UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes

Tese

Recobrimento de sementes com silício e seu efeito no desenvolvimento da antracnose e murcha de Fusarium na cultura do feijão

Patricia Migliorini

Pelotas, 2018

PATRICIA MIGLIORINI

Recobrimento de sementes com silício e seu efeito no desenvolvimento da antracnose e murcha de Fusarium na cultura do feijão

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências.

Orientadora: Profª. Drª. Lilian Vanussa Madruga de Tunes

Coorientadores: Prof. Leandro José Dallagnol

Dr. Géri Eduardo Meneghello

Pelotas, 2018

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

M634r Migliorini, Patricia

Recobrimento de sementes com silício e seu efeito no desenvolvimento da antracnose e murcha de Fusarium na cultura do feijão / Patricia Migliorini ; Lilian Vanussa Madruga de Tunes, orientadora ; Leandro José Dallagnol, Géri Eduardo Meneghello, coorientadores. — Pelotas, 2018.

125 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Colletotrichum lindemuthianum. 2. Fusarium oxysporum f. sp. phaseolus. 3. Phaseolus vulgaris. 4. Silicato. 5. Vigor. I. Tunes, Lilian Vanussa Madruga de, orient. II. Dallagnol, Leandro José, coorient. III. Meneghello, Géri Eduardo, coorient. IV. Título.

CDD : 635.652

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

Patricia Migliorini

Recobrimento de sementes com silício e seu efeito no desenvolvimento da antracnose e murcha de Fusarium na cultura do feijão

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutora em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Sementes, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 19 março de 2018.

Banca examinadora:

_____
Profª. Drª. Lilian Vanussa Madruga de Tunes
Doutora em Agronomia, UFSM

_____
Profª. Drª. Cândida R. Jacobsen de Farias
Doutora em Fitossanidade, FAEM-UFPel

_____
Profª. Drª. Gizele Ingrid Gadotti
Doutora em Ciências e Tecnologia de Sementes, FAEM-UFPel

_____
Drª. Andreia Da Silva Almeida
Doutora em Ciências e Tecnologia de Sementes, FAEM-UFPel

_____
Drª. Elisa Lemes
Doutora em Ciências e Tecnologia de Sementes, FAEM-UFPel.

Dedico, aos meus pais

Virgilio e Geci Rosa Migliorini

Ao meu irmão Francisco e a minha pequena sobrinha Helena

Agradecimentos

Primeiramente à Deus pela minha vida, por guiar o meu caminho, sendo sustento para a minha fé, dando-me esperança, sabedoria, entendimento e paciência.

À minha Mãe Maria, por estar comigo em todos os momentos, me pegando no colo e dando forças para seguir em frente.

À Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, em especial, ao Programa de Pós-Graduação Ciência e Tecnologia de Sementes.

Ao CNPq, pela bolsa de estudos.

À Drª. Lilian Vanussa Madruga de Tunes, pela orientação, pelos ensinamentos, apoio e confiança depositada durante o doutorado. O meu carinho e admiração por ser essa pessoa com um coração gigante, sempre pronta a ajudar.

Ao Dr. Géri Eduardo Meneghello, pela orientação no trabalho, na vida pessoal e profissional. Em especial Dr. Leandro José Dallagnol pela ajuda, atenção e disponibilidade em contribuir na execução deste projeto.

À todos os professores do Programa de Pós-Graduação Ciência e Tecnologia de Sementes, Francisco Amaral Villela, Dejalma Zimmer, Luís Eduardo Panozzo, Tiago Zanatta Aumonde, Gizele Ingrid Gadotti e Luis Osmar Braga Schuch.

Aos funcionários, Ireni, Carla, Rosângela, Serginho, Rosaria e Adão (UFPel, Embrapa e UFRGS), pela disponibilidade e ensinamentos, os quais sempre foram prestativos.

Ao Dr. Irajá Ferreira Antunes, pelo fornecimento das sementes.

À minha família de Pelotas, Jayana Nicaretta da Silva, Michele e Ariele Nadal, em particular as minhas irmãs de coração Tuane Araldi e Fernanda Caratti.

Em especial a todos que passaram por esses quatro anos e foram importantes nessa trajetória, Manuela Monteiro, Felipe Koch, Letícia Medeiros, Andrés Monges, Andrea Martins, Bruna Barreto, Johana Gonzales, Anna Suñé, Daniele Brandstetter, Otávio Oliveira, Ewerton Gewehr, Mártin Zanchett, Gustavo Zimmer, Luis Henrique Konzen, Henrique Lopes Chagas, Cassyo Rufino, Jucilayne Vieira, Daniel Fonseca, Vanessa Soares, Andreia Almeida, Camila Nunes, Guilherme Agosta, Rodrigo Rodrigues, Gustavo Rodrigues, Diego Medeiros, Jonas Gularte, Gabriele De Paula, Douglas Braga, Anita Nunes, Gabriel Duarte, Felipe

Mattos, Ilenice Hartwig, Igor Gustavo de Oliveira, Carem Saraiva, Dieli Witte Maass, Larissa Milanesi, Victor Lorea Valente, Sandro de Oliveira, Elisa Lemes, Cristiane Deuner, César Suárez Castellanos, Carolina Terra Borges, Àdamo Araújo, Marciabela Fernandes Correa, André Mendonça, Vania Gehling, Aline Radke, André Brunes, Leticia Winke Dias, Diego Fraga, Paulo Eberhardt, Bruna Vinicius Bezerra, Bruno Moncks, Samantha Segalin, Lucian Alex dos Santos, Carolina Cipriano, Ítala Dubal, Caio Sippel Dörr, Márcio Gonçalves da Silva, Rafael Vergara, Tainan Almeida, André Capilheira, Ricardo Miotto, Lanes Acosta Jaques, Gustavo Demari, Vinícius Szareski, Cristian Troyiack, Jerffeson Araújo, Nander Hornke, Naiane Reys, Keilor Dorneles, Paulo Cesar Pazdiora, Juan Felipe Rivera, Priscila Meneses, Viviana Gaviria, Vanessa Gonçalves, Johan Bermudez, Maurício Sangiogo, Carla Tunes, Fernanda Xavier, Thaís D'Avila, Micheli Meneguzzo, Simone Dellagostin e a Raimunda Silva.

Aos meus colegas e amigos da UFSM presente na UFPel, Kassia Kocco, Cristiano Bellé, Maicon Nardino, Queli Ruchel, Cléber Baronio e a Aline Ritter Curti.

À Taiane Viana.

À família Migliorini e Rosina, em especial a minha querida tia Lourdes.

Ao meu namorado Fernando por toda ajuda, atenção, dedicação e carinho.

Ao meu irmão Francisco, cunhada Halanna e sobrinha Helena.

Aos meus pais.

Muito obrigada!!!

Resumo

MIGLIORINI, Patricia. **Recobrimento de sementes com silício e seu efeito no desenvolvimento da antracnose e murcha de Fusarium na cultura do feijão.** 2018. 125f. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.

O presente trabalho teve por objetivo: a) avaliar o efeito de diferentes doses e fontes de Si por meio do recobrimento de sementes sobre a qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes assim como, determinar a concentração de silício e cálcio absorvidos em plântulas de feijão; b) avaliar o desempenho de plântulas inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e recobertas com diferentes fontes de Si, durante a emergência e na expressão dos mecanismos bioquímicos, envolvidos nas respostas pós infecção em diferentes momentos e; c) avaliar o efeito do recobrimento de sementes com Si em resposta à infecção em uma cultivar suscetível e resistente ao *Colletotrichum lindemuthianum*, sobre o potencial fisiológico e sanitário de sementes e plântulas, durante o desenvolvimento inicial da cultura do feijão. Testou-se diferentes doses (0; 45; 90; 135 e 180g Si 100 kg^{-1} de sementes) e fontes de Si [Agrosilício®, silicato de cálcio e casca de arroz carbonizada (CAC)] via recobrimento de sementes, inoculados ou não pelo método de restrição hídrica. O recobrimento das sementes composto por Agrosilício®, CAC e silicato de cálcio não altera a qualidade física das sementes e proporciona plântulas vigorosas, sem comprometer a emergência final. Sementes recobertas com doses de silicato de cálcio e CAC elevam a concentração de Si nas raízes, mas reduzem a concentração de cálcio (Ca), enquanto que o Agrosilício® aumenta a concentração de Si em folhas e do Ca nas raízes. Diferentes fontes e doses de Si não controlam patógenos associados às sementes de feijão. A associação do *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* nas sementes prejudica a emergência e crescimento das plântulas. O Si tem pouco efeito nas respostas em plântulas não inoculadas, mas eleva a concentração de lignina. Na presença do *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, o Si desencadeia melhor desempenho inicial das plântulas, favorece e potencializa os mecanismos de defesa. A fonte de Si fornecido pelo Agrosilício® proporciona uma antecipação rápida inicial da peroxidase o que pode ter amenizado e atrasado os danos do patógeno nas plântulas. A CAC como fonte de Si, embora tenha contribuído para a potencialização das enzimas de defesa nos períodos mais avançados da infecção, não se mostrou eficiente no controle da incidência da doença. O recobrimento das sementes com Si diminui a incidência e a severidade de *C. lindemuthianum* e proporciona maior crescimento das plântulas de feijão. O efeito de respostas potencializadas pelo Si tem maior expressividade na cultivar de maior suscetibilidade.

Palavras-chave: *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli, Phaseolus vulgaris*, silicato, vigor.

Abstract

MIGLIORINI, Patricia. **Coating of seeds with silicon and its effect on the development of anthracnose and wilt of Fusarium on bean culture.** 2018. 125f. Thesis (Doctorate in Science) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Sementes. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS, Brasil.

The a im of this study was: a) to evaluate the effect of different doses and sources of Si through the coating of seeds on the physical quality, physiological and sanitary conditions of seeds as, to determine the concentration of silicon and calcium absorbed in bean seedlings; b) to evaluate the performance of seedlings inoculated with *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* and covered with different sources of Si, during emergence and in the expression of biochemical mechanisms, involved in post-infection responses at different times and; c) to evaluate the effect of seed coating with Si in response to infection in a susceptible and resistant *Colletotrichum lindemuthianum*, on the physiological and sanitary potential of seeds and seedlings, during the initial development of the bean culture. Different doses were tested (0; 45; 90; 135 and 180g Si 100 kg^{-1} of seeds) and sources of Si [Agrosilício®, calcium silicate and rice husk ash (AHC)] by seed coating, whether or not inoculated by the water restriction method. The covering of seeds composed of Agrosilício®, AHC and calcium silicate, does not change the physical quality of the seed, provides vigorous seedlings, without compromising the end emergency. Seeds coated with doses of calcium silicate and AHC, increase the concentration of Si in roots, but reduce the concentration of calcium (Ca), while the Agrosilício® increases the concentration of Si in leaves and Ca in the roots. Different sources and doses of Si do not control pathogens associated with bean seeds. The association of *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* in seeds impairs seedling emergence and growth. Si has little effect on responses in uninoculated seedlings, but raises lignin concentration. In the presence of *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, Si triggered better initial seedling performance, favored and enhanced the defense mechanisms. The Si source supplied by Agrosilício® provides early rapid anticipation of peroxidase, which may have ameliorated and delayed the damage of the pathogen in the seedlings. The AHC as a source of Si, although it has contributed to the potentiation of defense enzymes in the later stages of infection was not efficient in controlling the incidence of the disease. The seed coating with Si decreases the incidence and severity of *C. lindemuthianum* and provides greater growth of the bean seedlings. The effect of responses potentiated by Si has greater expressiveness in the cultivar of greater susceptibility.

Key-words: *Colletotrichum lindemuthianum*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli, Phaseolus vulgaris*, silicate, force.

