

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

ISABELA DE BRITO KNYCHALA

**CRESCIMENTO MICELIAL E ESPORULAÇÃO DO FUNGO *Quambalaria eucalypti*
EM DIFERENTES MEIOS E DOSES DE SILÍCIO**

**Uberlândia – MG
Dezembro - 2009**

ISABELA DE BRITO KNYCHALA

**CRESCIMENTO MICELIAL E ESPORULAÇÃO DO FUNGO *Quambalaria eucalypti*
EM DIFERENTES MEIOS E DOSES DE SILÍCIO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Lísias Coelho

**Uberlândia – MG
Dezembro - 2009**

ISABELA DE BRITO KNYCHALA

**CRESCIMENTO MICELIAL E ESPORULAÇÃO DO FUNGO *Quambalaria eucalypti*
EM DIFERENTES MEIOS E DOSES DE SILÍCIO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
ao curso de Agronomia, da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do
grau de Engenheiro Agrônomo.

Aprovado pela Banca Examinadora em 15 de dezembro de 2009.

Prof. Dr. Jonas Jäger Fernandes
Membro da Banca

M.Sc. Cilson César Fagiani
Membro da Banca

Prof. Lísias Coelho, Ph.D.
Orientador

RESUMO

A expansão do plantio de eucalipto e o aumento crescente de áreas reflorestadas são fatores determinantes para o aumento da demanda por mudas e diante a tecnologia de melhoramento e processo de clonagem, se exige cada vez mais, que essas mudas sejam de qualidade, isentas de doenças e pragas iniciais. Uma vez que a nutrição mineral tem efeitos não somente nos aspectos de produtividade, mas também sobre a resistência de plantas ao ataque de pragas e de doenças, procurou-se nesse trabalho determinar o meio de cultura de melhor desempenho do fungo e avaliar o efeito de diferentes doses de silício em meio de cultura sobre o crescimento micelial e esporulação “in vitro” do fungo *Quambalaria eucalypti*, agente etiológico do anelamento da haste e brotações e de manchas foliares em mudas de *Eucalyptus* spp coletado de um viveiro florestal em Itumbiara GO. O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado. O crescimento micelial do fungo nos meios batata-dextrose-ágar (BDA), V8-ágar (V8), infusão de fubá (Corn meal Agar CMA) e extrato de eucalipto-ágar (EDA) não apresentou diferença estatística; no entanto, a esporulação apresentou melhores resultados em meio de cultura V8. Diferentes doses de silício em meio de cultura CMA foram determinantes na inibição do crescimento do fungo, sendo o meio com máxima dose utilizada, 2% de silício (fonte: silício coloidal) o que apresentou a maior inibição. Entretanto, a esporulação não sofreu efeito dos tratamentos das doses, não apresentando diferença significativa.

Palavras-chave: silício coloidal, inibição micelial, eucalipto.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	5
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	7
2.1 Anelamento da haste e mancha foliar de <i>Quambalaria</i>	7
2.2 Silício no solo.....	8
2.3 Silício na planta e seus benefícios.....	9
2.4 Silício e adubação foliar.....	10
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1 Efeito dos meios de cultura no crescimento micelial e esporulação do fungo <i>Quambalaria eucalypti</i>	12
3.2 Efeito das diferentes doses de Silício no crescimento micelial e esporulação do fungo <i>Quambalaria eucalypti</i>	13
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
4.1 Efeito dos meios de cultura no crescimento micelial e esporulação.....	15
4.2 Efeito de diferentes doses de Silício no crescimento micelial e esporulação.....	17
5 CONCLUSÕES.....	20
REFERÊNCIAS.....	21

1 INTRODUÇÃO

O eucalipto é a árvore mais plantada no mundo com mais de 17,8 milhões de hectares, sendo o Brasil o segundo país com maior área plantada (cerca de três milhões de hectares), ultrapassado apenas pela Índia, cujos plantios totalizam oito milhões de hectares aproximadamente (FAO, 2000). No Brasil a eucaliptocultura é intensiva e baseada principalmente em florestas clonais formadas com materiais-elite e de elevada produtividade média, chegando a atingir valores da ordem de $45-60 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$ (MORA; GARCIA, 2000). Estimativas mais conservadoras indicam que o incremento médio anual está em torno de $35 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$, podendo variar de $30-60 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, dependendo da região, do material genético e dos tratos culturais.

Os investimentos dos setores públicos, e principalmente, privados no país vêm contribuindo significativamente para o desenvolvimento dos programas de melhoramento genético e da clonagem em escala comercial.

Algumas espécies foram selecionadas para as condições de clima e de solo das diversas regiões do país. Híbridos de alta produtividade foram obtidos após anos de pesquisa e hoje os plantios são feitos normalmente pelo processo de clonagem (ARAÚJO, 2001).

A expansão dos plantios de eucalipto nos últimos anos tem suprido a crescente demanda de biomassa lenhosa com propriedades tecnológicas para a produção de celulose e papel, carvão vegetal, óleos essenciais, madeira sólida para serraria, postes de eletricidade, mourões de cerca, dentre outras. Mais recentemente o setor privado tem despertado o interesse para o plantio de florestas de eucalipto para fixação de carbono, visando reduzir a concentração de CO_2 na atmosfera (ALFENAS; MAFIA, 2003).

O aumento crescente de áreas reflorestadas, principalmente a partir da implementação iniciada em meados da década de 60, como consequência da lei dos incentivos fiscais ao reflorestamento, tornou imperioso o aumento do número de mudas produzidas e, também, a necessidade de essas mudas serem de boa qualidade, e apresentarem um menor custo de produção (BARROS, 1990).

Essa demanda pelo maior número de mudas produzidas exige que as mesmas sejam de qualidade, isentas de doenças e pragas iniciais. Para isso é importante o estudo dos efeitos dos nutrientes, bem como sua absorção e atuação na planta, principalmente quanto à ocorrência de doenças.

