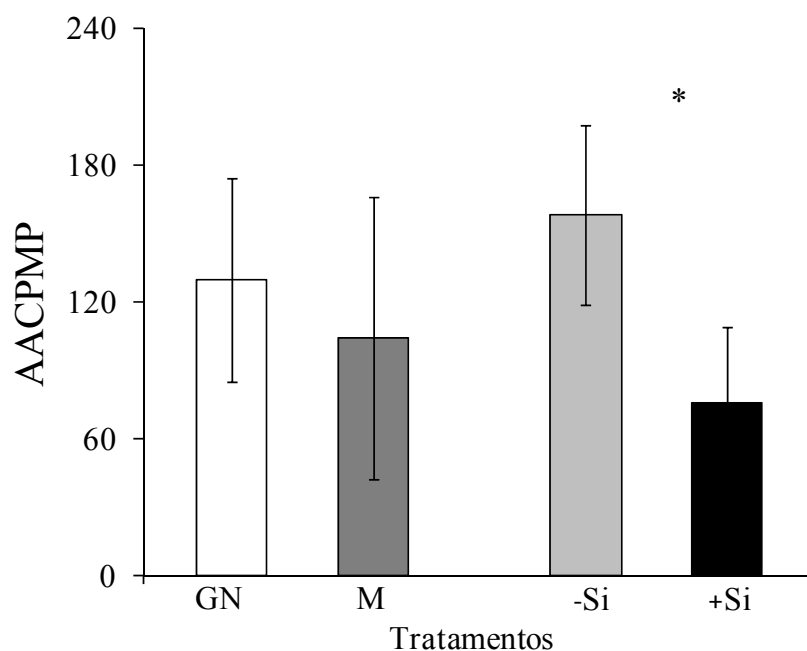
Não houve diferença para a AACPCRL em plantas da cultivar Grande Naine supridas ou não com Si (Tabela 3). Ao contrário, houve diferença entre as plantas das cultivar Maçã supridas ou com Si, onde plantas supridas foram mais resistentes do que as não supridas. Plantas da cultivar Maçã que não foram supridas com Si apresentaram os menores valores da AACPCRL em comparação com as plantas da cultivar Grande Naine. Entretanto, plantas supridas com Si de ambas as cultivares não diferiram-se entre si (Tabela 3).

**Tabela 3.** Área abaixo da curva do progresso do comprimento relativo de lesão (AACPCRL) em rizomas de bananeira das cultivares Grande Naine e Maçã supridas ou não com silício.

Suprimento de Si	AACPCRL	
	Cultivares	
	Grande Naine	Maçã
-Si	367,95 <sup>1</sup> Ba	606,92 Aa
+Si	322,05 Aa	354,79 Ab
C.V. (%)	16,59	

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. C.V. = coeficiente de variação.

Os valores da AACPMP não diferiram entre as plantas das cultivares Grande Naine e Maçã, mas plantas supridas com Si apresentaram os menores valores dessa variável do que as não supridas (Figura 5).



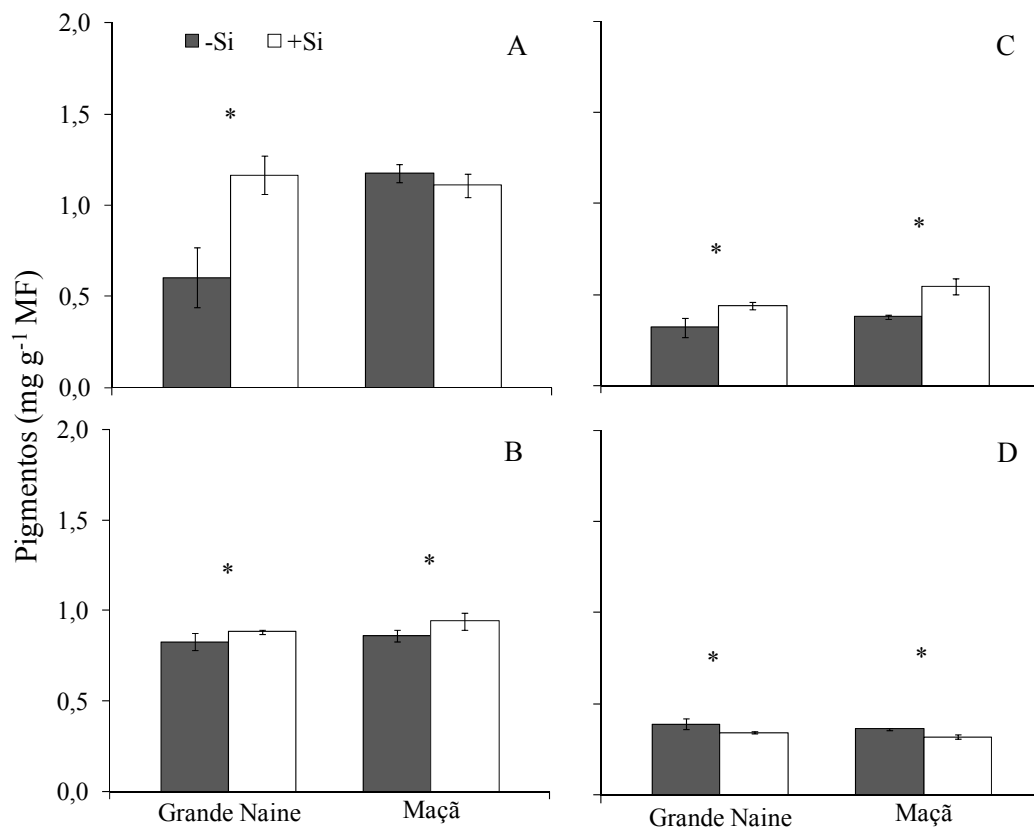
**Figura 5.** Área abaixo da curva do progresso do mal do Panamá (AACPMP) estimada pelo software Quanti<sup>®</sup> no rizoma-pseudocaule de bananeiras das cultivares Grande Naine (GN) e Maçã (M) supridas (+Si) ou não (-Si) com silício. \* = significativo ao nível de 5% pelo teste-t. O desvio padrão está representado em cada barra.

#### 4.4 Aspectos fisiológicos e bioquímicos da resistência da bananeira ao mal do Panamá potencializada pelo Si

##### 4.4.1 Concentração de pigmentos

Para a concentração de clorofila *a*, diferença ocorreu somente para plantas da cultivar Grande Naine supridas com Si (Figura 6A). Houve diferença na

concentração de clorofila *b* e clorofila total para as plantas das duas cultivares supridas com Si em relação às plantas não supridas com esse elemento (Figura 6B-C, respectivamente). Quanto à concentração de carotenóides, houve diferença entre plantas das cultivares Grande Naine e Maçã supridas ou não com Si (Figura 6D).



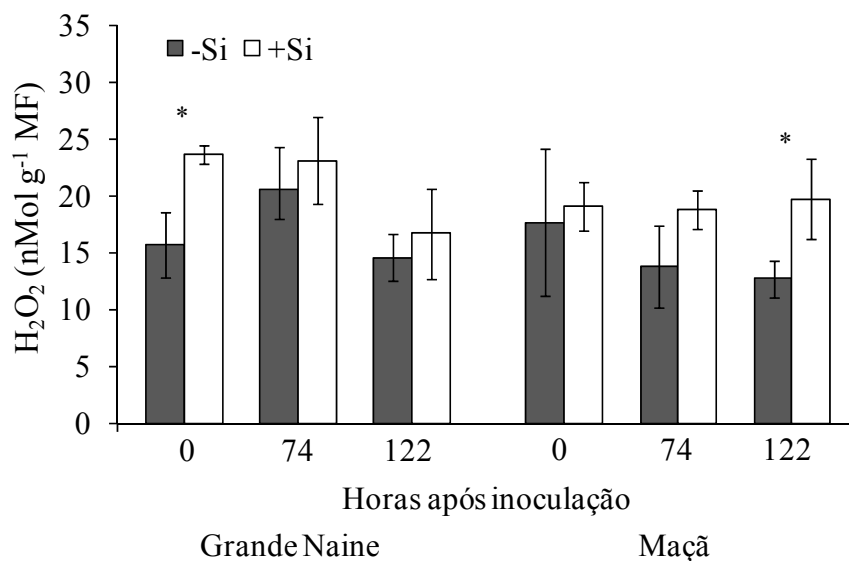
**Figura 6.** Concentração dos pigmentos clorofila *a* (A), *b* (B), clorofila total (C) e carotenóides (D) em folhas de plantas de bananeira das cultivares Grande Naine e Maçã supridas (+Si) ou não (-Si) com silício às 96 horas após inoculação com *Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense*. \* = significativo ao nível de 5% pelo teste-t. O desvio padrão está representado em cada barra.