Lista de Figuras

Figura 1. Concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFSTs), em hipocótilo de plântulas de feijão, nos diferentes tempos após inoculação (A) e em sementes inoculadas ou não inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (B). Barras representam o desvio padrão da média. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p≤0,05).....62

Figura 2. Concentração de derivados lignina-ácido tioglicólico (DLATG), em hipocótilos de plântulas de feijão, oriundas de sementes recobertas com fontes de Si e avaliadas em diferentes tempos após inoculação (A) inoculadas e não inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (B). Barras representam o desvio padrão da média. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p≤0,05) (A). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre as fontes e minúscula na fonte não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05) (B). 62

Figura 3. Concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFSTs) (A, B e C) e derivados lignina-ácido tioglicólico (DLATG) (D, E e F), em folhas de plântulas de feijão, onde as sementes foram recobertas com Agrosilício® (A e D), casca de arroz carbonizada (CAC) (B e E) e sem o recobrimento (controle (-Si)) (C e F), e inoculadas ou não inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Barras representam o desvio padrão da média. Médias de sementes inoculadas, seguidas por um asterisco (*) são diferentes (p≤0,05) pelo teste t das não inoculadas, no mesmo tempo e tratamento. Letras minúsculas representam diferenças significativa (p≤0,05) pelo teste de Tukey quando comparado sementes não inoculadas recobertas com diferentes fontes de silício (Si).....64

Figura 4. Atividade das enzimas superóxido dismutases (SOD) (A; B e C), catalases (CAT) (D, E e F), peroxidases (POX) (G, H e I) e lipoxigenases (LOX) (J, L e M), em hipocótilo de plântulas de feijão, onde as sementes foram recobertas com Agrosilício® (A, D, G e J), casca de arroz carbonizada (CAC) (B, E, H e L) e sem o recobrimento (controle (-Si)) (C, F, I e M), e inoculadas ou não inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Barras representam o desvio padrão da média. Médias de sementes inoculadas, seguidas por um asterisco (*) são diferentes (p≤0,05) pelo teste t das não inoculadas, no mesmo tempo e tratamento. Letras minúsculas representam diferenças significativa (p≤0,05) pelo teste de Tukey quando comparado sementes não inoculadas recobertas com diferentes fontes de silício (Si). Letras maiúsculas representam diferenças significativas (p≤0,05) pelo teste de Tukey entre sementes inoculadas recobertas com fontes de Si. 65

Figura 5. Atividade da enzima quitinase (QUI) (A, B e C) em hipocótilo de plântulas de feijão, onde as sementes foram recobertas com Agrosilício® (A), casca

de arroz carbonizada (CAC) (B) e sem o recobrimento (controle (-Si)) (C), e inoculadas ou não inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Barras representam o desvio padrão da média. Médias de sementes inoculadas, seguidas por um asterisco (*) diferem significativamente (p≤0,05) pelo teste t das não inoculadas, no mesmo tempo e tratamento. Letras maiúsculas representam diferenças significativas (p≤0,05) pelo teste de Tukey entre sementes inoculadas e recobertas com fontes de Si. 67

Figura 6. Atividade das enzimas superóxido dismutases (SOD) (A; B e C), peroxidases (POX) (D, E e F) e quitinases (QUI) (G, H e I), em folhas de plântulas de feijão, onde as sementes foram recobertas com Agrosilício® (A, D e G), casca de arroz carbonizada (CAC) (B, E e H) e sem o recobrimento (controle(-Si)) (C, F e I), e inoculadas ou não inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Barras representam o desvio padrão da média. Médias de sementes inoculadas, seguidas por um asterisco (*) são diferentes (p≤0,05) pelo teste t das não inoculadas, no mesmo tempo e tratamento. Letras minúsculas representam diferenças significativas (p≤0,05) pelo teste de Tukey quando comparado sementes não inoculadas recobertas com diferentes fontes de Si. Letras maiúsculas representam diferenças significativas (p≤0,05) pelo teste de Tukey entre sementes inoculadas recobertas com fontes de Si. 68

Figura 7. Atividades das enzimas catalases (CAT) (A e B) e lipoxigenases (LOX) (C e D) em folhas de plântulas de feijão, onde as sementes foram recobertas com Agrosilício®, casca de arroz carbonizada (CAC) e sem o recobrimento (controle (-Si)), e inoculadas ou não inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Barras representam o desvio padrão da média. Médias seguidas pela mesma letra dentro de cada tempo, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p≤0,05) (A, C e D). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre as fontes de Si e minúscula na fonte de Si não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05) (B). ns: não significativo.....70

Lista de Tabelas

Tabela 1. Composição e densidade das fontes de Si utilizadas.....21

Tabela 2. Regressão das doses de silício, para as variáveis de qualidade física e fisiológica de sementes e concentração de silício e cálcio em raiz, hipocótilo e folha de plântulas de feijão provenientes de sementes recobertas com Agrosilício® (silicato de cálcio e magnésio). 27

Tabela 3. Incidência de patógenos em sementes de feijão recobertas com Agrosilício® (silicato de cálcio e magnésio). 29

Tabela 4. Incidência de patógenos em sementes de feijão recobertas com Agrosilício® (silicato de cálcio e magnésio). 29

Tabela 5. Regressão das doses de silício, para as variáveis de qualidade física e fisiológica de sementes e concentração de silício e cálcio em raiz, hipocótilo e folha de plântulas de feijão provenientes de sementes recobertas com silicato de cálcio (Sigma Aldrich®). 31

Tabela 6. Incidência de patógenos em sementes de feijão recobertas com silicato de cálcio (Sigma Aldrich®). 32

Tabela 7. Regressão das doses de silício, para as variáveis de qualidade física e fisiológica de sementes e concentração de silício e cálcio em raiz, hipocótilo e folha de plântulas de feijão provenientes de sementes recobertas com cinza de casca de arroz carbonizada. 34

Tabela 8. Incidência de patógenos em sementes de feijão recobertas com cinza de casca de arroz carbonizada. 35

Tabela 9. Incidência de patógenos em sementes de feijão recobertas com cinza de casca de arroz carbonizada. 36

Tabela 10. Índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E), sementes mortas (SM), massa seca de folha (MSF) e massa seca de raiz (MSR), provenientes de sementes inoculadas ou não com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* independentemente da fonte de Si. 57

Tabela 11. Porcentagem de plântulas anormais infectadas (PAI), comprimento de parte aérea (CPA), massa seca de hipocótilo (MSH) e massa seca de parte aérea (MSPA) de sementes de feijão recobertas com fontes de Si, mediante a inoculação ou não com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. .57

Tabela 12. Concentração de silício (Si) em raízes de plântulas de feijão, provenientes de sementes inoculadas ou não com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e recobertas com diferentes fontes de silício. 58

Tabela 13. Concentração de silício (Si) em hipocótilo e folha de plântulas de feijão, provenientes de sementes inoculadas ou não com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e recobertas com diferentes fontes de silício. 59

Tabela 14. Indução de faseolina em hipocótilos de feijão, provenientes de sementes inoculadas ou não com *Fusarium* oxysporum f. sp. *phaseoli.* 59

Tabela 15. Incidência de dano da doença no hipocótilo de feijão, provenientes de sementes inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, avaliadas em diferentes tempos (hai) e recobertas com diferentes fontes de silício..60

Tabela 16. Incidência de dano da doença em folhas de feijão, provenientes de sementes inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, avaliadas em diferentes tempos (hai) e recobertas com diferentes fontes de silício..60

Tabela 17. Coeficiente de correlação de Spearman (r), entre os resultados de concentração de silício em raiz (SiR), hipocótilo (SiH) e folha (SiF); incidência e severidade da doença em hipocótilo (IH e SH) e folha (IF e SF) respectivamente, provenientes de sementes inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e recobertas com diferentes fontes de silício....61

Tabela 18. Porcentagem de plântulas normais do teste de primeira contagem de germinação, de sementes de feijão de duas cultivares, que foram inoculadas (I) ou não inoculadas (NI) com *Colletotrichum lindemuthianum*. 90

Tabela 19. Porcentagem de germinação em função das cultivares de feijão inoculadas (I) ou não (NI) com *Colletotrichum lindemuthianum.* 90

Tabela 20. Médias da emergência de plântulas e massa seca de raiz (MSR) em função das cultivares de feijão. 90

Tabela 21. Germinação e emergência de plântulas, em função do recobrimento (+Si) ou não (-Si) das sementes com Si e da inoculação (I) ou não (NI) com *Colletotrichum lindemuthianum*. 91

Tabela 22. Massa seca de raiz (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA) de plântulas oriundas de sementes recobertas (+Si) ou não com Si (-Si).....91

Tabela 23. Comprimento total de plântula (CTP), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca de plântulas aos 15 DAS e índice de velocidade de emergência (IVE), em função do recobrimento das sementes com Si (+Si) ou não (-Si) e da inoculação (i) ou não (NI) com *Colletotrichum lindemuthianum* em duas cultivares de feijão.....92

Tabela 24. Incidência de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijão (IC), em função do recobrimento das sementes com Si (+Si) ou não (-Si) e de cultivares..93

Tabela 25. Incidência de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijão (IC), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e indução de faseolina em hipocótilos, em função de cultivares e da inoculação (I) ou não (NI) de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijão. 93

Tabela 26. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de sementes recobertas (+Si) ou não com Si (-Si). 94

Tabela 27. Indução de faseolina em hipocótilos de feijão em função do recobrimento das sementes com Si (+Si) ou não (-Si) e da inoculação (i) ou não (NI) com *Colletotrichum lindemuthianum*. 94

Tabela 28. Índice de doença (ID), incidência de danos da doença em folhas (IF), incidência de danos da doença no hipocótilo (IH) causado pela inoculação (I) ou não (NI) do *Colletotrichum lindemuthianum* em função do recobrimento das sementes com Si (+Si) ou não (-Si) em duas cultivares de feijão.....95

Tabela 29. Concentração de silício (Si) em parte aérea de plântulas, em função de cultivares e da inoculação (I) ou não (NI) com *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijão. 96

Tabela 30. Concentração de cálcio (Ca) em parte aérea de plântulas, em função do recobrimento das sementes com Si (+Si) ou não (-Si) e da inoculação (I) ou não (NI) com *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijão. 96

Sumário

1. INTRODUÇÃO GERAL....8
2 CAPÍTULO I – Recobrimento de sementes de feijão com silício e o desenvolvimento de plântulas....17
2.1 Introdução....17
2.2 Material e Métodos....19
2.3 Resultados....26
2.3.1 Uso do Agrosilício® (silicato de cálcio e magnésio) como fonte de Si....26
2.3.2 Uso do silicato de cálcio (Sigma Aldrich®) como fonte de Si....29
2.3.3 Uso da cinza de casca de arroz como fonte de Si....32
2.4 Discussão....36
2.5 Conclusões....44
3 CAPÍTULO II - Mecanismos de defesa em plântulas de feijão desencadeados pelo silício contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*....45
3.1 Introdução....45
3.2 Material e Métodos....48
3.2.1 Sementes utilizadas....48
3.2.2 Inoculação em sementes de feijão *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* .48
3.2.3 Aplicação das fontes de silício....49
3.2.4 Semeadura....49
3.2.5 Delineamento experimental....50
3.2.6 Experimento 1 - Efeito da inoculação com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e do recobrimento de sementes com silício sobre o desempenho inicial de plântulas de feijão....50
3.2.7 Experimento 2- Incidência e severidade da doença e análises bioquímicas em plântulas de feijão....52
3.2.8 Análise estatística....56
3.3 Resultados....56
3.3.1 Efeito da inoculação com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e do recobrimento de sementes com silício sobre o desempenho inicial de plântulas de feijão....56
3.3.2 Incidência e severidade da doença e análises bioquímicas em plântulas de feijão....59

3.3.2.1 Incidência e severidade da doença em plântulas.....59
3.3.2.2 Concentração de CFSTs e derivados de LATG 61
3.3.2.2.1 Hipocótilo.....61
3.3.2.2.2 Folha.....63
3.3.2.3 Atividade das enzimas SOD, CAT, POX, LOX e QUI.....64
3.3.2.3.1 Hipocótilo.....64
3.3.2.3.2 Folha.....67
3.4 Discussão 70
3.5 Conclusões.....81
4 CAPÍTULO III – Silício altera desenvolvimento inicial de plântulas de feijão oriundas de sementes infectadas por *Colletotrichum lindemuthianum* 82
4.1 Introdução.....82
4.2 Material e Métodos 84
4.2.1 Sementes utilizadas 84
4.2.2 Inoculação em sementes de feijão 84
4.2.3 Aplicação de silício 85
4.2.4 Delineamento experimental.....85
4.2.5 Desempenho inicial de plântulas de feijão 85
4.2.6 Avaliação da incidência e severidade de *C. lindemuthianum* em feijão....87
4.2.6.1 Quantificação da faseolina.....88
4.2.7 Determinação da concentração de silício e cálcio em parte aérea da plântula.....89
4.2.8 Análise estatística.....89
4.3 Resultados.....89
4.3.1 Desempenho inicial de plântulas de feijão 89
4.3.2 Incidência e severidade da antracnose.....93
4.3.3 Concentração de silício e cálcio em parte aérea.....95
4.4 Discussão 96
4.5 Conclusões.....100
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....101
6 REFERÊNCIAS.....102
APÊNDICES 120
ANEXOS 123

1. INTRODUÇÃO GERAL

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma importante cultura agrícola, que se sobressai pela importância nutricional, social e econômica. Cultivado em várias regiões brasileiras, em diferentes sistemas de produção é considerado alimento básico na dieta humana sendo fonte de proteínas, carboidratos, fibras, vitaminas e minerais (LOVATO et al., 2018).

O Brasil destaca-se como um dos grandes produtores e consumidores mundiais de feijão (LOVATO et al., 2018). Produzindo em torno de 3.307,3 mil toneladas de grãos na safra 2017/18, sendo 64,2% da produção o feijão de cores, seguido pelo feijão caupi com 20% e por último o feijão preto com 16%. Na região Sul, destaca-se pela maior produção do feijão preto, chegando em torno de 94% da produção brasileira (CONAB, 2018).