Marschner (1995) considera os efeitos da nutrição mineral sobre o crescimento e produtividade, com ênfase para a função dos nutrientes no metabolismo das plantas, e secundariamente, sobre a resistência das plantas ao ataque de pragas e de doenças.

Epstein (2001) exemplificou ações benéficas do Si nas plantas em casos cientificamente comprovados, tais como: Resistência ao ataque de organismos patogênicos; melhor estruturação da arquitetura das plantas; resistência à herbivoria de insetos fitófagos; redução da fitoxides das plantas causadas por metais pesados; maior tolerância das plantas em ambiente salino; redução dos efeitos de estresse hídrico; proteção contra efeitos de temperaturas extremas; promoção da formação de nódulos simbióticos em leguminosas; efeitos em atividades enzimáticas e, em geral, composição mineral das plantas.

Já existem estudos relacionando-o ao controle de doenças fúngicas, não somente pelo aspecto da nutrição, mas também pela supressão ao desenvolvimento ou inibição do patógeno.

Dessa forma, o uso de silício na eucaliptocultura pode ter efeito benéfico na redução de doenças.

A necessidade de mais estudos sobre o efeito do silício no controle de doenças, não somente pelo seu efeito na planta, mas também diretamente no fungo se tornou importante e objetivou este trabalho, que visa avaliar o efeito de diferentes doses de silício (Silício coloidal) em meio de cultura no crescimento micelial e esporulação do fungo *Quambalaria eucalypti*, agente etiológico do anelamento da haste e brotações e de manchas foliares em mudas de *Eucalyptus* spp.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Anelamento da haste e mancha foliar de *Quambalaria*

O fungo *Quambalaria eucalypti* foi primeiramente descrito na África do Sul em 1993, como agente etiológico do anelamento da haste e brotações e de manchas foliares em mudas de *Eucalyptus* spp (ALFENAS et al., 2004).

No Brasil foi encontrado pela primeira vez em março de 2000, quando se registrou a ocorrência de uma nova doença de *Eucalyptus* sp., em minijardim clonal, na região de Barra do Ribeiro – RS caracterizando-se pela infecção da haste principal de mudas e de porções apicais de brotações de minicepas produtoras de brotos para enraizamento e folhas. Nas folhas, as lesões são inicialmente arroxeadas, ligeiramente arredondadas, ou de formato e dimensões variáveis. No caule e pecíolo, o patógeno induz anelamento e morte dos mesmos. Os órgãos afetados, não raro, tornam-se retorcidos e as áreas necróticas escuras recobertas com pústulas esbranquiçadas (massa de micélio, conidióforos e conídios) do fungo, com características morfológicas típicas de *Sporothrix eucalypti* Wingfield, Crous & Swart, relatado em *Eucalyptus* sp., na África do Sul (WINGFIELD et al., 1993 apud ALFENAS et al., 2001).

No campo apresenta variabilidade quanto à incidência e severidade da doença. Desde então, no Brasil, a doença tem sido constatada em intensidades variáveis em viveiros no Amapá, na Bahia, no Espírito Santo, em Minas Gerais, em São Paulo e no Rio Grande do Sul.

O anelamento da haste, lesões foliares e deformação dos órgãos infectados de mudas e minicepas, incide também em miniestacas na fase de enraizamento e pode reduzir conseqüentemente a produção de miniestacas para enraizamento (ALFENAS et al., 2004).

Brotações infectadas constituem a principal fonte de inóculo. Sobre as lesões de coloração marrom a marrom-escura, forma-se uma massa esbranquiçada de estruturas do fungo na face abaxial do limbo foliar, lembrando pústulas de ferrugem branca. Observando-se ao microscópio os conidióforos e conídios típicos do patógeno (ALFENAS et al., 2004).

A exuberante massa de esporos secos produzidos o torna de fácil dispersão por insetos, pelo homem e pelo vento, seja no campo ou por correntes de ar forçado nas casas de enraizamento.

Suas colônias, em BDA, possuem odor peculiar, são brancas e esporulantes; seus conídios primários (5-10 x 2,5- 5 µm) e secundários (2,5-5 x 1,0-2,5 µm) são hialinos,

unicelulares, produzidos em células conidiogênicas denticuladas, hialinas e diferenciadas da hifa vegetativa (ALFENAS et al., 2001).

2.2 Silício no solo

O silício é o principal componente de minerais do grupo dos silicatos, compreendendo 28% da crosta terrestre, apresenta-se de forma livre ou combinada como parte dominante da fração sólida e dissolvida na solução do solo (MA et al., 2001). O Si faz parte da composição de minerais primários, como feldspatos, augita, quartzo e mica; e em secundários, como a caulinita, montmorilonita, illita e clorita (RAIJ, 1991).

As principais formas de silício presentes no solo são: a) silício solúvel (H_4SiO_4 - ácido monossilícico) prontamente absorvido pelas plantas, que é desprovido de carga elétrica; b) silício adsorvido ou precipitado com óxidos de ferro e alumínio, c) os minerais silicatados (cristalinos e amorfos), d) silício polimerizado, e) silício orgânico e f) silício na forma de fitólitos (FOY, 1992).

No solo, os íons SiO_4^{4-} reagem com H^+ , formando ácido monossilícico, que é a forma assimilada pela planta. Na solução do solo, o H_4SiO_4 comporta-se como um ácido muito fraco, de forma que em pH 7,0, apenas 0,2% ioniza-se na forma carregada negativamente $\text{SiO}(\text{OH})_3^-$ (BRAGA, 2004).