#### 4.4.2 Concentração de MDA

Não houve diferença significativa para a concentração de MDA no sistema radicular das plantas das cultivares Grande Naine e Maçã supridas com Si em relação às plantas dessas mesmas cultivares não supridas com esse elemento durante o período avaliado.

#### 4.4.3 Concentração de peróxido de hidrogênio

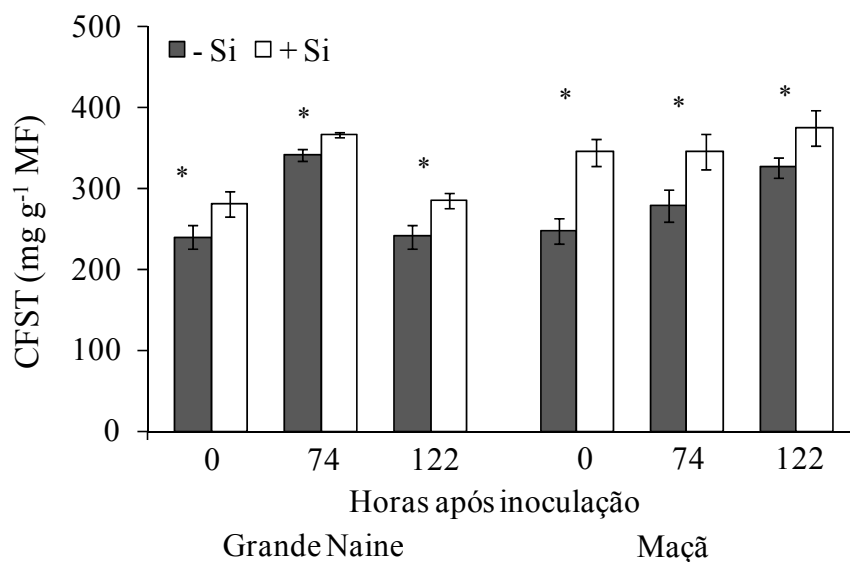
Houve diferença para a concentração de peróxido de hidrogênio no sistema radicular de plantas das cultivares Grande Naine e Maçã supridas com Si em relação ao não suprimento desse elemento somente às 0 e 120 hai, respectivamente (Figura 7).



**Figura 7.** Concentração de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) em raízes de bananeira das cultivares Grande Naine e Maçã supridas (+Si) ou não (-Si) com silício às 0, 72 e 120 horas após a inoculação com *Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense*. \* = significativo ao nível de 5% pelo teste-t. O desvio padrão está representado em cada barra.

#### 4.4.4 Concentração de CFST

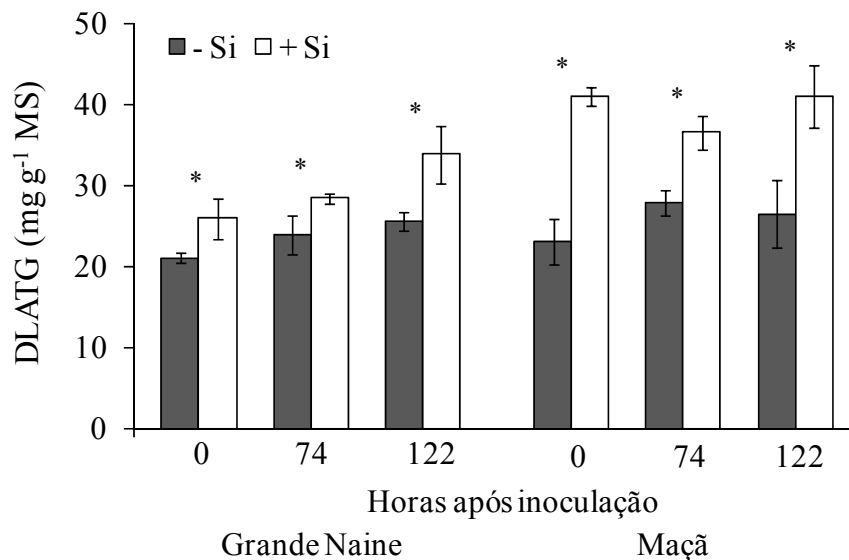
A concentração de CFST foi maior no sistema radicular das plantas das duas cultivares supridas com Si em comparação com as plantas que não foram supridas com esse elemento para todas as épocas avaliadas (Figura 8).



**Figura 8.** Concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFST) em raízes de bananeiras das cultivares Grande Naine e Maçã supridas (+Si) ou não (-Si) com silício às 0, 72 e 120 horas após a inoculação com *Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense*. \* = significativo ao nível de 5% pelo teste-t. O desvio padrão está representado em cada barra.

#### 4.4.5 Concentração de DLATG

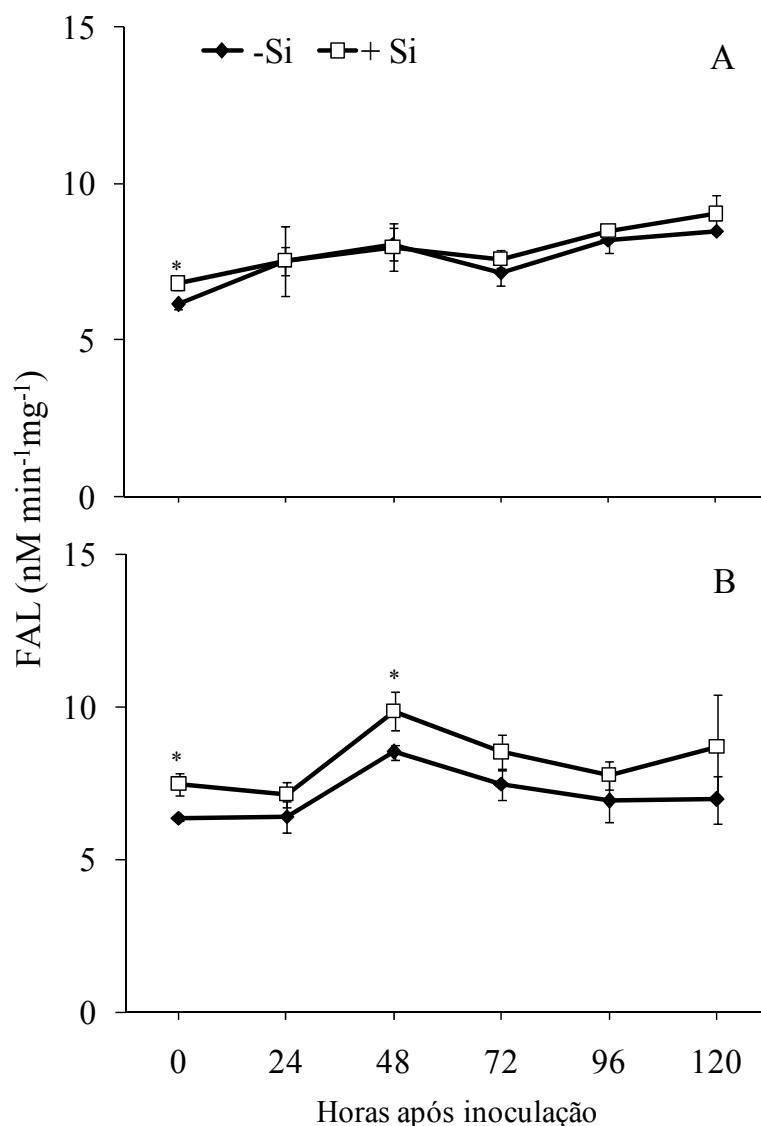
A concentração dos DLATG também foi maior no sistema radicular das plantas das duas cultivares supridas com Si quando comparadas com plantas que não foram supridas para todas as épocas avaliadas (Figura 9).