Essa cultura apresenta a mais baixa taxa de utilização de sementes, cerca de 19%, o que pode ser explicado pelo fato da grande maioria dos produtores serem de pequeno porte, além da grande diversidade de tipos de feijão cultivados em cada região. Desta forma os outros 81% utilizados para a implantação das lavouras, não são provenientes da aquisição de sementes certificadas, o que compromete toda a cadeia produtiva, uma vez que estas sementes não seguem os padrões estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, para a sua produção e comercialização (MAPA, 2013; ABRASEM, 2018). Com isso, a qualidade das sementes não é assegurada, devido a procedência duvidosa, a qual pode acarretar em baixa germinação e vigor, assim como alto índice de contaminação por patógenos, que consequentemente vão afetar a emergência das plântulas, resultando em perdas na produção da cultura (MARINO et al., 2008; SUZANA et al., 2017).

Práticas de manejo adequadas com fornecimento de nutrientes minerais, através da técnica de recobrimento das sementes, aliadas à qualidade física, fisiológica, genética e sanitária, podem proporcionar plântulas vigorosas, com bom estabelecimento destas, através de estandes adequados e uniformes. Essas podem

se sobressair em condições adversas de estresse bióticos e abióticos, sendo primordiais para se obter bons níveis de produtividade (CORLETT et al., 2014; MONDO et al., 2016; RUFINO et al., 2017). Para isso, se torna necessário a avaliação do potencial fisiológico após o tratamento das sementes, pois esses permitem estimar a capacidade das sementes manifestarem adequadamente suas funções vitais após a semeadura, garantindo que essa etapa da produção seja segura a fim de proporcionar adequado desenvolvimento das plântulas no campo (TUNES et al., 2014).

O recobrimento das sementes com nutrientes agrega valor às mesmas, o qual permite uma uniformidade de distribuição devido às pequenas doses, e fazendo com que o elemento fique em contato direto com a emissão das primeiras raízes, suprindo assim, as necessidades iniciais durante o seu desenvolvimento (TUNES et al., 2012). Esse processo, consiste em utilizar um material de deposição seco inerte, de granulometria fina e um material adesivo na superfície, a fim de garantir uma ótima cobertura e adesão dos materiais (PEDRINI et al., 2017). No entanto, um dos principais problemas do recobrimento, é que pode ocorrer a formação de uma barreira física o qual dificulta a emissão das raízes primárias, restringindo as trocas gasosas entre a semente e o ambiente externo ao recobrimento, retardando a fase inicial da germinação, devido à insuficiência de oxigênio (OLIVEIRA et al., 2003; MENDONÇA et al., 2007; SANTOS et al., 2010). Esse atraso se deve ao arranjo das partículas finas e da ocupação dos poros pelo material utilizado fornecido durante o processo de recobrimento. No entanto, alguns autores relatam que assim que a plântulas vencem essa barreira física imposta, a germinação e a emergência passam a não sofrer mais com qualquer efeito do revestimento, resultando em taxas finais semelhantes às sementes não recobertas (LIMA et al., 2006; PEREIRA et al., 2011).

Entre os nutrientes utilizados no revestimento de sementes, o silício (Si) tem mostrado resultados positivos durante o desenvolvimento das culturas, por meio de plântulas vigorosas, sem afetar negativamente a capacidade germinativa (CORLETT et al., 2014; TUNES et al., 2014; XAVIER et al., 2015; OLIVEIRA et al. 2016; RUFINO et al., 2017). O bom funcionamento das membranas celulares, assim como as atividades enzimáticas, podem ser influenciados pelos nutrientes durante a germinação, pois esses interferem na síntese e degradação de compostos durante a

mobilização das reservas, expansão, divisão e crescimento celular (NONOGAKI et al., 2010).

O silício (Si) é um elemento não essencial, pois sua falta não é um fator limitante para o desenvolvimento das culturas (DEBONA et al., 2017). No entanto, é considerado potencialmente benéfico ou útil para as culturas, fornece nutrientes e colabora na defesa das plantas contra estresses bióticos (doenças e insetos) e abióticos (deficiência por água, estresse salino, toxidez por metais pesados, alta radiação, alta ou baixa temperatura e desiquilíbrio de nutrientes), quando encontra-se em tais condições, indiretamente o elemento estimula o crescimento e a produção vegetal, aumentando o teor de clorofila nos tecidos foliares, a taxa fotossintética, alterando a arquitetura das plantas e aumentando a rigidez estrutural dos tecidos (MARSCHNER, 1995; LOCARNO et al., 2011; GUERRA et al., 2014; BARBOSA et al., 2015; DEBONA et al., 2017).

Esse elemento é o segundo mais abundante na crosta terrestre, ficando atrás apenas do oxigênio, sendo difícil, em função disso, encontrar um ambiente livre de Si, o que torna complicado demonstrar a essencialidade desse micronutriente (EPSTEIN, 1999, 2009). São encontrados na forma de dióxido de silício (SiO_2) e de silicatos na natureza (EPSTEIN, 2009), e com a intensificação da agricultura moderna, com cultivos sucessivos, ocorre a diminuição do elemento solúvel no solo, necessitando de reposição no sistema (DATNOFF et al., 1997). Entre os materiais que fornecem Si e que podem ser utilizados como fertilizantes (LIANG et al., 2015), estão os subprodutos da siderurgia (silicatos), resíduos agroindustriais e os que são encontrados naturalmente em rochas. Entretanto, a sua função e utilização não depende somente do conteúdo total de Si, mas da sua reatividade e solubilidade, além dessa deve ser um material acessível economicamente e ter boa disponibilidade no mercado (HAYNES, 2017).

As fontes de Si mais utilizadas como fertilizantes, são originárias das escórias siderúrgicas (fontes solúveis), processadas em alta temperatura da reação do calcário com a sílica (SiO_2), presente no minério de ferro ou do aço (LIANG et al., 2015; HAYNES, 2017).

Entre essas fontes, o Agrosilício® se destaca pelas inúmeras respostas benéficas às culturas (DEUS; BÜLL, 2013), apresenta na sua composição, além do Si, cálcio e magnésio, o qual é derivado a partir de escórias de aço inoxidável, apresentando um valor em torno de R$ 5 por kg^{-1} (sem contar o valor do transporte).

Porém, outra fonte de Si interessante proveniente de resíduos agroindustriais e no nosso caso regional, que apresenta elevado teor de sílica (92%) e que vem sendo estudado por diversos autores (FOLETTO et al., 2005; MENDONÇA et al., 2013; TUNES et al., 2014) é a cinza da casca de arroz carbonizada (CAC), a qual é um subproduto da indústria arrozeira, obtido da casca de arroz extraída durante o beneficiamento e carbonizada em fornos especiais em temperatura controlada (CASTELLANOS et al., 2016), em torno de 500ºC, por mais ou menos 15 a 30 minutos.

Trabalhos estão sendo desenvolvidos com um intuito de buscar, a melhor forma de aplicação deste elemento (TUNES et al., 2014; CASTELLANOS et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016; ROMA-ALMEIDA et al., 2016). Os custos dessas fontes, geralmente são economicamente baixos, pois são obtidos de resíduos industriais e regionais (KORNDÖRFER et al., 2004; MENDONÇA et al., 2013; MARODIN et al., 2014). Sendo uma excelente opção, caso forem utilizadas durante o processo de recobrimento das sementes, uma vez que são necessárias pequenas quantidades desses materiais e tornando-se assim uma fonte economicamente viável.

O Si é absorvido pelas raízes das plantas como ácido monossilícico (H_4SiO_4) e acumulado como silíca amorfa ($SiO_2.nH_2O$) (HAYNES, 2017). A translocação das raízes para a parte aérea é distinta entre as espécies de plantas e estágio de crescimento, sendo que a concentração pode variar de 1 a 100g kg^{-1} de Si na matéria seca de parte aérea (TUBANA et al., 2017). As monocotiledôneas tendem acumular mais Si nas folhas e são consideradas plantas acumuladoras de Si, com absorção ativa mediada por transportadores específico localizados na membrana plasmática (MA et al., 2006; 2007) e apresentam mais de 10g kg^{-1} de Si na matéria seca de parte aérea; as plantas intermediárias, apresentam transporte passivo e acumulam entre 5 a 10g kg^{-1} de Si, enquanto que as não acumuladoras, como o feijão, são consideradas exclusoras na absorção do elemento, acumulando menos de 5g kg^{-1} de Si na matéria seca de parte aérea, e tendendo a apresentar maior teor de Si nas raízes (LIANG et al., 2006). Essa capacidade de absorver o elemento pelas raízes, diferencia as espécies de plantas (BROADLEY et al., 2012).

A absorção e transporte do Si no feijão é realizada de forma passiva, por difusão e fluxo de massa, e o acúmulo pode ser regulado pela produção de matéria seca. Uma vez na endoderme, o ácido monossilícico passa de uma solução mais

concentrada para a menos concentrada, cujo transporte a longa distância se dá pelo apoplasto via xilema e simplasto no floema, sendo então regulado pelo fluxo de transpiração, ou também por um processo ativo que é desencadeado por algum estímulo à proteção contra doenças, pragas e outras condições de estresse (RAVEN, 2001). No entanto, durante esse processo pode ocorrer gasto de energia, por proteínas nos canais de entrada de água (RAVEN, 2001). Neste percurso, o Si pode ficar retido pela camada de suberina presente na endoderme (LIANG et al., 2006). Segundo Mitani e Ma (2005), plantas não acumuladoras têm um menor número de transportadores de Si no apoplasto e simplasto, além de uma falha dos transportadores de Si das células corticais para o xilema, o que explica a maior concentração de Si no sistema radicular em vez da parte aérea. No entanto, segundo Katz (2014), os efeitos benéficos do Si nem sempre são proporcionais à sua acumulação e a baixa concentração nos tecidos não significa que tenha uma função limitada.

O Si depositado nas paredes celulares proporciona efeitos defensivos contra danos bióticos e abióticos (DEBONA et al., 2017). No controle de doenças, esse micronutriente atua nos mecanismos de defesa que envolvem desde barreira física à penetração de patógenos pela deposição do Si e polimerização na cutícula e na parede celular (HUANG et al., 2011; GUERRIERO et al., 2016); bem como pela ativação de respostas bioquímicas de defesa da planta por meio da ativação de enzimas de defesa (POLANCO et al., 2014; DORNELES et al., 2017), produção de compostos fenólicos (TATAGIBA et al., 2014), fitoalexinas (HAYNES, 2017) e lignina (POLANCO et al., 2012); e ao nível molecular pela regulação da expressão de genes envolvidos na defesa e resposta ao estresse (GHAREEB et al., 2011; WANG et al., 2017).

A cultura do feijão é suscetível a vários fitopatógenos, responsáveis por danos significativos nas lavouras, entre eles estão os fungos, bactérias, vírus e nematoides (BIANCHINI et al. 2005), os quais podem estar associados às sementes e, por conseguinte demandando medidas de controle, uma vez que não só causam perdas diretas na população de plantas no campo, mas também grandes prejuízos, já que as sementes são um dos meios mais eficientes para sobrevivência, introdução e disseminação de patógenos, causando sérias epidemias nos locais de cultivo (CARVALHO; NAKAGAWA, 2012).

Entre as doenças fúngicas, destaca-se a antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) e a murcha de Fusarium (*Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*), ambas transmitidas por sementes, apresentando um grande poder de destruição das lavouras (BORBA et al., 2017; PADDER et al., 2017; PEREIRA et al., 2018).

A antracnose está amplamente distribuída em todo território brasileiro, mas principalmente nos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, em que são encontradas as condições ambientais favoráveis para a sua ocorrência, como temperaturas mais baixas a moderadas e alta umidade relativa, nas quais o patógeno pode se disseminar intensamente a partir de plântulas jovens infectadas e proporcionar perdas que chegam a 100% das lavouras, além de comprometer a qualidade das sementes (PADDER et al., 2017; PEREIRA et al., 2018).

O *C. lindemuthianum* (fase sexuada: *Glomerella cingulata* f. sp. *phaseoli*), produz micélio septado e ramificado, de coloração hialina a quase negra, à medida que envelhece. Os conídeos são hialinos, unicelulares, podendo ser oblongos, cilíndricos, com pontas arredondadas ou uma delas pontiaguda. Os conídeos medem de 2,5-5,5 x 11-20µm e podem apresentar uma área clara semelhante a um vacúolo central. A massa de esporos formada nos acévulos possui coloração rósea ou salmão. Os conídeóforos são hialinos, eretos, sem ramificações, com comprimento de 40 a 60µm. Os acérvulos são providos de setas que se desenvolvem sobre uma massa estromática. As setas podem, as vezes ser encontradas tanto no hospedeiro como em meio de cultura. Apresentam dimensões de 4-9 x 30-100µm, são marrons e septados (BIANCHINI et al., 2005).