Alguns fatores do solo que influenciam a concentração de Si na solução do solo podem ser: a composição mineralógica e textural, o processo de ciclagem do nutriente, acidez do solo e predominância de íons na solução (MCKEAGUE; CLINE, 1963). Já os silicatos de potássio e sódio, possuem alto grau de solubilidade, podendo apresentar maior eficiência em relação ao fornecimento de Si para as plantas, permitindo ser aplicado diretamente na parte vegetativa da planta.

2.3 Silício na planta e seus benefícios

A absorção de Si da solução do solo para a planta dá-se de múltiplas formas, com o composto de silício presente na fase líquida do solo, na faixa de pH de 4 a 9, o monômero do ácido monossilício H_4SiO_4 (McKEAGUE; CLINE, 1963, JONES; HANDRECK, 1967), é a forma pela qual o elemento é também absorvido pelas plantas (MARSCHNER, 1995). No processo passivo, o elemento acompanha o fluxo transpiratório de água que é absorvido pelas raízes das plantas. Durante o processo ativo, uma concentração maior de Si é absorvida. Ao final do processo, a água é perdida através da transpiração e o Si é depositado nos tecidos das plantas. Quando a concentração de Si aumenta na planta, o ácido monossilícico se polimeriza (YOSHIDA, 1965).

As plantas consomem diferentes quantidades de silício, de acordo com a sua espécie (TISDALE, 1985), e o seu conteúdo nas mesmas varia de 1 a 10 % em peso seco, sendo essa variação resultado da espécie e do ambiente onde essas plantas crescem (MA et al., 2001). Elas podem ser classificadas como acumuladoras de Si, intermediárias e espécies excludoras ou não acumuladoras de Si (TAKAHASHI et al., 1990). A diferença na acumulação de silício tem sido descrita como a habilidade das raízes em absorver Si.

O silício ao ser absorvido pela planta é transportado no xilema e sua distribuição na planta está relacionada com a transpiração. É depositado em sua maioria na forma de silício polimerizado, o qual é de difícil solubilização e se acumula nas paredes das células e nos espaços intercelulares das raízes e folhas (YOSHIDA, 1965; YOSHIDA et al., 1962). É também encontrado na forma de ácido monossilícico, ácido silícico coloidal e compostos de organossilicone no tecido de plantas (YOSHIDA et al., 1962).

Observações sobre o efeito do Si no controle de doenças em plantas tiveram início na década de 40 (BELANGER; MENZIES, 2002). Inicialmente, estudaram-se as gramíneas por serem plantas acumuladoras e segundo diversos autores, o silício forma uma barreira física, de maneira a impedir a penetração de patógenos. Existem muitas informações disponíveis sobre o comportamento do Si em plantas, com maior ênfase no crescimento e produtividade de gramíneas, o mesmo valendo para legumes e cereais de maior importância econômica. Contudo, poucos esforços têm sido dedicados às espécies arbóreas, como é o caso do eucalipto, amplamente difundido nos reflorestamentos pelo Brasil (CARVALHO et al., 2003). Poucas são as informações referentes a esse elemento no eucalipto como: quantidade acumulada nas árvores e exportada pela colheita da madeira, efeitos sobre o crescimento, qualidade do produto e a ocorrência de doenças (SILVEIRA; HIGASHI, 2003).

Atualmente, três hipóteses para o controle de doenças são aceitos pelos pesquisadores:

a) Hipótese da barreira física ou mecânica: fundamenta-se na acumulação de Si na epiderme e parede celular. Em seu movimento ascendente via apoplasto desde as raízes até as folhas, o silício sofre polimerização nos espaços extracelulares das paredes das células epidérmicas das folhas e dos vasos do xilema (FAWE et al., 2001). O Si depositado nos tecidos da epiderme inibe o crescimento das hifas dos fungos, inibindo assim a penetração do tubo germinativo do fungo (DATNOFF et al., 1997; BELANGER et al., 1995); b) Hipótese da barreira química: o silício pode agir como um elemento capaz de induzir mecanismos de defesa da planta incluindo síntese de fenóis, lignina, suberina e calose na parede celular. Evidências sugerem que o silício poderia ter um papel ativo reforçando a resistência das plantas a doenças por estimular a expressão de reações de defesa natural da planta, a alguns dos metabólicos identificados como flavonóides e ácidos fenólicos, eram especificamente e fortemente induzidos em um padrão típico de fototoxinas (FAWE et al., 1998); c) Existe ainda a possibilidade das duas hipóteses se complementarem, ou seja, em algumas plantas tanto a resistência mecânica como a indução de resistência (produção de fenóis) poderiam estar atuando conjuntamente na proteção das plantas contra o ataque de pragas e doenças. Outros mecanismos além destes citados também poderiam estar envolvidos.

Conforme Ma e Takahashi (2002), dentre as múltiplas funções do silício em benefício às plantas, citam-se o seu papel na solução do solo, complexando o alumínio a Al-Si, reduzindo, assim, a toxidez desse elemento para os vegetais. Nas raízes, o silício polimeriza-se em sílica, a qual age reduzindo a captação de manganês pelas plantas, aliviando, dessa maneira, estresses causados por esse elemento; além de melhorar a disponibilidade de fósforo no interior dos tecidos vegetais, aliviando também, a deficiência por esse nutriente. No caule, a deposição de sílica aumenta a resistência do mesmo e previne o acamamento. Enquanto que nas folhas, assim como nas raízes, a deposição do silício como sílica, modifica a distribuição do manganês, reduzindo a sua toxidez, reduz a transpiração aliviando estresses hídricos e salinos, mantém as folhas eretas, alivia estresses por excesso de nitrogênio, além de aumentar a resistência das plantas a estresses bióticos.