**Figura 9.** Concentração dos derivados da lignina-ácido tioglicólico (DLATG) em raízes de bananeiras das cultivares Grande Naine e Maçã supridas (+Si) ou não (-Si) com silício às 0, 72 e 120 horas após a inoculação com *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. \* = significativo ao nível de 5% pelo teste-t. O desvio padrão está representado em cada barra.

#### 4.4.6 Atividade de enzimas relacionadas com a defesa da planta

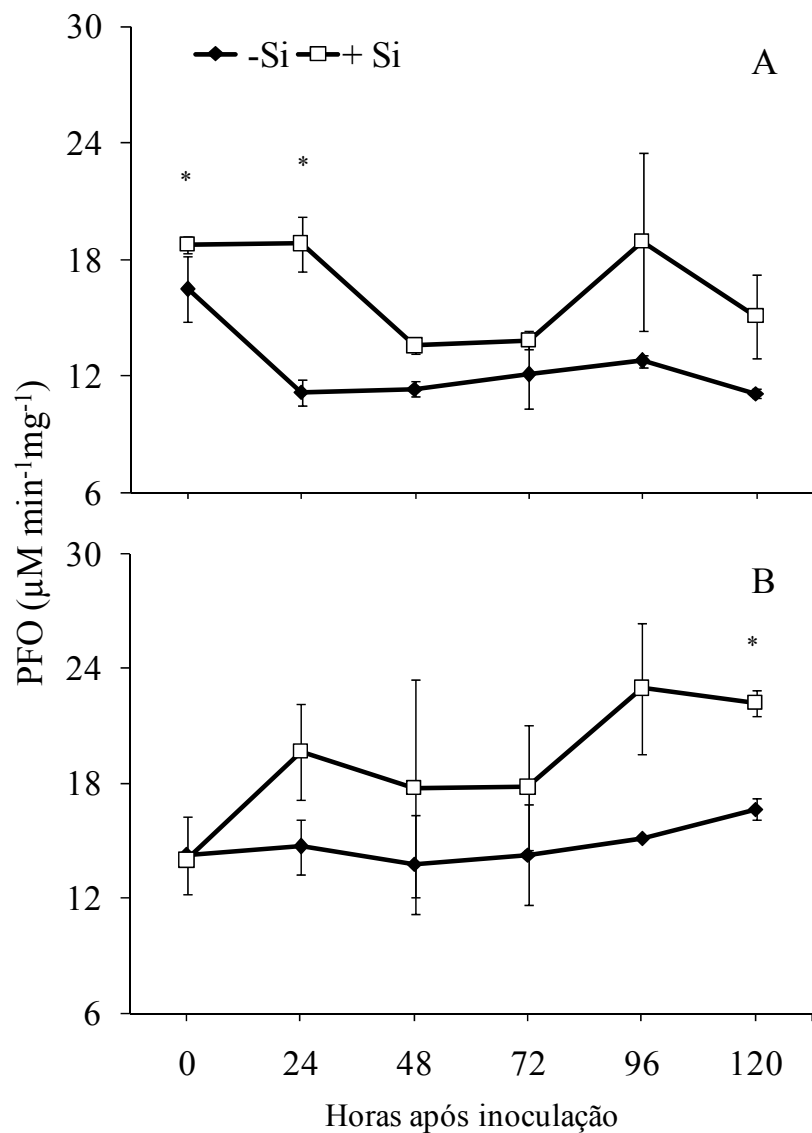
A atividade da FAL no sistema radicular das plantas das cultivares Grande Naine e Maçã, supridas ou não com Si, manteve-se estável durante todo o período de avaliação (Figura 10A e 10B). Diferença entre os tratamentos -Si e +Si ocorreu somente às 0 hai para a cultivar Grande Naine (Figura 10A). Para a cultivar Maçã, foi observado diferenças entre os tratamentos -Si e +Si somente às 0 e 48 hai (Figura 10B).



**Figura 10.** Atividade específica da fenilalanina amônia liase (FAL) no sistema radicular de bananeiras das cultivares Grande Naine (A) e Maçã (B) supridas (+Si) ou não (-Si) com silício em diferentes épocas após inoculação com *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. \* = significativo ao nível de 5% pelo teste-t. O desvio-padrão está representado em cada barra.

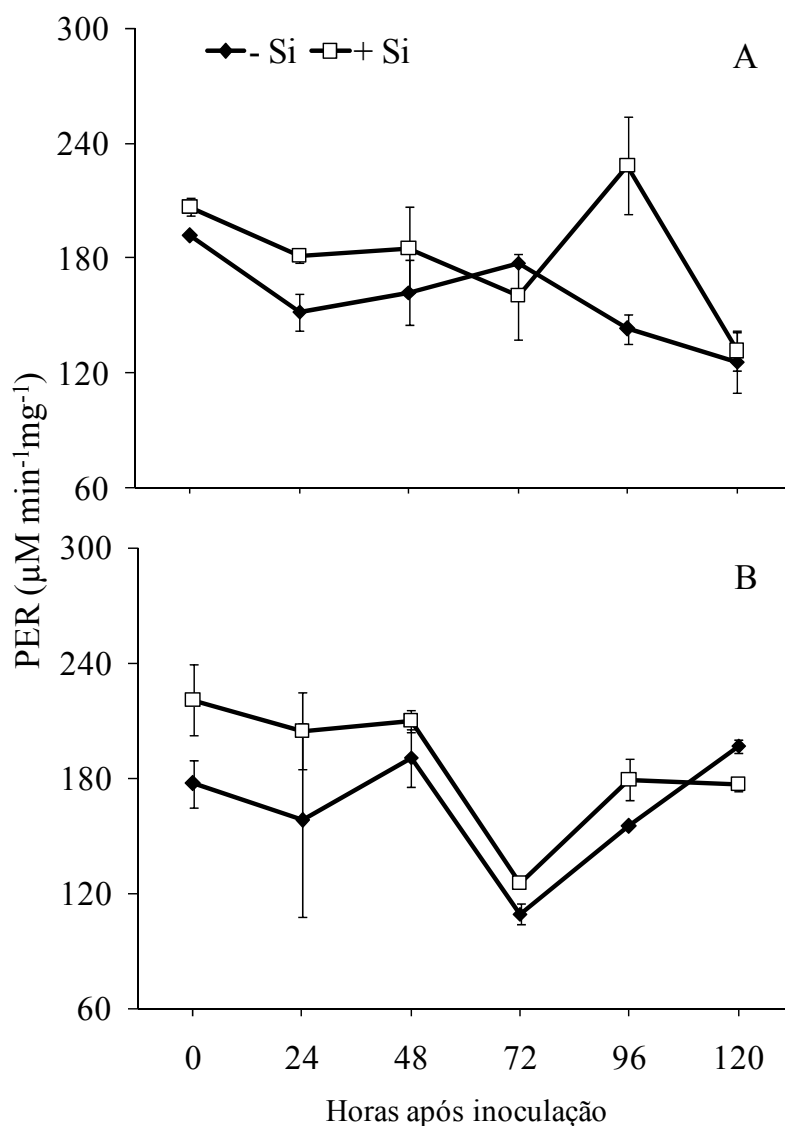
Para cultivar Grande Naine foi observado diferença para atividade da PFO somente às 0 e 24 hai (Figura 11A) e para a cultivar Maçã somente às 120 hai (Figura 11B).