Enquanto o *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* (FOP), é uma das mais graves doenças do sistema vascular da cultura do feijão. Provoca danos às plântulas e plantas, comprometendo o estabelecimento uniforme da cultura nos estágios iniciais e, ao invadir o sistema radicular, se desenvolve em direção ao xilema, causando o escurecimento dos vasos e prejudicando drasticamente o transporte de água para a parte aérea, induzindo os sintomas típicos da doença, como redução de crescimento, amarelecimento das folhas, murcha e morte da plântula ou planta (SILVA et al., 2014; NIÑO-SÁNCHEZ et al., 2015; XUE et al., 2015; GARCÉS-FIALLOS et al., 2017).

O FOP produz macroconídios fusóides, ligeiramente curvos, com mais de dois septos, medindo 3-6 x 25-35µm. Os microconídios são elípticos e os clamidósporos hialinos intercalares ou terminais, medindo 2-4 x 6-15µm. A penetração do fungo

ocorre geralmente próximo a pontas das raízes, mas pode ocorrer também por ferimentos e aberturas naturais (BIANCHINI et al., 2005).

Um conjunto de medidas de controle a fim de reduzir o inóculo pode ser empregado no controle integrado de doenças, tais como a rotação de culturas, uso de cultivares resistentes, uso de sementes sadias, além do tratamento das sementes (LAMICHHANE et al., 2017). Os fungicidas são os mais utilizados no controle de patógenos, no entanto, podem elevar impactos ambientais, causando problemas como o surgimento de indivíduos resistentes a determinados grupos químicos (CRUZ et al., 2014; TRABANCO et al., 2015), e além do mais, a alta variabilidade e virulência dos patógenos podem dificultar o desenvolvimento de novas cultivares resistentes (HENRIQUE et al., 2015; XUE et al., 2015; PEREIRA et al., 2018).

Tendo em vista a preocupação com meio ambiente, devido às aplicações de resíduos de agrotóxicos cada vez maior, aliado ao potencial de dano desses patógenos, uma tecnologia limpa de baixo impacto ambiental, torna-se interessante na busca de novas estratégias, como a utilização do Si, que pode complementar a redução do dano e o aumento da resistência da cultura do feijão, principalmente durante o estabelecimento inicial das plântulas.

Várias são as formas de aplicação do Si, que proporcionam respostas tanto no controle doenças, como no crescimento das culturas; entre elas está a aplicação foliar, via solo, soluções nutritivas e por meio do recobrimento de sementes (TUNES et al., 2014; DALLAGNOL et al., 2015; RUFINO et al., 2017). No entanto, são encontrados os melhores resultados quando o elemento é absorvido pelo sistema radicular, pois o Si se encontra na forma solúvel dentro da planta (DALLAGNOL et al. 2015), uma vez que, aproximadamente 99% do Si encontra-se depositado na forma de silíca e menos de 1% encontra-se na forma coloidal ou iônica (forma solúvel) (OLIVEIRA, 2009).

As plantas quando estão em condições de estresse tanto biótica como abiótica, favorecem a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e os radicais de ânions superóxido (O_2^-) e hidroxila (OH^-) (BARBOSA et al., 2014). Em condições normais, a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e as defesas antioxidantes das células vegetais ficam em equilíbrio dinâmico. No entanto, quando as plantas são expostas a condições de estresse, ocorre o excesso de produção de ROS o qual induz ao dano oxidativo. Para minimizar o impacto negativo provocado pela ROS, as plantas desenvolveram

mecanismos de defesa, como as enzimas oxirredutoras ligadas ao estresse oxidativo, como a superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POX) e a catalase (CAT), os quais protegem a integridade da membrana. A enzima SOD converte O_2^- para o H_2O_2 e oxigênio, que também é tóxico para as células, devendo ser eliminado pelas enzimas CAT e/ou POX, formando água e oxigênio (DUBEY, 2011). A POX então, utiliza o H_2O_2 para o processo de lignificação e reforço da parede celular (HIRAGA et al., 2001). O Si pode auxiliar na eficiência dessa resposta de defesa da planta contra o ataque do patógeno (FORTUNATO et al., 2012; DALLAGNOL et al., 2015; WHAN et al., 2016).

Nesse sentido, aumentos da resistência do feijão a antracnose foram observados quando as plantas foram supridas com Si, que foi associada à regulação positiva das enzimas antioxidantes, como no aumento a SOD, ascorbato peroxidase, glutationa redutase, lipoxigenases, fenilalanina amônia liases e na concentração de metabólitos como a lignina (POLANCO et al., 2012; POLANCO et al., 2014). Em mudas de bananeira, Fortunato et al. (2012), observaram que os sintomas de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, diminuíram nas raízes supridas com Si, devido ao aumento dos compostos fenólicos solúveis totais, derivados de lignina-ácido tioglicólico, além das maiores atividades da fenilalanina amônia liases, POX, polifenoloxidases, *b*,1-3 glucanase e a quitinases. O fortalecimento da parede celular, através do aumento da concentração de Si e da lignina nos tecidos radiculares, contribuiu para o aumento da resistência de mudas de bananeira contra a murcha de Fusarium (FORTUNATO et al., 2014), e em algodão, proporcionou acumulação de compostos fenólicos e de lignina em células endodérmicas, as quais foram ativadas rapidamente e intensamente gerando repostas defensivas nas células contra o *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (WHAN et al., 2016). Em tomate, o acúmulo de Si nas raízes foi significativamente correlacionado com a redução da gravidade da doença causada por *F. oxysporum f. sp. radicis-lycopersici*, devido ao atraso do início da infecção nas raízes e ao movimento do patógeno para a coroa e hipocótilos (HUANG et al., 2011).

Diante do exposto, para aumentar a compreensão dos efeitos potencializados pelo Si durante o desenvolvimento inicial da cultura, a partir do recobrimento de sementes de feijão, o trabalho teve como objetivos: a) avaliar o efeito de diferentes doses e fontes de Si por meio do recobrimento de sementes sobre a qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes assim como, determinar a concentração de

silício e cálcio absorvidos em plântulas de feijão; b) avaliar o desempenho de plântulas inoculadas com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e recobertas com diferentes fontes de Si, durante a emergência e na expressão dos mecanismos bioquímicos, envolvidos nas respostas pós infecção em diferentes momentos; e c) verificar o efeito do recobrimento de sementes com Si em resposta à infecção em uma cultivar suscetível e resistente ao *C. lindemuthianum*, sobre o potencial fisiológico e sanitário de sementes e plântulas, durante o desenvolvimento inicial da cultura do feijão.

2 CAPÍTULO I – Recobrimento de sementes de feijão com silício e o desenvolvimento de plântulas

2.1 Introdução

A utilização de sementes de alta qualidade física, fisiológica, genética e sanitária, aliadas a práticas de manejo adequadas com o emprego de nutrientes minerais, podem garantir durante a fase inicial da cultura, um estande adequado e com desenvolvimento vegetativo satisfatório, os quais são exigências necessárias para se obter bons níveis de produtividade na cultura do feijão (MONDO et al., 2016).

Sabe-se que a germinação das sementes é uma das fases mais importantes no desenvolvimento das plantas, neste período vários fatores podem interferir numa emergência rápida e uniforme. O recobrimento de sementes com a utilização de silício (Si) pode ser uma alternativa para melhorar o desempenho de sementes e plântulas no campo quando submetidas a condições adversas de ambiente (RUFINO et al., 2017). Desta forma, a avaliação do potencial fisiológico e sanitário após o tratamento das sementes, permite estimar a capacidade das sementes se manifestarem adequadamente suas funções vitais após a semeadura, garantindo que essa prática de manejo, seja segura a fim de proporcionar bons resultados de desenvolvimento das plântulas no campo (TUNES et al., 2014).

O Si é considerado um elemento não essencial para as plantas, de acordo com o conceito de essencialidade dos nutrientes, no entanto, seus efeitos benéficos sobre as culturas têm sido amplamente relatados. Especialmente, quando as plantas são submetidas a estresses bióticos e abióticos, tais como o ataque de patógenos e pragas, deficiência hídrica, salinidade, metais pesados, temperatura alta ou baixa, desequilíbrio nutricional e entre outros fatores (DEBONA et al., 2017).

A acumulação de Si nas diferentes espécies varia de 1 a 100g kg^{-1} de Si na matéria seca de parte aérea. A absorção de Si em plantas consideradas não

acumuladoras como o feijão, vai depender da disponibilidade do elemento no meio, as quais vão se acumular em quantidades diferentes nas distintas partes da planta (MITANI; MA, 2005; TUBANA et al., 2017). Os efeitos desse elemento são pouco compreendidos, mas sabe-se que é necessário seu acúmulo nos tecidos, para potencializar as respostas fisiológicas (DALLAGNOL et al., 2009). Na maioria das dicotiledôneas a absorção ocorre de modo passivo por fluxo de massa, sendo absorvida na forma de ácido monossilícico (H_4SiO_4) e distribuído na planta pela taxa de transpiração. Depositado nas paredes externas das células epidérmicas das folhas, como ácido polimerizado (silíca amorfa), uma vez depositado, o Si não se redistribui para novos órgãos, necessitando de novas aplicações (CARNEIRO et al., 2010; HAYNES, 2017).

Existem várias maneiras de fornecer Si para as plantas, uma das mais usadas pela facilidade de aplicação e custo, se dá através do recobrimento de sementes, as quais podem incrementar e agregar valor ao produto através de pequenas quantidades de nutrientes, que são facilmente distribuídas às sementes de modo mais uniforme. A quantidade adequada do elemento nas sementes que fica em contato direto com a emissão das primeiras raízes, possibilita o suprimento das necessidades iniciais durante a germinação e emergência das plântulas (TUNES et al., 2012). Estudos relatam efeitos benéficos sobre vigor das plântulas de arroz utilizando diversas fontes de Si, verificados por meio de melhor desenvolvimento, emergência, assim como no controle de incidência de fungos nas sementes, sem, no entanto, afetar o processo germinativo das sementes (TUNES et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2016).

Essa cultura é afetada por inúmeros patógenos, que na grande maioria são transmitidos por sementes e que poderão causar sérios danos, como redução da germinação, emergência e no crescimento das plântulas, levando a morte em pré ou pós emergência, comprometendo o sistema radicular e o vascular o qual vai impedir o transporte de água e nutrientes, além de disseminar doenças nas lavouras, acarretando em perdas na produção (SILVA et al., 2008; MARCENARO; VALKONEN, 2016). Plantas de arroz supridas com Si originam sementes vigorosas e com menor incidência de sintomas de *Bipolares oryzae* (DALLAGNOL et al., 2013). Em tomate o aumento da concentração de silício na raiz correlacionou positivamente com a redução da severidade da doença causada por *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici* (HUANG et al., 2011). Desta forma, a nutrição

mineral por meio do recobrimento das sementes, é uma tecnologia que pode proporcionar adequada condução de cultivos agrícolas, promovendo estandes adequados e fortalecendo as defesas das plântulas contra o ataque de patógenos associados às sementes ou que estão presentes no solo nos estágios iniciais da cultura.

Assim, existem vários subprodutos industriais que servem como fonte de Si e que podem ser usados na agricultura, entretanto, a sua utilização não depende somente do conteúdo total de Si, mas da sua reatividade e solubilidade, além disso precisa ser acessível economicamente e ter disponibilidade no mercado (HAYNES, 2017). As fontes de Si geralmente são encontradas nas escórias siderúrgicas (silicatos), originárias do processamento em altas temperaturas, da reação do calcário (calcítico, magnesiano ou dolomítico), com a sílica (SiO_2) presente no minério de ferro, fornecem além Si, outros elementos como Ca e Mg (DEUS; BÜLL, 2013). Também o Si pode ser encontrado em um subproduto da indústria arrozeira, obtido da casca de arroz extraída do beneficiamento e carbonizada em fornos especiais em temperatura controlada (CASTELLANOS et al., 2016). Ambas as fontes são ricas em Si e com custo razoável economicamente, uma vez que são obtidos de resíduos industriais e regionais.

Desse modo, estudos que indiquem a melhor forma de aproveitamento dessas fontes na agricultura se faz necessário, viabilizando assim a sua utilização, principalmente durante o estabelecimento das plantas no campo, uma vez que não é conhecido o efeito do recobrimento das sementes com Si sobre o desempenho inicial em plântulas de feijão.

Neste contexto, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes doses e fontes de Si por meio do recobrimento das sementes sobre a qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes, assim como, determinar a concentração de silício e cálcio absorvidos em plântulas de feijão.