2.4 Silício e adubação foliar

A adubação com Si via foliar, assim como acontece via solo, contribui de forma significativa no controle de doenças. Resultados positivos na redução de doenças com a

aplicação de Si foliar foram observados em cultivos hidropônicos de pepino com a aplicação de 100, 500, 1000 e 2000 ppm de SiO_2 (silicato de potássio) (MENZIES et al., 1992). As pulverizações com Si foliar foram feitas um dia antes da inoculação com conídios de oídio. A dose de 500 ppm de Si foi a que mais reduziu o número de colônias de oídio sobre as folhas. Doses superiores a esta (500 ppm SiO_2) não afetaram significativamente a redução do oídio (MENZIES et al., 1992). Na Europa, o silicato de potássio é utilizado por meio de pulverizações foliares para o controle de míldio em pepino e roseiras (BÉLANGER et al., 1995).

Bowen et al. (1992) testando Si aplicado no solo e na folha de videira, sendo a aplicação foliar à base de silicato de sódio, notou maior eficiência no controle de oídio com aplicação foliar do silicato, pois houve considerável redução na severidade do patógeno através da notável redução da germinação do conídio do fungo. O acúmulo de Si, através da deposição pela aplicação de silicatos, pode promover a prevenção da germinação do conídio e sua penetração, e conseqüentemente, diminuir a influência do patógeno na cultura (MENZIES et al., 1992).

Com relação às fontes de Si solúveis com boas possibilidades de uso via foliar, há uma restrição. Segundo Iler (1979) existe um grupo de silicatos solúveis, formados a partir de metassilicatos de potássio ou sódio que formam polímeros facilmente quando se aumenta a quantidade de H_4SiO_4 na solução. Sendo assim, podem formar ácidos polissilícicos de baixo peso molecular, o que pode ocasionar problemas com a solução do produto, tendendo ao ponto de cristalização passando do estado líquido para o sólido com aspecto gelatinoso.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia e Virologia Vegetal (LAVIV) da Universidade Federal de Uberlândia.

3.1 Efeito dos meios de cultura no crescimento micelial e esporulação do fungo *Quambalaria eucalypti*

A fim de se avaliar o crescimento micelial e esporulação do fungo *Quambalaria eucalypti* foi utilizado um isolado de lesões de folha de muda de eucalipto de um jardim clonal de Itumbiara, GO, cultivado em placa de petri com meio BDA à temperatura de 28 °C por sete dias, quando houve a repicagem do fungo para outras cinco placas para que se aumentasse o material que seria utilizado.

Deste meio retiraram-se discos de 0,5 cm de diâmetro das bordas de colônias puras que foram transferidos aos seguintes meios: batata-dextrose-ágar (BDA), V8-ágar (V8), infusão de fubá (Corn meal Agar CMA) e extrato de eucalipto-ágar (EDA) (Tabela 1), a fim de se avaliar crescimento micelial radial do isolado do fungo e sua esporulação.

Tabela 1 – Composição de diferentes meios de cultura para análise de crescimento radial e esporulação de *Quambalaria eucalypti*.

Meio de cultura	Composição (250mL)
CMA (Corn meal ágar)	4,25 g CMA + 250 mL H ₂ O destilada
BDA (Batata-dextrose-ágar)	50 g batata + 5 g ágar + 5 g dextrose + 250 mL H ₂ O destilada
V8 (V8-ágar)	50 mL V8 + 5 g ágar + 200 mL H ₂ O destilada
EDA (Extrato eucalipto-dextrose-ágar)	50 g folha eucalipto + 5 g ágar + 5 g dextrose + 250 mL H ₂ O destilada

O meio V8 foi preparado com o produto comercial V8, que é suco concentrado de tomate misturado com sucos vegetais (cenoura, aipo, beterraba, salsa, alface, agrião e

espinafre), foi adicionado carbonato de cálcio para centrifugação e remoção das partículas sólidas. O sobrenadante foi utilizado na proporção descrita na tabela 1.

O meio EDA foi preparado a partir da água de fervura de 50g de folhas completamente expandidas da espécie *Eucalyptus urophylla* e a infusão utilizada como descrito na Tabela 1.

Aos sete dias de incubação a 28 °C e 12 horas de fotoperíodo mensurou-se o diâmetro da colônia com o uso de um paquímetro e posteriormente a partir de uma suspensão de inóculo obtido pela imersão de discos de 0,5 cm de diâmetro, em 1 mL de água destilada e detergente Tween 20 na concentração de 0,05%, avaliou-se a esporulação mL⁻¹, com a ajuda de um hemacitômetro.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, com oito repetições para cada tratamento, para avaliação do crescimento micelial e com quatro placas por tratamento para esporulação.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2000).

3.2 Efeito das diferentes doses de Silício no crescimento micelial e esporulação do fungo *Quambalaria eucalypti*

Neste ensaio, foi utilizado o meio de cultura CMA e a ele foram adicionados os seguintes tratamentos: 0% de silício (testemunha), 0,5% de silício, 1% de silício, 1,5% de silício e 2% de silício, utilizando como fonte de silício o Silício coloidal (30% SiO₂) (Tabela 2).

Do mesmo modo, a repicagem do fungo foi feita por um disco de 0,5 cm de diâmetro nas placas com os tratamentos a fim de avaliar o crescimento micelial radial e a esporulação do isolado aos oito dias. A incubação foi feita em temperatura de 28°C e 12 horas de fotoperíodo por oito dias. A avaliação de crescimento e esporulação foi feita utilizando os métodos anteriormente descritos.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 10 repetições para cada tratamento, para avaliação do crescimento micelial e com quatro placas por tratamento para esporulação.

Tabela 2 – Composição de meios de cultura com diferentes doses de Silício para análise de crescimento radial e esporulação de *Quambalaria eucalypti*.