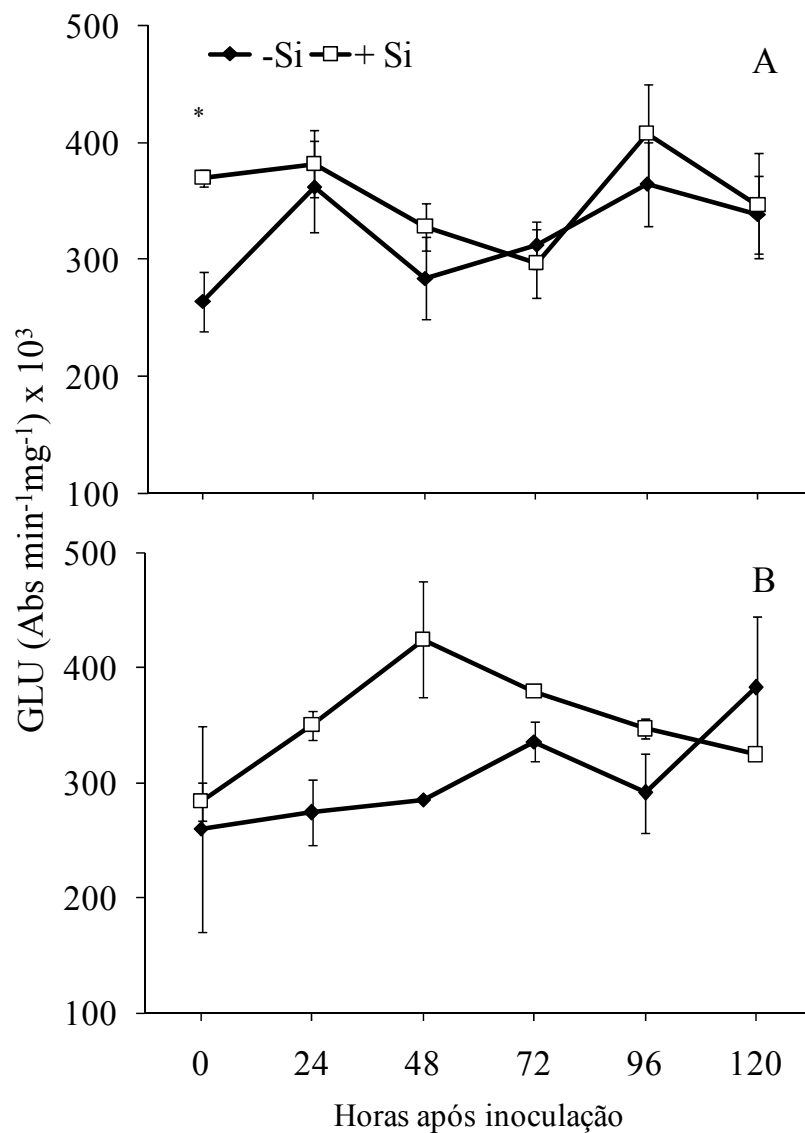
**Figura 11.** Atividade específica da polifenoloxidase (PFO) no sistema radicular de plantas de bananeira das cultivares Grande Naine (**A**) e Maçã (**B**) supridas (+Si) ou não (-Si) com silício em diferentes épocas após inoculação com *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubeense*. \* = significativo ao nível de 5% pelo teste-t. O desvio-padrão está representado em cada barra.

Para a cultivar Grande Naine, a atividade da PER não diferiu entre os tratamentos +Si e -Si (Figura 12A), sendo a mesma tendência observada para a cultivar Maçã (Figura 12B).



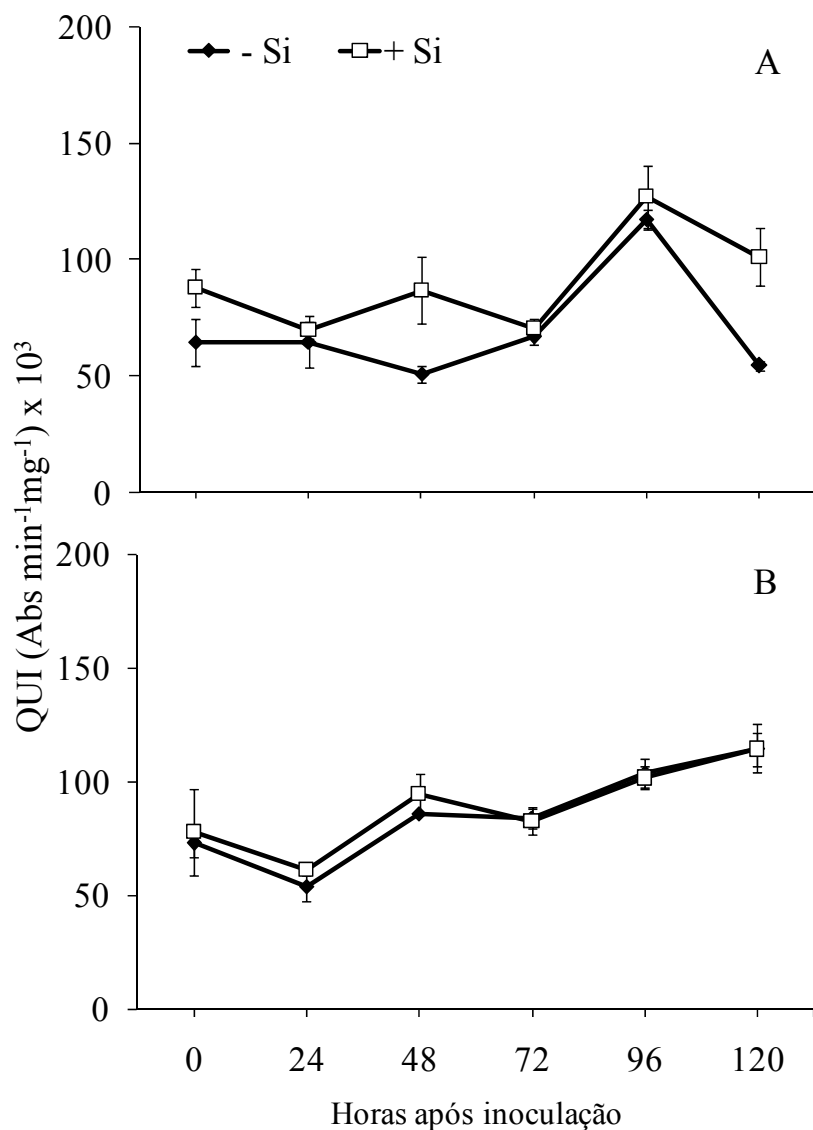
**Figura 12.** Atividade específica da peroxidase (PER) no sistema radicular de plantas de bananeira das cultivares Grande Naine (**A**) e Maçã (**B**) supridas (+Si) ou não (-Si) com silício em diferentes épocas após inoculação com *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. \* = significativo ao nível de 5% pelo teste-t. O desvio-padrão está representado em cada barra.

Houve diferença na atividade da GLU no sistema radicular das plantas da cultivar Grande Naine supridas ou não com Si somente na coleta 1 (Figura 13A). Para a cultivar Maçã, não houve diferença quanto a atividade da GLU em nenhuma das coletas (Figura 13B).