2.2 Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório Didático de Análise de Sementes, no Laboratório de Patologia de Sementes e em casa de vegetação

pertencentes ao Programa de Pós-Graduação em Ciências e Tecnologia de Sementes, do departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel). As análises de tecido vegetal foram realizadas no Laboratório de Bromatologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Clima Temperado, Estação Terras Baixas e no Laboratório de Química e Fertilidade da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Utilizaram-se sementes de feijão BRS Expedito safra 2014/15, com germinação de 82%. A cultivar apresenta características de grãos pretos, ciclo de 88 dias, hábito de crescimento indeterminado, planta tipo II, resistência ao acamamento e à antracnose, apta a colheita mecanizada e com elevado teor de proteína e fibras (ANTUNES et al., 2007).

Foram conduzidos três experimentos de forma simultânea, em um delineamento inteiramente casualizado e quatro repetições cada. As fontes de Si utilizadas foram previamente moídas em moinho de bolas e posteriormente passadas pelo conjunto almofariz e pistilo para uniformizar a granulometria.

O primeiro experimento consistiu no recobrimento das sementes com a fonte de Si, Agrosilício® (silicato de cálcio e magnésio, com 10,53% de Si), no segundo experimento foi utilizado silicato de cálcio (Sigma Aldrich®, com 66,28% de Si) e no terceiro, cinza de casca de arroz carbonizada (83,54% de Si), todos aplicados nas doses equivalentes de 0, 45, 90, 135 e 180g Si 100 kg^{-1} de sementes, o que correspondeu o equivalente nas respectivas doses 0; 427,3; 854,7; 1,282; 1,709g de Agrosilício®, 0; 67,89; 135,8; 203,7; 271,6g de silicato de cálcio e 0; 53,9; 107,8; 161,7; 215,7g de cinza de casca de arroz carbonizada por 100kg de $sementes^{-1}$.

O processo de recobrimento das sementes foi realizado manualmente conforme a metodologia descrita por Nunes (2005), sendo que para cada unidade experimental utilizou-se a quantidade de Si determinado + 300mL de polímero Collor Seed® (coloração vermelha) + 700mL água para completar o volume de calda de 1L para 100kg de semente. Posteriormente, homogeneizaram-se os produtos no fundo do saco plástico, espalhando-se até uma altura de 15cm aproximadamente, em seguida as sementes foram postas dentro dos sacos, agitando-as até uma distribuição uniforme do produto e cobertura das sementes. Após o tratamento, os sacos com as sementes recobertas foram abertos, permitindo que as sementes secassem em temperatura ambiente durante 48h.

Após secagem das sementes recobertas com as diferentes fontes e doses de Si, essas passaram por uma avaliação visual, a qual verificou-se que houve uma boa uniformidade e aparência das sementes, decorrente da verificação da aderência, coloração e distribuição dos produtos à superfície das mesmas (Apêndice A).

Foram feitas análises para determinar a composição específica de nutrientes e a densidade de cada fonte. Para tal, os componentes químicos foram determinados por meio de um espectrômetro de fluorescência de raios-X por energia dispersiva (modelo Shimadzu EDX-720), o qual foi realizado no Laboratório de Análises Químicas da Engenharia de Materiais da UFPel, e sendo a determinação da densidade dos materiais realizada no Laboratório de Física do Solo da UFPel (Tabela 1).

Tabela 1. Composição e densidade das fontes de Si utilizadas.

Fontes	Composição	Densidade (g/cm³)
*Silicato de cálcio e magnésio (Agrosilício®)	Si:10,53%; Ca:25,00%; Mg:7,00%; Fe:10,20%; Cr:4,48%; Mn:1,72%; Ti:0,69%; S:0,52%; K:0,35%	1,30
Silicato de cálcio (Sigma Aldrich®)	Si:66,28%; Ca:33,07%; K:0,34%; Fe:0,19%	0,27
Casca de arroz carbonizada	Si:83,45%; K:9,82%; Ca:3,76%; Mn:1,43%; P:0,94%; Fe:0,33%; S:0,21%; Zn:0,025%.	0,58

*pó moído.

Na sequência, foram realizados testes para a avaliação da qualidade física por meio do peso de mil sementes (PMS) e teor de água (TA), além de testes em laboratório e em casa de vegetação para a avaliação da qualidade fisiológica. Os testes de laboratório foram realizados por meio da germinação (G), primeira contagem de germinação (PCG), teste de frio (TF), envelhecimento acelerado (EA), comprimento total de plântulas (CTP), comprimento de parte aérea (CPA) comprimento da raiz (CR), massa seca de parte aérea (MSPA), massa seca de raiz (MSR) e massa seca total de plântulas (MSTP). Já os testes realizados em casa de vegetação foram determinados pela emergência de plântulas (EP), índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de parte aérea (CPA21d) e comprimento de raiz (CR21d), massa seca de folha (MSF21d), massa seca de hipocótilo (MSH21d), massa seca de parte aérea (MSPA21d) e massa seca de raiz (MSR21), realizados aos 21 dias após a semeadura (DAS), quando ocorreu a estabilização da cultura. Foram também determinados a concentração de Si e Ca na

raiz, hipocótilo e folha, no final do experimento aos 21 DAS, assim como avaliou-se a qualidade sanitária das sementes.

O peso de mil sementes (PMS) foi determinado utilizando quatro repetições com oito subamostras de 100 sementes, provenientes da porção semente pura e os resultados expressos em gramas, conforme as Regras para Análise de Sementes – RAS (BRASIL, 2009a).

O teor de água (TA) foi determinado pelo método de estufa à 105ºC ± 3ºC, por 24h. Foi utilizada uma estufa de circulação de ar forçada, utilizando-se quatro repetições de cinco gramas de sementes por tratamento, conforme as RAS (BRASIL, 2009a).

Para o teste de germinação (G) foram utilizadas quatro repetições de 200 sementes, divididas em quatro subamostras de 50 sementes, utilizando substrato papel germitest, umedecido com água destilada, na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco e mantido em germinador regulado a 25ºC ± 2ºC. As avaliações foram realizadas segundo as RAS (BRASIL, 2009a). A contagem de plântulas normais foi realizada aos nove dias após a instalação do teste e os resultados expressos em porcentagem.

A primeira contagem de germinação (PCG) foi realizada conjuntamente com o teste de germinação, constituindo-se no registro da porcentagem de plântulas normais verificada na primeira contagem do teste de germinação, efetuada no quinto dia após a semeadura, seguindo as RAS (BRASIL, 2009a) e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais.

O teste de frio (TF) foi conduzido com quatro repetições de 200 sementes divididas em quatro subamostras de 50 sementes, distribuídas uniformemente em rolo de papel germitest, previamente umedecido com água destilada na proporção de 2,5 vezes o peso da massa do papel seco, em seguida os rolos foram colocados em sacos plásticos fechados e depositados em refrigerador regulado a 10ºC por três dias, conforme a metodologia descrita por Guiscem et al. (2010). Após esse período, os rolos foram colocados em germinador regulado na temperatura de 25 ºC ± 2ºC, e no quinto dia realizou-se a contagem de plântulas normais.

O envelhecimento acelerado (EA) foi conduzido em caixas tipo “gerbox” com tela de alumínio suspensa no interior da caixa, onde foram distribuídas uniformemente as sementes de cada tratamento, em quatro repetições. Adicionou-se também 40mL de água destilada ao fundo de cada caixa, em seguida as caixas

foram tampadas e acondicionadas dentro de câmera tipo BOD, com temperatura controlada de 43ºC ± 1ºC e permanecendo durante um período de 24h, segundo a metodologia de Bertolin et al. (2011). Após este período, as sementes foram colocadas para germinar como descrito no teste de germinação, a avaliação foi realizada aos cinco dias e os resultados expressos em porcentagem de plântulas normais.

Para a determinação do comprimento total de plântulas (CTP), comprimento da raiz (CR) e da parte aérea (CPA) realizado em laboratório, os quais foram conduzidos similarmente ao no teste de germinação, as plântulas foram avaliadas no quinto dia após a instalação do teste, utilizando-se quatro subamostras de 10 plântulas normais para cada tratamento, escolhidas aleatoriamente a partir da semeadura de 20 sementes por repetição no terço superior da folha de papel germitest, umedecidas com água destilada com 2,5 vezes a massa do papel. Os rolos foram acondicionados em germinador à 25ºC ± 2ºC, conforme a descrição por Nakagawa (1999). Determinaram-se os comprimentos com auxílio de régua graduada em milímetros. O comprimento médio total de plântulas, parte aérea e de raiz foram obtidos somando-se as medidas de cada repetição e dividindo-se pelo número de plântulas normais avaliadas, com resultados expressos em centímetros.

A massa seca total de plântulas (MTP), massa seca de raiz (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA) foi mensurado após o teste de comprimento, a parte aérea foi separada da raiz, colocados em sacos de papel e levados para secar em estufa de ventilação de ar forçada, regulada à temperatura de 70ºC, durante 72h. Posteriormente, foi avaliada a massa seca, utilizando-se balança com precisão de 0,001g, e os resultados expressos em gramas por plântulas (NAKAGAWA, 1999).

A emergência de plântulas (EP) foi realizada com quatro repetições de 50 sementes para cada tratamento, semeadas em bandejas de plástico, contendo solo e vermiculita, na proporção 2:1 (v/v). O solo utilizado foi do tipo Planossolo Hidromórfico Eutrófico Solódico com textura franco-arenosa (STRECK et al., 2008), pertencente à unidade de mapeamento de Pelotas-RS.

As características químicas do solo utilizado no estudo foram: pH em H_2O 5,0; 8,5 mg dm^{-3} P; 66 mg dm^{-3} K; 0,3 cmolc dm^{-3} Ca; 0,4 cmolc dm^{-3} Mg; 1,6 cmolc dm^{-3} Al; 4,2 cmolc dm^{-3} H+Al; 0,9 cmol dm^{-3} SB; 5,1 mg dm^{-3} CTC; 17,6% e MO 16,4 g dm^{-3}. A concentração de Si presente no solo foi 6mg kg^{-1} utilizando-se para extração cloreto de cálcio (0,01mol L^{-1}) e a quantificação por colorimetria. A escolha deste

solo foi devido ao baixo teor de Si (KORNDÖRFER et al., 2004), o qual proporciona melhor resposta da aplicação de Si pelas plantas (HAYNES, 2017).

As sementes foram semeadas em profundidade de 2,0 cm e mantidas em casa de vegetação sem controle de temperatura, com irrigação manual, próximo à capacidade de campo, sempre que necessário. A avaliação foi realizada aos 21 dias após a semeadura, computando-se, em porcentagens, o número de plântulas normais emergidas (NAKAGAWA, 1999).

O índice de velocidade de emergência (IVE) foi conduzido conjuntamente com o teste de emergência de plântulas, através de contagens diárias das plântulas emergidas até a estabilização da emergência. Para cada repetição dos tratamentos foi calculado o IVE, somando-se o número de plântulas emergidas a cada dia, dividido pelo respectivo número de dias transcorridos a partir da semeadura, conforme a fórmula de Maguire (1962):

IVE: $(E_1 \div N_1) + (E_2 \div N_2) + ... + (En \div Nn)$

Onde: IVE: índice de velocidade de emergência; E_1, E_2, Em: número de plântulas normais computadas na primeira, segunda e última contagem e N_1, N_2, Nn: número de dias entre a semeadura e a primeira, segunda e última contagem.

O comprimento de raiz (CR21d) e comprimento de parte aérea de plântulas aos 21 dias (CPA21d), foi determinado no final do teste de emergência, onde 20 plântulas normais de cada repetição escolhidas aleatoriamente, foram mensuradas com uma régua graduada em milímetros, determinando-se o comprimento da raiz e da parte aérea, sendo os resultados expressos em centímetros por plântula.

A massa seca de raiz (MSR21d), massa seca de folha (MSF21d), massa seca de hipocótilo (MSH21d) e massa seca de parte aérea aos 21 dias (MSPA21d) foram determinadas após a mensuração do comprimento de plântulas aos 21 dias, onde as plântulas selecionadas foram separadas em raiz, folha e hipocótilo. As 20 plântulas normais de cada repetição foram separadas e dispostas para secar em estufa de circulação de ar forçada regulada a 70ºC, durante 72h. Após esse período, as amostras foram pesadas em balança analítica de precisão e os resultados expressos em gramas por plântulas.

Para a determinação da concentração de Si e Ca em raiz, hipocótilo e folha, foram feitas coletas após o término do teste emergência, onde as plântulas restantes de cada repetição e tratamento foram retiradas do solo, lavadas em água corrente e imediatamente separadas em raiz, hipocótilo e folha, as quais foram colocadas em

sacos de papel e secas a 70ºC durante 72h. Posteriormente, foram moídas em moinho elétrico tipo Willey de marca Marconi® com peneiras de 40 mesh. A concentração de Si nos tecidos foi determinada pela análise colorimétrica em 0,1g de tecido seco, após digestão básica, conforme determinações descritas por Korndörfer et al. (2004). A concentração de Ca foi determinada em espectrometria de emissão atômica a partir de 0,2g de tecido seco submetido à digestão ácida (TEDESCO et al., 1995).