Meio de cultura	Composição (250mL)
Testemunha 0 % Silício	4,25 g CMA + 250 mL H ₂ O destilada
0,5 % Silício	4,25 g CMA + 8,9 mL Silício coloidal + 241,1 mL H ₂ O destilada
1 % Silício	4,25 g CMA + 17,8 mL Silício coloidal + 232,2 mL H ₂ O destilada
1,5 % Silício	4,25 g CMA + 26,8 mL Silício coloidal + 223,2 mL H ₂ O destilada
2 % Silício	4,25 g CMA + 35,7 mL Silício coloidal + 214,3 mL H ₂ O destilada

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando o programa SISVAR (FERREIRA, 2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito dos meios de cultura no crescimento micelial e esporulação

O crescimento micelial do fungo, determinado pela mensuração do diâmetro da colônia em placa de petri não apresentou diferenças significativas entre os meios utilizados, sendo 19,70 mm a média do diâmetro de colônias dos meios (Figura 1 e Figura 2).

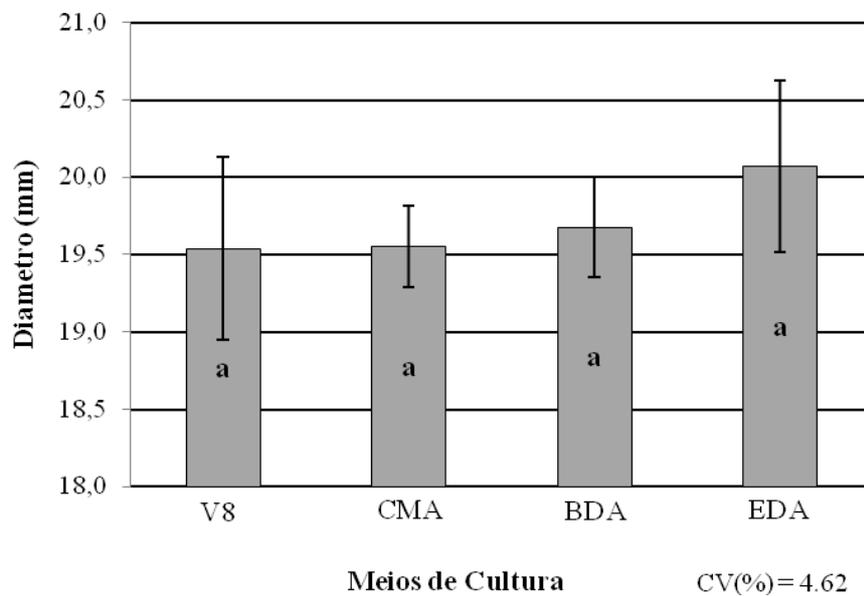


Figura 1 – Crescimento micelial de *Quambalaria eucalypti* expresso pelo diâmetro de colônias (mm) aos sete dias de incubação e 28 °C, nos meios V8, CMA, BDA e EDA.

Colunas sob a mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras indicam o erro padrão da média.

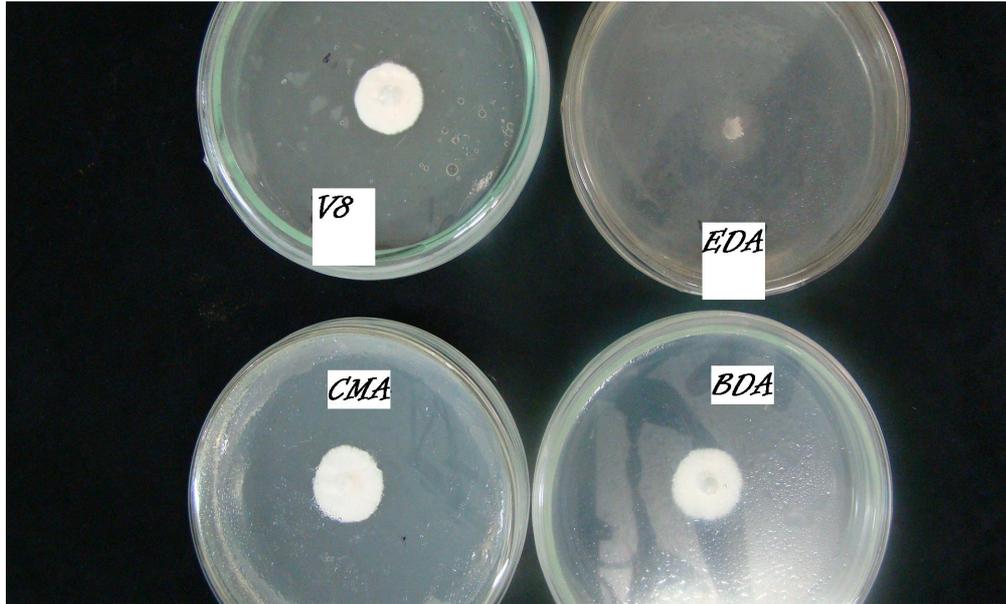


Figura 2 – Crescimento de colônias de *Quambalaria eucalypti* em placas de petri em diferentes meios de cultura.

O meio V8 foi aquele que apresentou maior esporulação, determinada pela contagem esporos em câmara de Neubauer, com 528×10^4 esporos mL^{-1} , sendo significativa em relação ao meio de extrato de eucalipto-ágar onde a esporulação se mostrou estatisticamente e visivelmente inferior apresentando 15.62×10^4 esporos mL^{-1} (Figura 3). De acordo com o observado para *Q. eucalypti*, o meio V8, que é rico em sua composição, estimula o crescimento micelial e produção de esporos (KRUPINSKY, 1982; PIANA; PRESTES, 1993; FERNANDES; SANTOS, 1996 apud ANDRADE, 2004), inclusive para fungos de difícil esporulação (GONZÁLES, 1999; NAGEL, 1934 apud ANDRADE, 2004). No entanto, Andrade (2004) obteve melhores resultados com o meio BDA.