**Figura 13.** Atividade específica da  $\beta$ -1,3-glucanase (GLU) no sistema radicular de plantas de banana das cultivares Grande Naine (A) e Maçã (B) supridas (+Si) ou não (-Si) com silício em diferentes épocas após inoculação com *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. \* = significativo ao nível de 5% pelo teste-t. O desvio-padrão está representado em cada barra.

Para a atividade da QUI, não foi observado diferenças entre as cultivares Grande Naine e Maçã, supridas (+Si) ou não (-Si) com Si, durante as coletas (Figura 14A e 14B).



**Figura 14.** Atividade específica da quitinase (QUI) no sistema radicular de plantas de bananeira das cultivares Grande Naine (A) e Maçã (B) supridas (+Si) ou não (-Si) com silício em diferentes épocas após inoculação com *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*. \* = significativo ao nível de 5% pelo teste-t. O desvio-padrão está representado em cada barra.

## 5. DISCUSSÃO

A utilização do Si na nutrição das plantas como uma medida alternativa no manejo de doenças vem sendo proposta em vários trabalhos (Bowen et al., 1992; Chérif et al., 1994; Diogo & Wydra, 2007; Fawe et al., 2008; Rodrigues et al., 2003; Rodgers-Gray & Shaw, 2000; Menzies et al., 1991, 1992; Resende et al., 2009). A redução na intensidade do mal do Panamá em plantas das cultivares Grande Naine e Maçã supridas com Si foi atribuída à nutrição das plantas com esse elemento. Em contraste, bananeiras das duas cultivares não supridas com Si apresentaram menor resistência a infecção por *Foc* na maioria das variáveis estudadas quando foram comparadas com as plantas que foram supridas. Como foi observado, plantas das duas cultivares não diferiram quanto à concentração de Si no sistema radicular, entretanto, plantas da cultivar Maçã apresentaram maiores concentrações de Si no rizoma-pseudocaule quando comparadas com plantas da cultivar Grande Naine. Acredita-se que o Si proporcione maior resistência às paredes das células tornando-as menos vulneráveis às enzimas de degradação seja através de barreira física ou química (Datnoff et al., 2007).

Naturalmente, a entrada de *Foc* no sistema radicular de bananeiras é por penetração direta (ação mecânica das hifas) ou indireta (através de ferimentos). Mesmo que ferimentos sejam causados, a entrada de *Foc* no sistema radicular pode ser dificultada devido a fatores que se encontram atuantes na rizosfera das plantas como pH do solo e microrganismos antagonistas. Diferentemente do que ocorre no solo, a penetração de *Foc* foi facilitada por um método de inoculação muito drástico (corte de raízes e imersão em suspensão de microconídios) e pelo potencial de inóculo presente na suspensão, conseqüentemente sua colonização seria facilitada. Entretanto, foi observado que plantas das duas cultivares crescidas em solo contendo Si, mostraram-se mais resistentes quando comparadas com plantas que não foram supridas. Do ponto de vista morfológico, já foi evidenciado que o Si pode depositar na parede celular e atuar como uma barreira mecânica após a sua polimerização, afetando a penetração e colonização de certos patógenos (Kim et al., 2002, Yoshida et al., 1962). Em relação à bananeira e em condições de maior preservação do sistema radicular a campo, o Si poderá auxiliar ainda mais nos mecanismos de defesa das plantas, sugerindo o potencial desse elemento como nova medida de manejo para este importante patógeno.

Ao avaliar indiretamente os sintomas causados por *Foc*, observou-se que plantas das duas cultivares não diferiram quanto a AACPSSR, AACPSRF e AACPER. Entretanto, plantas supridas com Si apresentaram visualmente maior capacidade de resistirem à colonização por *Foc* em comparação com as não supridas. A AACPER em plantas da cultivar Maçã supridas com Si foi menor quando comparadas com plantas da cultivar Grande Naine, evidenciando a participação mais efetiva do Si nos mecanismos de defesa de plantas dessa cultivar. O Si presente nos tecidos das plantas pode estar contribuindo para reduzir a colonização por *Foc* e, conseqüentemente, o amarelecimento das folhas, escurecimento do rizoma-pseudocaule e sintomas no sistema radicular foi menor nas plantas supridas com Si. Os efeitos do Si em sintomas indiretos causados por um patógeno de solo também obtidos por Dannon & Wydra (2004), os quais observaram redução na severidade da murcha do tomateiro causada por *Ralstonia solanacearum* em plantas supridas com Si em comparação com as plantas não supridas com esse elemento.

O Si interfere no progresso de algumas doenças por atuar em alguns componentes de resistência (Dallagnol et al., 2009; Datnoff et al., 1991; Resende et al. 2009; Seebold et al., 2001). A quantificação dos componentes de resistência é importante, pois fornece evidências sobre mecanismos de defesa da planta aos patógenos (Parlevliet, 1979). Quanto à avaliação dos componentes de resistência no presente estudo, observou-se que o Si foi eficiente em reduzir a AACPCFA e AACPMP no rizoma das plantas que foram supridas com esse elemento, mas não houve diferença para estas duas variáveis quando plantas das cultivares Grande Naine e Maçã foram comparadas. Entretanto, ao avaliar a AACPCRL, observou-se que plantas da cultivar Grande Naine supridas ou não com Si não diferiram, resultado igualmente observado quando plantas desta mesma cultivar foram comparadas com plantas da cultivar Maçã crescidas na presença de Si. Resultados semelhantes foram relatados em outros trabalhos onde verificou-se que não houve diferença no efeito do Si em alguns componentes de resistência em plantas de cultivares que exibem resistência vertical à alguns patógenos (Dannon & Wydra, 2004; Rodrigues e tal., 2005; Seebold et al., 2001). Uma importante observação foi que plantas da cultivar Maçã crescidas na presença de Si apresentaram valores da AACPCRL similares aos obtidos para plantas da cultivar Grande Naine supridas ou não com Si concordando com resultados já observados em outros patossistemas (Dallagnol et al. 2009; Resende et al. 2009). Seebold et al. (2001) relataram que

plantas de arroz supridas com Si apresentaram aumento no período de incubação e redução no comprimento da lesão, na taxa de expansão de lesão, no número de lesões esporulando e, como consequência, na severidade da brusone. Resultados semelhantes foram obtidos por Dallagnol et al. (2009) ao estudar o efeito do Si sobre alguns componentes de resistência do arroz à mancha parda. Apesar dos efeitos do Si na resistência da cultivar Grande Naine terem sido positivos, a redução nos componentes de resistência avaliados nas plantas da cultivar Maçã foram mais expressivos, provavelmente por que os mecanismos de resistência de natureza mecânica e/ou bioquímicos tenham sido potencializados pelo Si. Assim, sugere-se que a concentração de Si presente no rizoma-pseudocaule das plantas supridas com Si possa ter atuado na formação de uma barreira mecânica eficiente que restringiu a colonização por *Foc* e, conseqüentemente, as plantas dessa cultivar tiveram tempo suficiente para ativar mecanismos de defesa contra o patógeno.