A avaliação da qualidade sanitária das sementes foi realizada através do método “Blotter Test” (papel filtro), utilizando 200 sementes para cada tratamento, divididas em quatro subamostras de 50 sementes, colocadas em caixas plásticas do tipo “gerbox”, previamente desinfestadas com álcool 70% e hipoclorito de sódio a 1%, contendo duas folhas de papel filtro esterilizado e umedecidas com água destilada e esterilizada. As sementes foram incubadas a 25ºC, com fotoperíodo de 12h, durante 24h. Em seguida, para inibir a germinação as sementes foram submetidas ao método de congelamento por 24h. Após esse período, foram então novamente incubadas a 25ºC por sete dias com regime de luz/escuro de 12h (BRASIL, 2009b). As sementes foram analisadas com o auxílio de microscópio estereoscópio e óptico para a observação das estruturas morfológicas dos fungos, os quais foram identificados a nível de gênero com auxílio de bibliografia especializada (BARNETT; HUNTER, 1972) determinando-se o percentual de sementes infestadas por patógenos.

Para análise estatística, os dados foram submetidos aos testes de normalidade dos resíduos por Shapiro-Wilk e homogeneidade das variâncias por Bartlett, e quando atenderam as pressuposições foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e havendo significância dos dados, foram realizadas as equações de regressão polinomial. As variáveis que não atenderam os pressupostos foram transformadas através do sistema Box-Cox, possibilitando o ajuste dos dados para a realização da ANOVA. Para algumas variáveis do teste de sanidade das sementes (dados não paramétricos) foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis. Para análise estatística foi utilizado o software SAS (SAS Institute, 1989, Cary, NC).

2.3 Resultados

2.3.1 Uso do Agrosilício® (silicato de cálcio e magnésio) como fonte de Si

Na tabela 2, encontram-se os resultados obtidos e as equações de regressão para as variáveis de qualidade física e fisiológica das sementes e, da concentração de nutrientes em plântulas de feijão, provenientes de sementes recobertas com diferentes doses de Si, fornecidas pela fonte Agrosilício®.

A qualidade física das sementes avaliadas pelo teor de água (TA) e peso de mil sementes (PMS), não foram influenciados pela aplicação de Si nas diferentes doses (Tabela 2).

Plântulas normais dos testes de vigor e de germinação, verificados pelas variáveis de primeira contagem de germinação (PCG), germinação (G) e do teste frio (TF) ajustaram-se a um modelo linear negativo (Tabela 2). Conforme o aumento das doses de Si, houve uma taxa de redução de aproximadamente 7 pontos percentuais para PCG e 4 pontos percentuais para G e TF, em cada dose aplicada via tratamento de sementes.

Quanto as variáveis de envelhecimento acelerado (EA), emergência de plântulas (EP) e índice de velocidade de emergência (IVE), nenhum dos modelos testados se adequaram aos dados obtidos (Tabela 2).

Os dados de comprimento total de plântulas (CTP), comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento da raiz (CR), se enquadraram num modelo quadrático positivo, demostrando que a fonte de Si influenciou positivamente na expressão do vigor através de um maior crescimento das plântulas de feijão, visto que a dose ideal foi alcançada com 100, 116 e 90g Si 100 kg^{-1} de sementes que gerou uma expectativa de incremento de 20, 22 e 19% respectivamente, a mais em relação a dose zero (Tabela 2).

Observou-se também, que a maior produção de massa seca da parte aérea (MSPA), raiz (MSR) e massa seca total de plântulas (MSTP), estão associadas às respectivas variáveis de comprimento, sendo os dados ajustados a uma equação quadrática positiva, verificado nas doses ótimas de Si de 102, 97 e 100g Si 100 kg^{-1} de sementes, respectivamente um incremento na massa de matéria seca de 37, 30 e 36% para MSPA, MSR e MSTP, em comparação com a dose zero (Tabela 2).

Tabela 2. Regressão das doses de silício, para as variáveis de qualidade física e fisiológica de sementes e concentração de silício e cálcio em raiz, hipocótilo e folha de plântulas de feijão provenientes de sementes recobertas com Agrosilício® (silicato de cálcio e magnésio).

Avaliação	**Dose de Si** (g 100kg^{-1} de sementes)					**Pr>F**	**CV(%)**	**Equação de regressão**	**R^2**	**Dose ideal**	**Y_E**
	0	**45**	**90**	**135**	**180**						
Qualidade física											
PMS (g)	244,28	249,82	250,11	249,27	247,95	ns	-	-	-	-	-
TA (%)	5,0	5,0	5,0	5,1	5,2	ns	-	-	-	-	-
Qualidade fisiológica											
PCG (%)	82	80	70	64	55	*	7,1	y= 84,05 – 0,155x	0,96	-	-
G (%)	82	84	76	72	66	*	6,2	y= 84,54 – 0,096x	0,91	-	-
EA (%)	72	67	62	59	60	ns	-	-	-	-	-
TF (%)	80	77	73	67	64	*	7,2	y= 80,60 – 0,092x	0,98	-	-
CTP (cm/plântula)	19,62	23,83	24,67	22,87	22,08	*	5,5	y= 20,011 + 0,08907x – 0,00044568x^2	0,86	100	24,46
CPA (cm/plântula)	7,90	9,10	10,28	9,89	9,50	*	9,6	y= 7,85 + 0,03902x – 0,00016764x^2	0,96	116	10,12
CR (cm/plântula)	11,72	14,73	14,39	12,98	12,59	*	17,3	y= 12,15 + 0,05004 x – 0,00027804 x^2	0,70	90	14,4
MSPA (g/plântula)	0,03	0,05	0,05	0,05	0,04	*	10,9	y= 0,03406 + 0,00035437x – 0,00000174x^2	0,89	102	0,05
MSR (g/plântula)	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	*	11,8	y= 0,01419 + 0,00012952x – 0,000000670194x^2	0,87	97	0,02
MSTP (g/plântula)	0,05	0,07	0,07	0,07	0,06	*	10,4	y= 0,04843 + 0,00047429x – 0,00000236x^2	0,88	100	0,07
EP (%)	85	87	84	81	83	ns	-	-	-	-	-
IVE	6,26	6,15	5,59	5,53	5,75	ns	-	-	-	-	-
CPA21d(cm/plântula)	28,44	28,23	28,83	29,17	30,59	*	3,4	y= 27,99950 + 0,01167x	0,97	-	-
CR21d (cm/plântula)	16,88	18,28	17,79	18,87	19,21	ns	-	-	-	-	-
MSF21d (g/plântula)	0,12	0,12	0,13	0,14	0,17	*	12,6	y= 0,10950 + 0,00028111x	0,91	-	-
MSH21d(g/plântula)	0,12	0,12	0,14	0,15	0,16	*	8,8	y= 0,11600 + 0,00022389x	0,93	-	-
MSPA21d(g/plântula)	0,24	0,23	0,27	0,29	0,32	*	9,6	y= 0,22530 + 0,00050778x	0,94	-	-
MSR21d (g/plântula)	0,09	0,07	0,07	0,08	0,07	*	14,0	y= 0,08858 - 0,00034071x + 0,00000153x^2	0,71	111	0,07
Concentração de Silício (g kg^{-1})											
Raiz	8,63	9,44	9,25	8,70	8,00	ns	-	-	-	-	-
Hipocótilo	2,29	1,78	2,48	2,33	1,93	ns	-	-	-	-	-
Folha	3,14	2,81	3,75	3,65	2,98	*	15,3	y= 2,92221 + 0,01211 x - 0,00006093 x^2	0,34	99	3,52
Concentração de Cálcio (g kg^{-1})											
Raiz	0,98	1,16	1,14	1,19	1,03	*	8,9	y= 0,98839 + 0,00414 x - 0,00002157 x^2	0,88	96	1,19
Hipocótilo	1,96	1,99	2,11	1,90	2,19	ns	-	-	-	-	-
Folha	2,75	2,46	2,35	2,15	2,59	ns	-	-	-	-	-

* e ns = significativo e não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade de erro, respectivamente; R^2 = coeficiente de determinação; Y_E = valor estimado pela dose ideal de Si. Peso de mil sementes (PMS); teor de água (TA); primeira contagem de germinação (PCG); germinação (G); teste de frio (TF); envelhecimento acelerado (EA); comprimento total de plântulas (CTP); comprimento de parte aérea (CPA); comprimento da raiz (CR); massa seca de parte aérea (MSPA); massa seca de raiz (MSR); massa seca total de plântulas (MSTP); emergência de plântulas (EP); índice de velocidade de emergência (IVE); comprimento de parte aérea (CPA21d) e comprimento de raiz (CR21d) de plântulas aos 21 dias; massa seca de folha (MSF21d), massa seca de hipocótilo (MSH21d), massa seca de parte aérea (MSPA21d) e massa seca de raiz (MSR21) aos 21 dias.

Com relação às características fisiológicas de desempenho de plântulas avaliadas em casa de vegetação, verificou-se aumento linear para o comprimento de parte aérea aos 21 DAS (CPA21d), representando um aumento de 7% na maior dose, em relação a dose zero. No entanto, para o comprimento de raiz aos 21 dias (CR21d), nenhum dos modelos testados se adequaram aos dados obtidos para esta variável (Tabela 2).

À medida que aumentou as doses de Si nas sementes, ocorreu um acréscimo de forma linear na produção de massa seca de folha (MSF21d), hipocótilo (MSH21d) e de parte aérea total (MSPA21d) aos 21 dias após a semeadura, representando respectivamente, um acúmulo de matéria seca em 29; 25 e 25,4% na maior dose em comparação com a dose zero (Tabela 2).

Quanto à massa seca de raiz (MSR21) aos 21 dias após a semeadura, o aumento das doses afetou negativamente a produção de matéria seca, sendo os dados ajustados ao modelo quadrático negativo, tendo seu ponto de mínima à dose de 111g Si 100 kg^{-1} de sementes (Tabela 2).

A concentração de silício em raiz e no hipocótilo não foram significativamente influenciados pelas doses de Agrosilício® (Tabela 2). No entanto nas folhas, observou-se que as doses de Si responderam de forma quadrática positiva ao incremento das doses, indicando na dose ideal de 99g Si 100 kg^{-1} de sementes, um aumento de 10,8% na concentração de Si comparativamente com a dose zero, demonstrando que as plântulas até os 21 dias foram eficientes em absorver o Si e mover das raízes para as folhas (Tabela 2).

O Agrosilício® além de ser fonte de Si para as plântulas nos estágios iniciais, também pode fornecer outros nutrientes como o cálcio (Ca). Somente a concentração de Ca na raiz apresentou diferenças significativas, enquanto que para hipocótilo e folha não foram observadas diferenças (Tabela 2).

Os dados de concentração de Ca na raiz se ajustaram ao modelo quadrático positivo ao incremento das doses, chegando na dose ideal de 96g Si 100 kg^{-1} de sementes incremento de 17,6% em relação a dose zero, resultado esperado, uma vez que a fonte contém 25% de Ca (Tabela 2).

Quanto a análise sanitária das sementes de feijão recobertas com Agrosilício®, foi possível observar independente das doses fungos de campo, como *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp. e *Ryzoctonia* sp. e fungos de armazenamento como *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. (Tabela 3 e 4).

Na tabela 3 verifica-se um comportamento quadrático negativo para a incidência de *Fusarium* sp. em sementes recobertas com diferentes doses de Si, sendo o ponto de mínima observado na dose de 169g Si 100 kg-^{1} de sementes, correspondendo a uma redução de 46% em relação a dose zero.

Tabela 3. Incidência de patógenos em sementes de feijão recobertas com Agrosilício® (silicato de cálcio e magnésio).

Incidência (%)	**Dose de Si** (g 100kg^{-1} de sementes)					**Média**	**Pr>F**	**CV(%)**
	0	**45**	**90**	**135**	**180**			
Fusarium sp.	79,50	81,00	46,50	37,00	47,50	58,30	*	15,19
	Equação de regressão				**R^2**	**Dose ideal**		**Y_E**
Fusarium sp.	y= 86,04286 - 0,51302 x + 0,00152 x^2				0,78	169		42,70

* e ns = significativo e não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade de erro. R^2 = coeficiente de determinação; Y_E = valor estimado pela dose ideal de Si.

Para *Penicillium* sp., *Colletotrichum* sp. e *Ryzoctonia* sp. (Tabela 4), não foram observadas diferenças significativas entre as doses. Já para *Aspergillus* sp. e *Alternaria* sp., foi verificado uma redução de 100 e 99% nas doses de 135 e 90g Si 100 kg-^{1} de sementes respectivamente, em comparação a dose zero, no entanto não diferiram estatisticamente das demais doses.