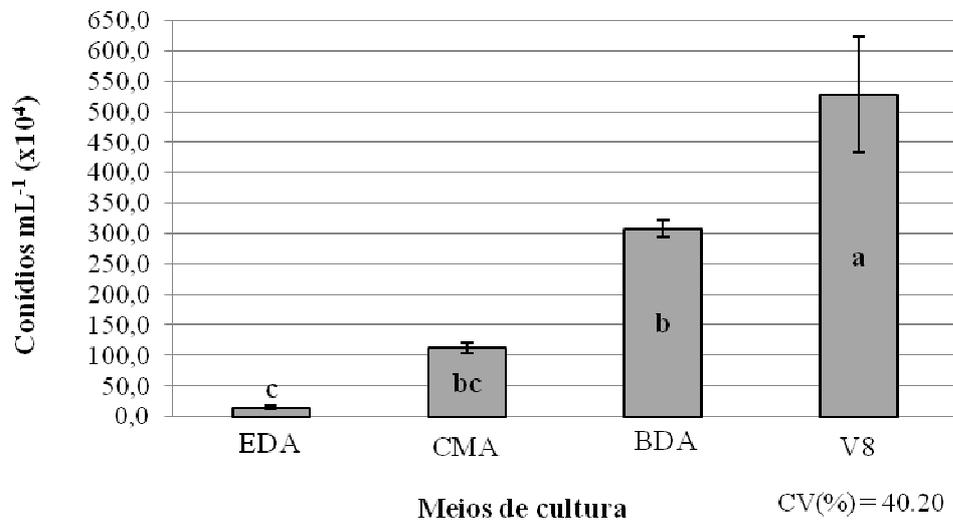


Figura 3 – Esporulação de *Quambalaria eucalypti* expresso por conídios mL⁻¹ aos sete dias de incubação e 28 °C, nos meios V8, CMA, BDA e EDA. Colunas sob a mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras indicam o erro padrão da média.

Os resultados obtidos permitem concluir que para fins de repicagem do fungo, este pode ser cultivado em qualquer meio dos acima citados por apresentarem o mesmo crescimento sendo apenas a disponibilidade de componentes e facilidade de preparo os critérios de escolha do meio, já para obtenção de fonte de inóculo para inoculação de eucalipto, com maior demanda de partículas infectivas, o meio mais recomendado para utilização é o V8 por apresentar grande potencial de produção de esporos.

4.2 Efeito de diferentes doses de Silício no crescimento micelial e esporulação

Utilizou-se o meio de cultura CMA uma vez que o crescimento micelial não diferiu entre os tratamentos e apesar de não ter sido o meio que apresentou maior esporulação, não apresentou alterações com a adição dos tratamentos.

Para o crescimento micelial do fungo, determinado pelo diâmetro da colônia, houve efeito das doses de silício, uma vez que a inibição do desenvolvimento do fungo foi tanto maior quanto maior a dose utilizada (Figura 4 e Figura 5). O tratamento com 2% de silício apresentou o menor diâmetro de colônia, enquanto os tratamentos com 0,5 e 1% de silício

obtiveram resultados estatísticos iguais e a testemunha, sem adição de silício, foi aquele que apresentou o maior diâmetro de colônia.

Resultado semelhante foi observado por Amaral et al. (2008) onde o desenvolvimento do fungo *Cercospora coffeicola* foi afetado diretamente quando se utilizou silicato de potássio, caracterizando um efeito fungitóxico do produto. Os fungos *Hemileia vastatrix* e *Phoma* sp. também foram afetados diretamente em testes de germinação de esporos e crescimento micelial, quando em contato com silicato ou fosfito de potássio (NOJOSA, 2003 apud AMARAL et al., 2008). Porém estes resultados podem ter sido influenciados não pelo silício e sim pela presença do potássio.

Geralmente produtos indutores de resistência, como o fosfito e o silicato de potássio, não atuam sobre o patógeno, contudo, em alguns casos os indutores podem atuar induzindo resistência e afetando o patógeno diretamente (NOJOSA, 2003 apud AMARAL et al., 2008).

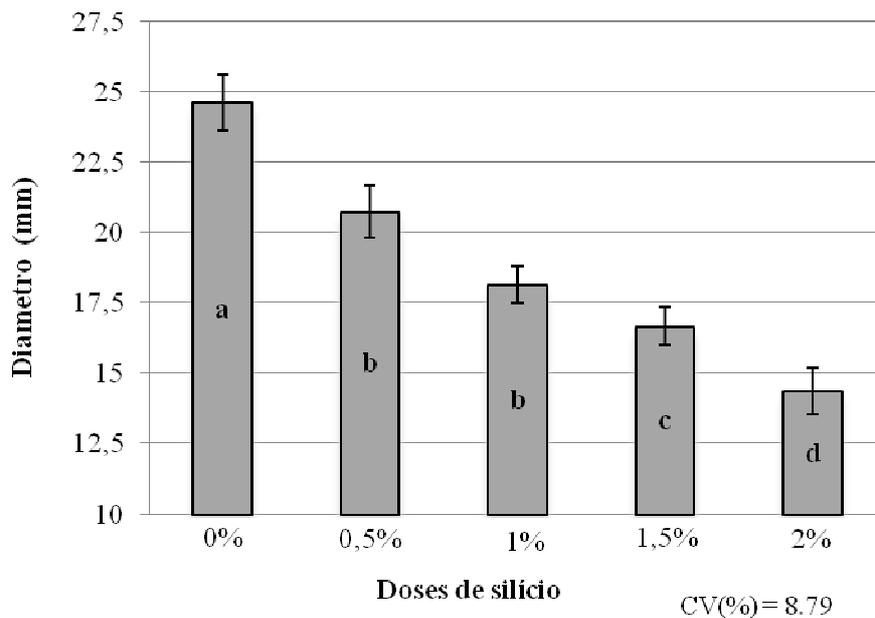


Figura 4 – Crescimento micelial de *Quambalaria eucalypti* expresso pelo diâmetro de colônias (mm) aos oito dias de incubação e 28 °C, em meio CMA com doses de silício 0%, 0,5%, 1%, 1,5% e 2%.