Além do efeito da barreira física atribuído ao Si, também foi possível observar neste estudo que a redução na intensidade do mal do Panamá em plantas das duas cultivares esteve também associado às alterações de natureza fisiológica e bioquímicas corroborando com estudos já desenvolvidos para outros patossistemas (Bélangier et al., 2003; Chérif, 1992, 1994; Domiciano, 2008; El-Samman, 2000; Resende, 2007; Rodrigues et al., 2003, 2005; Chérif et al., 1994; Menzies et al., 1991). Foi observado que houve aumento na concentração de pigmentos fotossintéticos nas folhas das plantas das duas cultivares supridas com Si em comparação com as plantas não supridas com esse elemento. Estes resultados sugerem menor interferência de *Foc* na obstrução dos vasos do xilema e conseqüentemente, plantas supridas com Si podem estar apresentando maior integridade de cloroplastos. Em um estudo envolvendo um patossistema de parte aérea, Ranganathan et al. (2006) observaram que a concentração de clorofila (determinada pelo índice SPAD) em folhas de plantas de arroz supridas com Si aos 15 dias após a inoculação com *Pyricularia grisea* não diferiram dos valores encontrados em folhas de plantas sadias. Estes resultados apesar de ser de um patossistema foliar, evidencia a contribuição do Si na concentração de pigmentos fotossintéticos e sugerem maior integridade dos cloroplastos. Lembrando que nos cloroplastos, além da fotossíntese, ocorrem várias outras rotas metabólicas que levam a produção de compostos secundários (Taiz & Zeiger, 2004).

A determinação da concentração de MDA, o qual é produzido durante a peroxidação dos lipídios da membrana plasmática (Inzé & Van Montagu, 1998), tem sido utilizada para quantificar a ocorrência de dano oxidativo em tecidos de plantas durante o processo infeccioso por um determinado patógeno. Ao avaliar a concentração de MDA no sistema radicular das plantas das duas cultivares supridas com Si, não foi observado efeito positivo desse elemento em reduzir os danos celulares durante o processo infeccioso ocasionados por *Foc*.

Em relação à concentração de peróxido de hidrogênio, foi observado um aumento não expressivo na sua concentração no sistema radicular das plantas supridas com Si em comparação com as plantas não supridas com esse elemento, principalmente para a cultivar Maçã. O aumento nos danos celulares é reflexo de um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio ( $\text{OH}^-$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e os mecanismos de defesa da planta em favor das espécies reativas (Inzé & Van Montagu, 1998; Lima et al., 2002; Thordal-Christensen et al., 1997; Zhou et al., 1998). Provavelmente, o aumento na concentração de peróxido de hidrogênio no sistema radicular das plantas das duas cultivares supridas com Si possa estar associado com a defesa à *Foc* ao contrário de estar atuando simplesmente na inativação de moléculas e degradação da parede celular.

A presença de Si solúvel nos tecidos das plantas associa-se com a deposição de compostos fenólicos nos sítios de infecção e é considerado um dos mecanismos de defesa contra o ataque de patógenos (Menzies et al., 1991). Vários trabalhos na literatura já evidenciaram que o Si contribui positivamente em potencializar a produção de compostos fenólicos em diferentes patossistemas (Bélanger et al., 2003; Chérif et al., 1994; Dallagnol, 2008; Rodrigues et al., 2005). A concentração de CFST no sistema radicular das duas cultivares supridas com Si diferiu dos valores encontrados em plantas não supridas com esse elemento. Como os compostos fenólicos são importantes na defesa das plantas à infecção por patógenos, atribui-se a redução na intensidade do mal do Panamá, principalmente nas plantas da cultivar Maçã, o aumento na concentração de CFST potencializado pelo Si.

A lignina geralmente é encontrada nos tecidos vegetais entre a parede celular e as células adjacentes. Desta forma, a lignificação das células pode restringir a colonização fúngica nos tecidos vegetais atuando como barreira mecânica ou até mesmo tornando a parede celular mais resistente ao ataque de enzimas hidrolíticas (Hammerschmidt & Kuc, 1982; Nicholson & Wood, 2001; Pascholati & Leite, 1995;



Ride, 1978). Diante da importância que a deposição da lignina apresenta como mecanismo de defesa, foi observado que plantas das cultivares Grande Naine e Maçã supridas com Si apresentaram maior concentração dos DLTAG no sistema radicular em comparação com as plantas dessas cultivares não supridas com Si. É plausível que também tenha ocorrido aumento na concentração dos DLTAG no rizoma-pseudocaulo contribuindo, assim, para a redução nos sintomas do mal do Panamá, principalmente para as plantas da cultivar Maçã supridas com Si. Resende (2007) não observou diferenças na concentração dos DLATG entre plantas de sorgo de duas cultivares supridas ou não com Si em resposta à infecção por *Colletotrichum sublineolum*. Diferentemente, Rodrigues et al. (2005) trabalhando com o patossistema arroz-*P. grisea*, observaram que a concentração dos DLATG em plantas não supridas com Si foi maior em comparação com as plantas supridas com esse elemento. Os autores observaram que a concentração dos DLATG foi influenciada pelo aumento na produção de transcritos do gene que codifica para a síntese da enzima peroxidase durante a infecção por *P. grisea*.

As plantas apresentam a capacidade de ativar, de forma rápida e sincronizada, os diferentes mecanismos bioquímicos envolvidos nas respostas de defesa associados à infecção por patógenos (Datnoff et al., 2007). Com relação a atividade das enzimas QUI e GLU no sistema radicular das plantas das duas cultivares supridas com Si, não houve aumento em atividade em comparação com o que foi observado para as plantas não supridas com Si. Ao contrário, Chérif et al. (1992, 1994) verificaram que houve aumento na atividade da enzima quitinase em plantas de pepino supridas com Si em resposta a infecção por *Pythium ultimum* em contraste do que foi observado para as plantas não supridas com esse elemento.

Em relação à atividade das enzimas PFO, PER e FAL no sistema radicular das plantas das duas cultivares, não foi observado diferença entre os tratamentos -Si e +Si, apesar de haver uma tendência de maior atividade em plantas supridas com Si. Estes resultados diferem dos obtidos por Cai et al. (2008), os quais verificaram diferença na atividade das enzimas PFO, PER e FAL em folhas de plantas de arroz supridas com Si quando comparadas com as plantas não supridas com esse elemento em resposta a infecção por *P. grisea*. Chérif et al. (1994) observaram que em raízes de plantas de pepino supridas com Si, as atividades das enzimas PER e FAL foram maiores após infecção por *Pythium* spp. em comparação com as plantas sadias. Apesar do Si não ter potencializado a atividade da PER, PFO e FAL no sistema

radicular das plantas das duas cultivares supridas com esse elemento, trabalhos na literatura já evidenciaram a participação positiva desse elemento em aumentar a atividade dessas enzimas (Dallagnol, 2008; El-Samman, 2000).

Os resultados deste trabalho sugerem que o Si contribuiu para o aumento da resistência da bananeira ao mal do Panamá, principalmente no caso da cultivar suscetível, pela redução dos sintomas dessa doença em associação com uma maior lignificação e produção de compostos fenólicos no sistema radicular.

## 6. CONCLUSÕES

a) as variáveis AACPSSR, AACPSRF e AACPER, em geral, foram reduzidas somente nas plantas supridas com Si, assim como os componentes de resistência AACPCFA, AACPCRL e AACPMP, sugerindo que uma determinada concentração desse elemento nos tecidos da planta é importante para reduzir a intensidade do mal do Panamá.

b) plantas das duas cultivares supridas com Si apresentaram uma maior concentração de pigmentos (clorofila *a*, clorofila *b*, clorofila total e carotenóides) o que indica, indiretamente, uma maior capacidade dessas plantas em manter o metabolismo primário mesmo sendo infectadas por *Foc*.

c) o Si não influenciou a concentração de MDA nas raízes das plantas das duas cultivares.

d) a concentração de peróxido de hidrogênio mostrou-se superior nas raízes das plantas das duas cultivares supridas com Si sugerindo uma maior atuação deste composto na defesa da planta à infecção por *Foc*.

e) a concentração de CFST e derivados da LATG foi maior nas raízes das plantas das duas cultivares supridas com Si contribuindo para reduzir a intensidade do Panamá.