Tabela 4. Incidência de patógenos em sementes de feijão recobertas com Agrosilício® (silicato de cálcio e magnésio).

Incidência (%)	**Dose de Si** (g 100kg^{-1} de sementes)					**Média**
	0	**45**	**90**	**135**	**180**	
Alternaria sp.	19,00a*	10,50ab	1,00b	3,50ab	5,50ab	7,90
Colletotrichum sp.	0,50^{ns}	0,50	0,00	0,00	0,00	0,20
Ryzoctonia sp.	0,00	0,00	0,50	0,00	0,50	0,20
Penicillium sp.	9,50^{ns}	5,00	4,00	5,50	9,00	6,60
Aspergillus sp.	20,50a*	1,00ab	1,00ab	0,00b	2,00ab	4,80

*Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si (P>0.01) segundo teste de Kruskal-Wallis. ns: não significativo.

2.3.2 Uso do silicato de cálcio (Sigma Aldrich®) como fonte de Si

Na tabela 5, constam os dados da qualidade física das sementes de feijão (PMS e TA) recobertas com diferentes doses de Si, fornecidas pela fonte de silicato de cálcio (Sigma Aldrich®), as quais não foram influenciadas significativamente pelas doses.

Quanto às características fisiológicas, observou-se que as porcentagens de plântulas normais, obtidas pelos testes de primeira contagem de germinação (PCG) e germinação (G), não foram influenciados pelas doses de silicato de cálcio. O

mesmo foi verificado para as variáveis de envelhecimento acelerado (EA) e teste frio (TF), os quais avaliam a resistência das sementes quando submetidas à condições de estresse (Tabela 5).

Para o comprimento de parte aérea (CPA), ocorreu crescimento linear à medida que se elevaram as doses de Si, sendo observado na dose máxima um incremento de 10,7% em comparação com a dose zero. No entanto, para as variáveis de comprimento total de plântulas (CTP) e comprimento de raiz (CR), não houve diferenças significativas entre as doses (Tabela 5).

Aumento linear da massa seca de parte aérea (MPA), massa seca de raiz (MSR) e massa seca total de plântulas (MSTP), foram observados com o incremento das doses, sendo na dose de 180g Si 100 kg^{-1} de sementes, um acréscimo na matéria seca de 26,7; 17,7 e 25,8%, respectivamente, em comparação com a dose zero (Tabela 5).

Não se observou diferenças significativas entre as doses testadas, quanto à emergência das plântulas (EP) e o índice de velocidade de emergência (IVE) (Tabela 5).

Já para o desenvolvimento inicial de plântulas de feijão avaliadas em casa de vegetação, o incremento de doses de Si proporcionou maiores comprimentos de parte aérea avaliada aos 21 dias após a semeadura (CPA21d) até a dose ideal de 85g Si 100 kg^{-1} de sementes, gerando uma expectativa de crescimento de 5% a mais, em relação à dose zero. Enquanto que, para o comprimento de raiz (CR21d), ocorreu acréscimo linear à medida que aumentou as doses, sendo observado na maior dose um crescimento de 14,32%, em relação a dose zero (Tabela 5).

Para as variáveis de massa seca de folha aos 21 dias após a semeadura (MSF21d), massa seca de hipocótilo (MSH21d) e massa seca total de parte aérea (MSPA21d), não foram observadas diferenças significativas em função das doses de Si fornecidas pela fonte de silicato de cálcio. Entretanto, para a massa seca de raiz (MSR21) os dados ajustaram-se a um modelo quadrático negativo ao aumento das doses de Si, tendo seu ponto de mínima à dose de 13g Si 100 kg^{-1} de sementes (Tabela 5).

Quanto a concentração de Si na raiz, os dados se ajustaram a um comportamento quadrático positivo ao incremento das doses, tendo seu ponto ideal à dose de 48g Si 100 kg^{-1} de sementes, chegando a acumular 9,82% a mais em relação à dose zero.

Tabela 5. Regressão das doses de silício, para as variáveis de qualidade física e fisiológica de sementes e concentração de silício e cálcio em raiz, hipocótilo e folha de plântulas de feijão provenientes de sementes recobertas com silicato de cálcio (Sigma Aldrich®).

Avaliação	**Dose de Si** (g 100kg^{-1} de sementes)					Pr>F	CV (%)	Equação de regressão	R^2	Dose ideal	Y_E
	0	**45**	**90**	**135**	**180**						
Qualidade física											
PMS (g)	244,28	246,14	244,77	248,42	246,05	ns	-	-	-	-	-
TA (%)	5,0	4,8	5,0	4,9	5,0	ns	-	-	-	-	-
Qualidade fisiológica											
PCG (%)	82	74	73	75	76	ns	-	-	-	-	-
G (%)	82	80	80	81	84	ns	-	-	-	-	-
EA (%)	72	73	69	70	67	ns	-	-	-	-	-
TF (%)	80	79	80	72	73	ns	-	-	-	-	-
CTP (cm/plântula)	19,62	17,94	20,75	19,98	20,31	ns	-	-	-	-	-
CPA (cm/plântula)	7,90	7,36	8,00	8,99	8,85	*	9,5	y= 7,51150 + 0,00787x	0,66	-	-
CR (cm/plântula)	11,72	10,58	12,75	10,99	11,45	ns	-	-	-	-	-
MSPA (g/plântula)	0,03	0,03	0,04	0,04	0,05	*	7,2	y= 0,03131 + 0,00008222x	0,76	-	-
MSR (g/plântula)	0,01	0,01	0,02	0,02	0,02	*	12,4	y= 0,01350 + 0,00002141x	0,80	-	-
MSTP (g/plântula)	0,05	0,04	0,06	0,06	0,06	*	7,5	y= 0,04593 + 0,00009760x	0,81	-	-
EP (%)	85	89	87	91	88	ns	-	-	-	-	-
IVE	6,26	6,20	6,20	6,16	5,97	ns	-	-	-	-	-
CPA21d (cm/plântula)	28,44	30,29	29,12	29,95	28,14	*	3,2	y= 28,61286+ 0,03170x - 0,00018757x^2	0,61	85	29,95
CR21d (cm/plântula)	16,88	17,47	17,38	19,04	19,70	*	6,2	y= 16,64800 + 0,01588x	0,90	-	-
MSF21d (g/plântula)	0,12	0,13	0,12	0,12	0,11	ns	-	-	-	-	-
MSH21d(g/plântula)	0,12	0,13	0,12	0,13	0,11	ns	-	-	-	-	-
MSPA21d(g/plântula)	0,24	0,27	0,23	0,26	0,22	ns	-	-	-	-	-
MSR21d (g/plântula)	0,09	0,07	0,06	0,07	0,06	*	11,3	y= 0,08993 - 0,00041397x + 0,00000153x^2	0,92	135	0,06
Concentração de Silício (g kg^{-1})											
Raiz	8,63	10,6	9,01	7,38	6,60	*	12,0	y= 9,11836 + 0,01890 x - 0,0001949 x^2	0,78	48	9,57
Hipocótilo	2,29	2,03	2,63	2,10	2,70	*	12,6	y= 2,17374 + 0,001949 x	0,22	-	-
Folha	3,14	3,01	2,91	2,76	2,98	ns	-	-	-	-	-
Concentração de Cálcio (g kg^{-1})											
Raiz	0,98	0,90	1,15	1,36	0,97	ns	-	-	-	-	-
Hipocótilo	1,96	2,14	2,12	2,13	2,01	ns	-	-	-	-	-
Folha	2,75	2,90	2,34	2,52	2,14	*	13,3	y= 2,85025 - 0,00356 x	0,68	-	-

* e ns = significativo e não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade de erro, respectivamente; R^2 = coeficiente de determinação; Y_E = valor estimado pela dose ideal de Si. Peso de mil sementes (PMS); teor de água (TA); primeira contagem de germinação (PCG); germinação (G); teste de frio (TF); envelhecimento acelerado (EA); comprimento total de plântulas (CTP); comprimento de parte aérea (CPA); comprimento da raiz (CR); massa seca de parte aérea (MSPA); massa seca de raiz (MSR); massa seca total de plântulas (MSTP); emergência de plântulas (EP); índice de velocidade de emergência (IVE); comprimento de parte aérea (CPA21d) e comprimento de raiz (CR21d) de plântulas aos 21 dias; massa seca de folha (MSF21d), massa seca de hipocótilo (MSH21d), massa seca de parte aérea (MSPA21d) e massa seca de raiz (MSR21) aos 21 dias.

Doses crescentes aumentaram de forma linear, para a concentração de Si no hipocótilo, chegando à maior dose (180g Si 100 kg-^{1} de sementes) um incremento de 15,2% em comparação com a dose zero, demostrando dessa forma que o crescimento das plântulas acompanhou o incremento na absorção do elemento. No entanto, para folhas não foram observadas diferença significativa ao acúmulo de Si (Tabela 5).

A concentração de Ca na raiz e no hipocótilo, não apresentaram diferenças significativas ao recobrimento das sementes, já para a concentração de Ca em folha, os dados apresentaram diminuição linear com o incremento das doses (Tabela 5).

Em relação a sanidade das sementes obtidas após o recobrimento, não foi possível observar diferenças significativa nas diferentes doses de Si, quanto os patógenos de campo (*Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp. e *Ryzoctonia* sp.) assim como para *Penicillium* sp. que é considerado um fungo de armazenamento. Entretanto, para o *Aspergillus* sp. a dose de 45g Si 100 kg-^{1} de sementes, proporcionou 100% do controle quando comparado com a dose zero, porém sem diferir significativamente das demais doses de Si (Tabela 6).

O *Fusarium* sp. proporcionou a maior porcentagem média de incidência entre os patógenos, cerca de 86% (Tabela 6). Os demais fungos como *Alternaria* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Ryzoctonia* sp. e *Colletotrichum* sp. apresentaram incidências médias de 12,7; 7,4; 5,6; 0,4 e 0,2% respectivamente (Tabela 6).

Tabela 6. Incidência de patógenos em sementes de feijão recobertas com silicato de cálcio (Sigma Aldrich®).

Incidência (%)	**Dose de Si** (g 100 kg^{-1} de sementes)					**Média**
	0	**45**	**90**	**135**	**180**	
Fusarium sp.	79,50^{ns}	91,00	93,50	79,50	86,50	86,00
Alternaria sp.	19,00^{ns}	11,50	14,00	10,00	9,00	12,70
Colletotrichum sp.	0,50^{ns}	0,00	0,00	0,00	0,50	0,20
Ryzoctonia sp.	0,00^{ns}	0,50	0,00	1,50	0,00	0,40
Aspergillus sp.	20,50a*	0,00b	4,50ab	1,50ab	1,50ab	5,60
Penicillium sp.	9,50^{ns}	4,50	6,00	9,00	8,00	7,40

*Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si (P>0.01) segundo teste de Kruskal-Wallis. ns: não significativo.

2.3.3 Uso da cinza de casca de arroz como fonte de Si

Na tabela 7, encontram-se os resultados obtidos e as equações de regressão para as variáveis de qualidade física e fisiológica das sementes e, da concentração de nutrientes em plântulas de feijão, provenientes de sementes recobertas com

diferentes doses de Si, fornecidas pela fonte de cinza de casca de arroz carbonizada (CAC).

Ao avaliar o peso de mil sementes (PMS), não se verificou efeito significativo para o recobrimento com diferentes doses de Si, assim como para o teor de água nas sementes (TA) (Tabela 7).

Não houve diferenças significativas com o aumento das doses de Si, para as porcentagens de plântulas normais, obtidas pelos testes de primeira contagem de germinação (PCG), germinação (G), envelhecimento acelerado (EA) e teste frio (TF), demostrando que o uso da cinza de casca de arroz, não influencia no desenvolvimento de plântulas normais, tanto em condições ideais de germinação quanto em condições de estresse (EA e TF) (Tabela 7).

O comprimento total de plântulas (CPA), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca de parte aérea (MSPA) e massa seca de raiz (MSR), também não foram influenciadas pelas doses de Si, fornecidas pela fonte de cinza de casca de arroz carbonizada (Tabela 7).

Resultados positivos e significativos foram verificados na produção de massa seca total de plântulas (MSTP), sendo os dados ajustados a um comportamento quadrático, e apresentando o ponto de máximo acúmulo de matéria seca, na dose de 100g Si 100 kg^{-1} de sementes, resultando num incremento de 16% em relação a dose zero (Tabela 7).

Quanto aos dados obtidos referentes ao índice de velocidade de emergência (IVE), observou-se comportamento linear decrescente com o incremento das doses, no entanto, não influenciou significativamente a porcentagem final de emergência de plântulas (EP) (Tabela 7).