Colunas sob a mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras indicam o erro padrão da média.

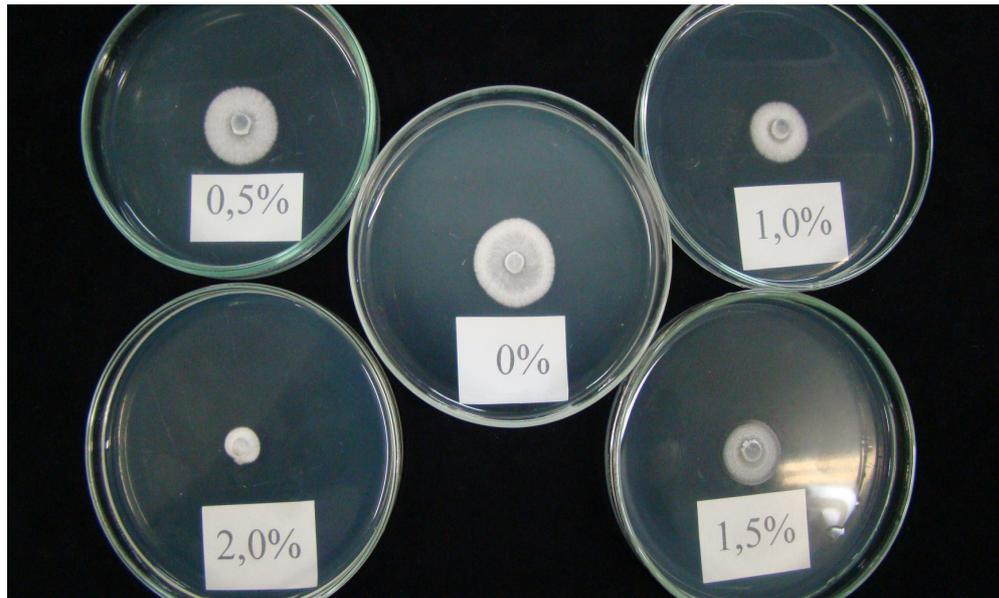


Figura 5 - Crescimento de colônias de *Quambalaria eucalypti* em placas de petri com diferentes doses de silício.

Não houve efeito significativo das doses de silício na esporulação do fungo, sendo $38,72 \times 10^4$ esporos mL^{-1} a média dos tratamentos (Figura 6).

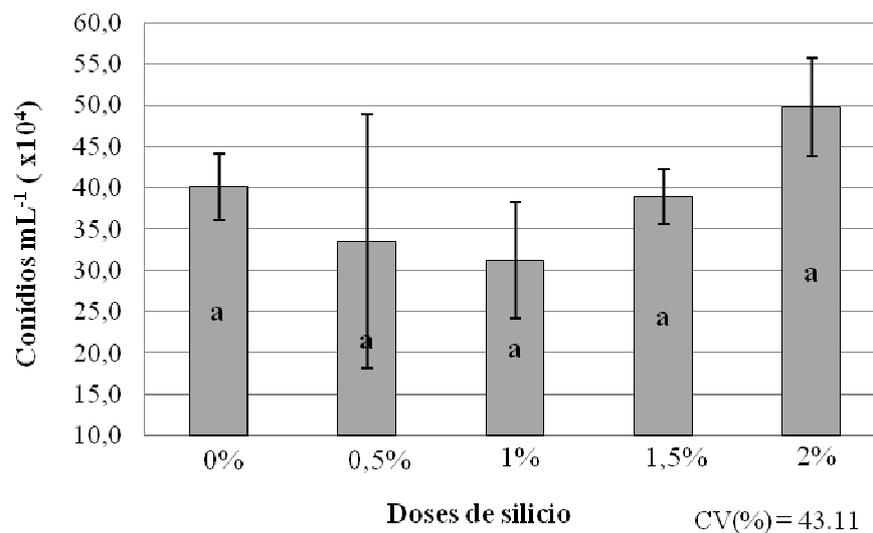


Figura 6 – Esporulação de *Quambalaria eucalypti* expresso por conídios mL^{-1} aos oito dias de incubação e 28°C , em meio CMA com doses de silício 0%, 0.5%, 1%, 1.5% e 2%.

Colunas sob a mesma letra não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Barras indicam o erro padrão da média.

5 CONCLUSÕES

Conclui-se que dentre os meios analisados o que determina a escolha de um meio de cultura para o desenvolvimento do fungo é a disponibilidade de material e facilidade de preparo, já para a obtenção de conídios o meio que mais produziu esporos é o V8.

O silício apresentou eficiência na inibição do crescimento micelial “in vitro” do fungo *Quambalaria eucalypti* sendo o melhor resultado a maior dose utilizada no ensaio, recomendando-se estudos posteriores com doses acima de 2% de silício para que se determine a melhor dose de inibição do mesmo além da realização de ensaios com inoculação do fungo em mudas adubadas com silício pela importância na diminuição do uso de defensivos químicos.