f) o Si não foi capaz de potencializar a atividade das enzimas QUI, GLU, PPO, PER e FAL no sistema radicular das plantas das duas cultivares.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfenas AC, Gonçalves RC, Mafia RG (2007). Métodos em Fitopatologia. Viçosa MG, Editora UFV.
- Arnon DI, Stout PR (1939). The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiology* 14, 371-375.
- Barber MS, Ride JP (1988). A quantitative assay for induced lignification in wounded wheat leaves and its use to survey potential elicitors of the response. *Physiology and Molecular Plant Pathology* 32: 185–197
- Bélanger RR, Benhamou N, Menzies JG (2003). Cytological evidence of an active role of silicon in wheat resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*). *Phytopathology* 93, 402-12.
- Borges AJS, Trindade AV, Matos AP, Peixoto MFS (2007). Redução do mal-do-panamá em bananeira-maçã por inoculação de fungo micorrízico arbuscular. *Pesquisa agropecuária brasileira* 42, 35-41.
- Bowen P, Menzies JG, Ehret DL, Samuels L, Glass ADM (1992). Soluble silicon sprays inhibit powdery mildew development on grape leaves. *Journal of American Society for Horticultural Science* 117: 906-912.
- Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72, 248-254.
- Cai K, Gao D, Luo SM, Zeng R, Yang JY, Zhu XY (2008). Physiological and cytological mechanisms of silicon-induced resistance in rice against blast disease. *Physiologia Plantarum* 134: 324-333.
- Castro NR, Coelho RSB, Laranjeira D, Couto EF, Souza MBR (2008). Ocorrência, métodos de inoculação e agressividade de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* em *Heliconia* spp. *Summa Phytopathologica* 34, 127-130
- Chance B, Maehley AC (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology* 2: 764-775.
- Chérif M, Menzies JG, Benhamou N, Bélanger RR (1992). Studies of silicon distribution in wounded and *Pythium ultimum* infected cucumber plants. *Physiology Molecular Plant Pathology* 41, 371–385.
- Chérif M, Asslin A, Bélanger RR (1994). Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. *Phytopathology* 84, 236-42.
- Companiononi B, Mora N, Diaz L, Perez A, Arzola M, Hernández M, Ventura J, Pérez MC, Santos R, Lorenzo JC (2005). Identification of discriminant factors after treatment of resistant and susceptible banana leaves with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* culture filtrates. *Plant Breeding* 124, 79-85
- Cordeiro ZJM (2003) (Ed). Cultivo da Banana para o Projeto Formoso. Cruz das Almas BA. EMBRAPA Mandioca E Fruticultura. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananaFormoso/index.htm>>. Acessado em: 22 de Abril de 2008.

- Cordeiro ZJM, Matos AP, Kimati H (2005). Doenças da bananeira. In: Kimati H, Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A, Camargo LEA (Eds). Manual de Fitopatologia II. Piracicaba SP. Agronômica Ceres.
- Dallagnol LJ, Rodrigues FÁ, Mielli MVB, Ma JF, Datnoff LE (2009). Defective active silicon uptake affects some components of rice resistance to brown spot. *Phytopathology* 99, 116-121.
- Dannon EA, Wydra K (2004). Interaction between silicon amendment, bacterial wilt development and phenotype of *Ralstonia solanacearum* in tomato genotypes. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 64, 233-243.
- Datnoff LE, Rodrigues FÁ, Seebold KW (2007). Silicon and plant disease. In: Datnoff LE, Elmer WH, Huber DM (Eds). Mineral nutrition and plant disease. St. Paul MN. The American Phytopathological Society.
- Datnoff LE, Snyder GH, Raid RN, Jones DB (1991). Effect of calcium silicate on blast and brown spot intensities and yields of rice. *Plant Disease* 75: 729-732.
- de Ascensao ARDCF, Dubery IA (2000). Panama disease: Cell wall reinforcement in banana roots in response to elicitors from *Fusarium oxysporum* f. sp *cubense* race four. *Phytopathology* 90, 1173-80.
- de Ascensao ARFDC, Dubery IA (2003). Soluble and wall-bound phenolics and phenolic polymers in *Musa acuminata* roots exposed to elicitors from *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense*. *Phytochemistry* 63, 679-86.
- Diogo RVC, Wydra K (2007). Silicon-induced basal resistance in tomato against *Ralstonia solanacearum* is related to modification of pectic cell wall polysaccharide structure. *Physiology Molecular Plant Pathology* 70, 120–129.
- El-Samman MG (2000). The role of soluble silicon in controlling some root rot disease of cucumber and tomato. *Annals of Agricultural Science* 4: 1411-1419.
- Epstein E (1999). Silicon. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50, 641-664.
- Epstein E, Bloom AJ (2005). Mineral nutrition of plants: principles and perspectives. Sunderland MA. Sinauer Associates.
- Fawe A, Abou-Zaid M, Menzies JG, Bélanger RR (1998). Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. *Phytopathology* 88: 396-401.
- Gay C, Gebicki JMA (2000). A critical evaluation of the effect of sorbitol on the ferric-xylenol orange hydroperoxide assay. *Analytical Biochemistry* 284: 217-220.
- Gonçalves JS, Perez LH, Moreira SAS (2005). Perspectiva econômica da banana não é negra e futuro indica: siga a modernidade e toca inovação. In: Ferrari JT, Moraes W, Santos AS (Coord). *Cultura da Banana*. Registro SP. Anais XIII Reunião Itinerante De Fitossanidade Do Instituto Biológico.
- Hammerschmidt R, Kuc J (1982). Lignification as a mechanism for induced systemic resistance in cucumber. *Physiological Plant Pathology* 20: 61-71.
- Harman GE, Hayes CK, Lorito M, Broadway RM, Pietro AD, Peterbauer C, Tronsmo A (1993). Chitinolytic enzymes of *Trichoderma harzianum*: purification of chitobiosidase and endochitinase. *Phytopathology* 83: 313-318.

Heath RL, Packer (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplast: I-kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archieve Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.

Henriet C, Draye X, Oppitz I, Swennen R, Delvaux B (2006). Effects, distribution and uptake of silicon in banana (*Musa* spp.) under controlled conditions. *Plant Soil* 287, 359-374.

IBRAF. Instituto Brasileiro de Frutas. Comparativo das Exportações Brasileiras de Frutas Frescas 1º Semestre 2008. Disponível em: <[http://www.ibraf.org.br/estatisticas/Exportação/Comparativo\\_das\\_Exportações\\_Brasileiras\\_de\\_Frutas\\_frescas\\_2008-2007.pdf](http://www.ibraf.org.br/estatisticas/Exportação/Comparativo_das_Exportações_Brasileiras_de_Frutas_frescas_2008-2007.pdf)>. Acessado em: 22 de Abril de 2008.

Iler RK (1979). The chemistry of silica. New York NY, John Wiley & Sons.

Inzé D, Van Montagu M (1995). Oxidative stress in plants. *Current Opinion in Biotechnology* 6: 153-158.

Ishiguro K (2001). Review of research in Japan on the roles of silicon in conferring resistance against rice blast. In: Datnoff LE, Snyder GH, Korndorfer GH (Eds.). *Silicon in Agriculture*. Amsterdam The Netherlands. Elsevier Science.

Jauhari OS, Mishra RA, Tewari CB (1974). Nutrient uptake of banana (*Musa paradisiaca*) var. Basrai Dwarf. *Indian Journal of Agricultural Chemistry* 74, 7:73-79.

Jones LHP, Handreck KA (1967). Silica in soils, plants and animals. *Advances in Agronomy* 19, 107-49.

Kar M, Mishra D, 1976. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology* 57: 315-319.

Kim SG, Kim KW, Park EW, Choi D (2002). Silicon-induced cell wall fortification of rice leaves: a possible cellular mechanism of enhanced host resistance to blast. *Phytopathology* 92, 1095-103.

Koenig RL, Ploetz RC, Kistler HC (1997). *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* consists of a small number of divergent and globally distributed clonal lineages. *Phytopathology* 87, 915-923.