REFERÊNCIAS

- ALFENAS, A.C., ZAUZA, E.A.V., ROSA, O.P.P., ASSIS, T. F. *Sporothrix eucalypti*, um novo patógeno do eucalipto no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.26, p.221. 2001.
- ALFENAS A.C., ZAUZA, E.A.V., MAFIA, R.G., ASSIS, T.F. **Clonagem e doenças do eucalipto** – Viçosa: UFV, 2004. 442p.
- ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. Controle integrado de doenças em viveiros clonais e aspectos relativos à ferrugem (*Puccinia psidii*) do eucalipto. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.28, p.156-163. 2003.
- AMARAL, D.R.; RESENDE, M.L.V.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; BOREL, J.C. MAC LEOD, R.E.O.; PÁDUA, M.A. Silicato de potássio na proteção do cafeeiro contra *Cercospora coffeicola*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v. 63, n. 6, p. 425-431. 2008.
- ANDRADE, G.C.G. *Quambalaria eucalypti*: Características culturais, infectividade e quantificação da severidade da doença em eucalipto. 2004. 47 f. Tese (Mestrado em Fitopatologia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- ARAÚJO, A. **Clonagem de *Eucalyptus sp.*** 2001. Disponível em: www.ufv.br/dbg/bioano01/div17.htm. Acesso em: 23/fev/2005.
- BARROS, N. F. **Relação solo-eucalipto**. Viçosa: Folha de Viçosa, 1990. 330 p.
- BÉLANGER, R.R.; BOWEN, P.A.; EHRET, D.L.; MENZIES, J.G. Soluble silicon – its role in crop and disease management of greenhouse crops. **Plant Disease**, S^t. Paul, v.79, n.4, 1995.
- BÉLANGER, R.R.; MENZIES, J.G. How does silicon protect plants against disease? Dogma versus new hypothesis. In: 42 CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, **Anais...**, Uberlândia, CDROOM. 2002.
- BOWEN, P.; MENZIES, J.; EHRET, D; SAMUELS, L.; GLASS, A. D. M. Soluble Silicon Sprays Inhibit Powdery Mildew Development on Grape Leaves. **Journal of the American Society Horticultural Science**, Alexandria, v. 117, n. 6, p.906-912. 1992.
- BRAGA, A. M. C. **Eficiência de fontes e doses de fertilizantes contendo silício na adubação do arroz inundado e do sorgo**. 2004. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- CARVALHO, R.; CURI, N.; NETO, A. E. F.; RESENDE, A. V. Absorção e Translocação de silício em mudas de eucalipto cultivadas em latossolo e cambissolo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.3, p.491-500, 2003.
- DATNOFF, L. E.; DEREN, C. W.; SNYDER, G. H. Silicon fertilization for disease management of rice in Florida. **Crop Protection**, Guiland, v. 16, 1997. p. 525-531.

EPSTEIN, E. Silicon in plants: Facts vs. concepts. In: DATNOFF, L. E.; SNYDER G. H.; KORNDÖRFER, G. H. (ed.). **Silicon in Agriculture**. New York: Elsevier Science, 2001. p.1-15.

FAO. **Global forest resources assessment 2000** – Main report. FAO Forestry paper. ISSN 0258-6150, 2000. 479p. Disponível em: www.fao.org/forestry/fo/fra/main/indez.jsp. Acesso em: 23/fev/2005.

FAWE, A., MENZIES, J. G., CHÉRIF, M. ; BÉLANGER, R. R. Silicon and disease resistance in dicotyledons. In: DATNOFF, L. E.; SNYDER G. H.; KORNDÖRFER, G. H. (ed.). **Silicon in Agriculture**. New York: Elsevier Science, 2001. p. 159-169.

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

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45. 2000, São Paulo. **Anais...**, São Paulo: UFSCar, 2000. p. 255-258.

FOY, C. D. Soil chemical factors limiting plant root growth. **Advances in Soil Science**, Boca Raton, v.19,p.97-149,1992.

ILER, R. K. **The Chemistry of silica**. New York: Wiley Interscience. 1979. 896 p.

JONES, L. H. P.; HANDRECK, K. A. Silica in soils, plants, and animals. **Advances in Agronomy**, San Diego, v.19, p. 107-149. 1967.

MA, J.F.; TAKAHASHI, E. **Soil, fertilizer, and plant silicon research in Japan**. Amsterdam: Elsevier. 2002. 296 p.

MA, J.F.; MIYAKE, Y.; TAKAHASHI, E. Silicon as a beneficial element for crop plants. In: DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H.; KORNDORFER, G.H. (ed.). **Silicon Agriculture**. Amsterdam: Elsevier Science. 2001. p.17-39.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. 2^a ed. Londres: Academic Press, 1995. 889 p.

MCKEAGUE, J. A.; CLINE, M. G. Silica in soils. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 15, n.1, p. 339-397, 1963.

MENZIES, J.; BOWEN, P.; EHRET, D.; GLASS, A. D. M. Foliar applications of potassium silicate reduce severity of powdery mildew on cucumber, muskmelon, and zucchini squash. **Journal of the American Society Horticultural Science**, Sheffield, v.117, n. 6, p. 902-905. 1992.

MORA, A.L.; GARCIA, C.H. **A cultura do eucalipto no Brasil**. São Paulo: SBS, 2000. 112 p.

RAIJ, B. V. **Fertilidade do Solo e Adubação**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda. Associação Brasileira Para a Pesquisa da Potassa e do Fosfato. Piracicaba, 1991. 343 p.

SILVEIRA, R. L. V. A.; HIGASHI, E. N. Aspectos nutricionais envolvidos na ocorrência de doenças com ênfase para o eucalipto. **Circular Técnica IPEF**, n. 200, p. 01-13, dezembro-2003.

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

TISDALE, S. L.; NELSON, W. L.; BEATON, D. J. **Soil fertility and fertilizers**. 4. ed. New York : MacMillan, 1985. 754 p.

YOSHIDA, S. Chemical aspects of the role of silicon in physiology of the rice plant. **Bulletin of the National Institute of Agricultural Sciences**, Tóquio, v.B15, p.1-58, 1965.

YOSHIDA, S., OHNISHI, Y.; KITAGISHI, K. Chemical forms, mobility, and deposition of silicon in the rice plant. **Japan Journal Soil Science and Plant Nutrition**, Tóquio, v. 8, p.107-111, 1962.