Korndörfer GH, Pereira HS, Nola A (2004). Análise de silício: solo, planta e fertilizante. Uberlândia MG. GPSi-ICIAG-UFU.

Kuo MC, Kao CH (2003). Aluminum effects on lipid peroxidation and antioxidative enzyme activities in rice leaves. *Biologia Plantarum* 46: 149-152.

Kupper KC (2005). Mal-do-Panamá. In: In: Ferrari JT, Moraes W, Santos AS (Coord). *Cultura da Banana*. Registro SP. Anais XIII Reunião Itinerante De Fitossanidade Do Instituto Biológico.

Leslie JF, Summerell BS (2006). The *Fusarium* laboratory manual. Ames IA. Blackwell Publishing.

Lever M (1972). A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates. *Analytical Biochemistry* 47: 273-279.

Liberato JR (2003). Desenvolvimento e avaliação do Software Quant para quantificação de doenças de plantas por análise de imagens. Viçosa, Brasil: Universidade Federal de Viçosa, Ph.D thesis.

- Lichtenthaler HK (1987). Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic biomembranes. In: Douce R, Packer L, (Eds.) *Methods in Enzymology*. New York NY. Academic Press Inc. 350-382.
- Lima ALS, DaMatta FM, Pinheiro HA, Totola MR, Loureiro ME, 2002. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. *Environmental and Experimental Botany* **47**, 239-47.
- Ma JF, Yamaji N (2006). Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends in Plant Science* **11**, 392–397.
- Menzies J, Bowen P, Ehret D, Glass ADM (1992). Foliar applications of potassium silicate reduce severity of powdery mildew on cucumber, muskmelon, and zucchini squash. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **117**: 902-905.
- Menzies JG, Ehret DL, Glass ADM, Samuels AL (1991). The influence of silicon on cytological interactions between *Sphaerotheca fuliginea* and *Cucumis sativus*. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **39**: 403-414.
- Mitani N, Ma JF (2005). Uptake system of silicon in different plant species. *Journal of Experimental Botany* **56**, 1255-61.
- Mohamed AA, Mak C, Liew KW, Ho YW (1999). Early evaluation of banana plants at nursery stage for Fusarium wilt tolerance. In: Molina A B, Masdek N K, Liew K W (Eds). *Banana Fusarium Wilt Management: towards Sustainable Cultivation*. Genting Highlands Resort Malaysia. Proc. Int. Workshop on the Banana Fusarium wilt disease.
- Mohandas S, Manamohan M, Rawal RD, Chakraborty S, Sreekantappa H, Manjula R, Lakshmikantha HC (2004). Interaction of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* with *Pseudomonas fluorescens* precolonized to banana roots. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* **20**, 651-655.
- Nel B, Steinberg C, Labuschagne N, Viljoen A (2006). The potential of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and other biological control organisms for suppressing fusarium wilt of banana. *Plant Pathology* **55**, 217-223.
- Nicholson RL, Wood KV (2001). Phytoalexins and secondary products, where are they and how can we measure them? *Physiological and Molecular Plant Pathology* **59**: 63-69.
- Oliveira LA, Korndörfer GH, Pereira AC (2007). Acumulação de silício em arroz em diferentes condições de pH da rizosfera. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* **31**, 685-690.
- Parlevliet JE (1979). Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. *Annual Review of Phytopathology* **17**, 202-22.
- Pascholati SF, Leite B (1995). Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: Bergamin Filho A, Kimati H, Amorim L (Ed). *Manual de fitopatologia: princípios e conceitos*. São Paulo SP. Agronomica Ceres. p. 417-453.
- Peng HX, Sivasithamparam K, Turner DW, 1999. Chlamyospore germination and Fusarium wilt of banana plantlets in suppressive and conducive soils are affected by physical and chemical factors. *Soil Biology & Biochemistry* **31**, 1363–1374.
- Ploetz RC (2000). Panama disease: A classic and destructive disease of banana. Online. *Plant Health Progress* doi: 10.1094/PHP-2000-1204-01-HM.

Ploetz RC (2005). Panama disease, an old nemesis rears its ugly head: Part 1, the beginnings of the banana export trades. *Plant Health Progress* doi: 10.1094/PHP-2005-1221-01-RV.

Ploetz RC (2006). Fusarium wilt of banana is caused by several pathogens referred to as *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Phytopathology* 96, 653-656.

Ploetz, R.C. (Ed) 2003. *Diseases of Tropical Fruit Crops*. Wallingford UK. CABI.

Resende RS (2007). Silício no manejo da antracnose do sorgo: componentes de resistência e respostas bioquímicas de defesa. Tese de Mestrado. Universidade Federal de Viçosa, MG.

Resende RS, Rodrigues FÁ, Soares JM, Casela CR (2009). Influence of silicon on some components of resistance to anthracnose in susceptible and resistant sorghum lines. *European Journal Plant Pathology* 124, 533–541.

Ride JP (1978). The role of cell wall interactions in resistance to fungi. *Annals of Applied Biology* 89: 302-306.

Rodgers-Gray BS, Shaw MW (2000). Substantial reductions in winter wheat diseases caused by addition of straw but not manure to soil. *Plant Pathology* 49: 590-599.

Rodrigues FÁ, Benhamou N, Datnoff LE, Jones JB, Bélanger RR (2003). Ultrastructural and cytochemical aspects of silicon-mediated rice blast resistance. *Phytopathology* 93, 535–46.

Rodrigues FÁ, Jurick II WM, Datnoff LE, Jones JB, Rollins JA (2005). Silicon influences cytological and molecular events in compatible and incompatible rice-*Magnaporthe grisea* interactions. *Physiology Molecular Plant Pathology* 66, 144–159.

Seebold KW, Kucharek TA, Datnoff LE, Correa-Victoria FJ, Marchetti MA (2001). The influence of silicon on components of resistance to blast in susceptible, partially resistant, and resistant cultivars of rice. *Phytopathology* 91, 63-9.

SEBRAE – Agência de SEBRAE de Notícias. Brasil é o terceiro maior produtor de frutas do mundo. Disponível em: <<http://www.agenciasebrae.com.br/noticia.kmf?noticia=8524734&canal=199>>. Acessado em: 25 de Junho de 2009.

Silva FC (1999). Análises químicas para avaliação da fertilidade do solo. In: Silva FC (Ed). *Manual de análise química de solos, plantas e fertilizantes*. Brasília DF. EMBRAPA.

Subramaniam S, Maziah M, Sariah M, Puad MP, Xavier R (2006). Bioassay method for testing Fusarium wilt disease tolerance in transgenic banana. *Scientia Horticulturae* 108, 378-389.

Thordal-Christensen H, Zhang Z, Wei Y, Collinge DB (1997). Subcellular localization of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in plants. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation in papillae and hypersensitive response during the barley-powdery mildew interaction. *Plant Journal* 11: 1187-1194

Vale FXR, Fernandes Filho EI, Liberato JR (2003). QUANT. A software plant disease severity assessment. 8<sup>th</sup> International Congress of Plant Pathology 1, 105.

Yoshida S, Ohnishi Y, Kitagishi K (1962). Chemical forms, mobility and deposition of silicon in rice plant. *Soil Science and Plant Nutrition* 8, 15-21.



Zhou F, Zhang Z, Gregersen PL, Mikkelsen JD, de Neergaard E, Collinge DB, Thordal-Christensen H (1998). Molecular characterization of the oxalate oxidase involved in the response of barley to the powdery mildew fungus. *Plant Physiology* 117: 33–41.

Zieslin N, Ben-Zaken R (1993). Peroxidase activity and presence of phenolic substances in peduncles of rose flowers. *Plant Physiology Biochemistry* 31: 333-339.