Para o comprimento de parte aérea aos 21 dias após a semeadura (CPA21d), observa-se que os dados se ajustaram a um modelo quadrático positivo, sendo a dose ideal obtida com 94g Si 100 kg^{-1} de sementes, gerando uma expectativa de crescimento de 7,7% a mais, em relação à dose zero (Tabela 7), e demostrando dessa forma, que o crescimento da parte aérea foi favorecido com as doses Si. Doses crescentes de Si, não apresentaram diferenças significativas para o comprimento de raiz aos 21 dias após a semeadura (CPA21d), massa seca de folha (MSF21d), massa seca de hipocótilo (MSH21d) e massa seca de parte aérea (MSPA21d) conduzidos em casa de vegetação (Tabela 7).

Tabela 7. Regressão das doses de silício, para as variáveis de qualidade física e fisiológica de sementes e concentração de silício e cálcio em raiz, hipocótilo e folha de plântulas de feijão provenientes de sementes recobertas com cinza de casca de arroz carbonizada.

Avaliação	**Dose de Si** (g 100 kg^{-1} de sementes)					Pr>F	CV (%)	Equação de regressão	R^2	Dose ideal	Y_E
	0	**45**	**90**	**135**	**180**						
Qualidade física											
PMS (g)	245,32	248,44	245,94	248,28	247,59	ns	-	-	-	-	-
TA (%)	5,0	4,9	4,9	4,9	4,9	ns	-	-	-	-	-
Qualidade fisiológica											
PCG (%)	82	77	74	74	76	ns	-	-	-	-	-
G (%)	82	83	83	81	82	ns	-	-	-	-	-
EA (%)	72	73	65	65	66	ns	-	-	-	-	-
TF (%)	80	80	76	80	80	ns	-	-	-	-	-
CTP (cm/plântula)	19,62	18,99	20,07	20,03	18,16	ns	-	-	-	-	-
CPA (cm/plântula)	7,30	7,61	7,54	8,16	7,82	ns	-	-	-	-	-
CR (cm/plântula)	11,72	11,12	12,54	11,87	10,34	ns	-	-	-	-	-
MSPA (g/plântula)	0,03	0,04	0,04	0,03	0,03	ns	-	-	-	-	-
MSR (g/plântula)	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	ns	-	-	-	-	-
MSTP (g/plântula)	0,05	0,05	0,06	0,05	0,05	*	15,98	$y=0,0457 + 0,00019x - 0,0000011\ x^2$	0,63	100	0,06
EP (%)	85	87	86	87	85	ns	-	-	-	-	-
IVE	6,44	6,39	6,11	6,06	5,75	*	3,36	$y= 6,49544 - 0,00385x$	0,90	-	-
CPA21d (cm/plântula)	28,44	31,84	30,58	29,40	29,98	*	3,02	$y= 29,12100 + 0,03679x - 0,00019630x^2$	0,35	94	30,84
CR21d (cm/plântula)	16,88	14,67	14,80	15,41	15,85	ns	-	-	-	-	-
MSF21d (g/plântula)	0,12	0,14	0,13	0,13	0,14	ns	-	-	-	-	-
MSH21d(g/plântula)	0,12	0,15	0,12	0,13	0,12	ns	-	-	-	-	-
MSPA21d(g/plântula)	0,24	0,23	0,25	0,25	0,26	ns	-	-	-	-	-
MSR21d (g/plântula)	0,09	0,07	0,08	0,06	0,08	*	13,80	$y= 0,08892 - 0,00039702\ x + 0,00000191\ x^2$	0,54	104	0,07
Concentração de Silício (g kg^{-1})											
Raiz	8,63	11,14	12,29	10,66	10,40	*	10,17	$y= 8,82957 + 0,05952\ x - 0,00029295\ x^2$	0,83	101	11,85
Hipocótilo	2,29	2,41	1,86	2,00	1,96	ns	-	-	-	-	-
Folha	3,14	3,60	3,45	3,52	3,81	ns	-	-	-	-	-
Concentração de Cálcio (g kg^{-1})											
Raiz	0,98	1,14	0,89	0,85	0,64	*	20,56	$y= 1,0950 - 0,00218\ x$	0,70	-	-
Hipocótilo	1,96	2,18	2,10	2,22	2,06	ns	-	-	-	-	-
Folha	2,75	3,19	2,84	3,09	3,36	ns	-	-	-	-	-

* e ns = significativo e não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade de erro, respectivamente; R^2 = coeficiente de determinação; Y_E = valor estimado pela dose ideal de Si. Peso de mil sementes (PMS); teor de água (TA); primeira contagem de germinação (PCG); germinação (G); teste de frio (TF); envelhecimento acelerado (EA); comprimento total de plântulas (CTP); comprimento de parte aérea (CPA); comprimento da raiz (CR); massa seca de parte aérea (MSPA); massa seca de raiz (MSR); massa seca total de plântulas (MSTP); emergência de plântulas (EP); índice de velocidade de emergência (IVE); comprimento de parte aérea (CPA21d) e comprimento de raiz (CR21d) de plântulas aos 21 dias; massa seca de folha (MSF21d), massa seca de hipocótilo (MSH21d), massa seca de parte aérea (MSPA21d) e massa seca de raiz (MSR21) aos 21 dias.

Entretanto, para a massa seca de raiz (MSR21), os resultados obtidos se ajustaram a um modelo quadrático negativo, ao aumento das doses de Si, tendo seu ponto de mínima à dose de 104g Si 100 kg^{-1} de sementes (Tabela 7).

Quanto a concentração de Si nas raízes, observa-se que os dados se ajustaram a uma equação quadrática positiva, apresentando na dose ideal de 101g Si 100 kg^{-1} de sementes, incremento de 27,17% a mais em relação à dose zero. Enquanto que, para a concentração de Si em hipocótilo e folha, não foram observadas diferenças significativas entre as doses, o mesmo foi observado para a concentração de Ca. Nas raízes as doses de Si reduziram significativamente a concentração de Ca com o incremento das doses (Tabela 7).

Pela análise sanitária, foi possível detectar nas sementes de feijão recobertas com cinza de casca de arroz, fungos de campo como *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., e *Colletotrichum* sp., e fungos de armazenamento *Penicillium* sp. e *Aspergillus* sp. (Tabela 8 e 9).

Tabela 8. Incidência de patógenos em sementes de feijão recobertas com cinza de casca de arroz carbonizada.

Incidência (%)	**Dose de Si** (g 100 kg^{-1} de sementes)					**Média**	**Pr>F**	**CV(%)**
	0	**45**	**90**	**135**	**180**			
Penicillium sp.	9,50	18,00	19,50	14,00	10,50	14,30	*	35,05
Alternaria sp.	19,00	10,50	15,50	10,50	8,00	12,70	*	38,84

	Equação de regressão	**R^2**	**Dose ideal**	**Y_E**
Penicillium sp.	y= 10,27143 + 0,19238 x - 0,00109 x^2	0,88	88	18,75
Alternaria sp.	y= 17,10000 - 0,04889 x	0,61	-	-

* e ns = significativo e não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Para incidência de *Penicillium* sp. os dados se ajustaram a um modelo quadrático positivo em função das doses de Si, atingindo o ponto de máxima na dose de 88g Si 100 kg^{-1} de sementes (Tabela 8). Já para *Alternaria* sp. houve diminuição da incidência com o incremento das doses, o qual apresentou um comportamento linear decrescente, sendo observado na maior dose uma redução de 58% em comparação com a dose zero (Tabela 8).

Fusarium sp., *Colletotrichum* sp. e *Aspergillus* sp. não apresentaram diferenças significativas quanto ao recobrimento nas diferentes doses, porém foi observado na média a maior porcentagem de incidência (81,2%) para *Fusarium* sp. entre os patógenos associados as sementes de feijão, recobertas com cinza de casca de arroz carbonizada (Tabela 9).

Tabela 9. Incidência de patógenos em sementes de feijão recobertas com cinza de casca de arroz carbonizada.

Incidência (%)	**Dose de Si** (g 100 kg^{-1} de sementes)					**Média**
	0	**45**	**90**	**135**	**180**	
Fusarium sp.	79,50^{ns}	78,00	74,50	87,50	86,50	81,20
Colletotrichum sp.	0,50^{ns}	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10
Aspergillus sp.	20,50^{ns}	5,50	12,00	4,00	4,00	9,20

*Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si (P>0,01) segundo teste de Kruskal-Wallis. ns: não significativo.

2.4 Discussão

Os processos de recobrimento das sementes de feijão, com diferentes fontes e doses de Si, não influenciaram a qualidade física das sementes, sendo assim, os diferentes materiais utilizados, juntamente com o polímero e a água, não resultaram em aumento de umidade e nem alteraram a camada física do recobrimento.

Os resultados de teor de água (TA), demostraram que o tempo e a temperatura ambiente foram eficientes para secagem, o qual pode proporcionar um armazenamento seguro das sementes, uma vez que as mesmas não absorveram água (XAVIER et a., 2015). A deterioração das sementes é inevitável e irreversível, podendo ser intensificada durante o armazenamento, resultando consequentemente em perda de vigor e germinação (ZUCARELI et al., 2015). Segundo Conceição e Vieira (2008), a água contida no recobrimento é perdida mais rapidamente que àquela presente na própria semente, sendo que geralmente as sementes recobertas tendem apresentar menores valores de TA, em comparação com as não recobertas, no entanto, não foi observado esse fato no presente trabalho.

Quanto ao peso de mil sementes (PMS), verifica-se que o processo de recobrimento não alterou o peso, mesmo com a utilização de materiais com densidade distintas (Tabela 1), sendo a fonte de Agrosilício® mais densa, com granulometria mais grossa, em relação a casca de arroz carbonizada e o silicato de cálcio, que apresentam uma textura fina, leve e com menor densidade. Porém, apesar da ausência de significância, acréscimos de que variaram de 3,67 (1,48%) a 5,83g (2,33%) para Agrosilício®, de 0,49 (0,20%) a 4,14g (1,66%) para silicato de cálcio, e de 0,62 (0,25%) a 3,12g (1,25%) para casca de arroz carbonizada, foram obtidos a mais em relação à dose zero.

De acordo com Silva e Nascimento (2009), a adição de produtos com doses e densidades muito pequenas, não altera significativamente as propriedades físicas da camada do recobrimento

Os materiais utilizados devem ter boa aderência e serem solúveis em água, para que possa ocorrer a troca gasosa entre a semente e o ambiente externo ao recobrimento. Xavier et al. (2015), observaram que o silicato de cálcio utilizado no recobrimento das sementes, se desmanchava facilmente quando em contato com a água, facilitando as trocas gasosas e a absorção de água pelas sementes, atribuindo boas características físicas para o recobrimento.

Foi possível verificar a diminuição de plântulas normais, no teste de germinação e de vigor (PCG e TF) com o aumento das doses de Si, fornecidas pela fonte de Agrosilício®. Resultados semelhantes ao atraso na germinação em sementes recobertas, também já foram observados por diversos autores (SILVA et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2003; PEREIRA et al., 2005; MEDEIROS et al., 2006; SANTOS et al., 2010). Avelar et al. (2011) ao estudar a resposta de sementes de soja recobertas, concluíram que a diferença de germinação entre os testes, não é atribuída a diminuição de vigor e sim, ao impedimento da germinação pelo revestimento. Entretanto, Oliveira et al. (2016) verificaram que doses crescentes de Si, proporcionaram aumento do número de plântulas normais no teste de PCG em sementes de arroz.

Os materiais utilizados durante o recobrimento, melhoram as características físicas e visuais das sementes, o que por sua vez, pode proporcionar uma barreira mecânica, atrasando assim, a germinação das sementes, devido às baixas trocas gasosas, entre a semente e o ambiente externo ao recobrimento, afetando o suprimento de oxigênio necessário para o processo germinativo e dificultando a emissão da raiz primária. Na falta de oxigênio, ocorre o aumento da produção de etanol nas células, produto tóxico para o metabolismo normal, o que potencializa a má formação das plântulas (MARCOS FILHO, 2015; XAVIER et al., 2015).

Para sementes recobertas com silicato de cálcio e casca de arroz carbonizada, a germinação das sementes não foi influenciada pelas doses, as quais foram iguais ou superior ao mínimo estabelecido para os padrões de sementes que é de 80% (BRASIL, 2013), demostrando dessa forma, que essas fontes de Si, podem ser utilizadas sem que elas afetem a qualidade fisiológica das sementes. Esses resultados estão de acordo com os encontrados em culturas como cevada,

trigo, arroz e tomate (TAVARES et al., 2012, 2014; CORLETT et al., 2014; TUNES et al. 2014; SHI et al., 2014). Entretanto, Shi et al. (2014) ao submeter as sementes de tomate em estresse por déficit hídrico, verificaram que o Si proporcionou aumento na porcentagem de germinação.

Plântulas normais do teste de envelhecimento acelerado (EA) e teste frio (TF), não foram influenciadas pelas doses de Si nas diferentes fontes, exceto para Agrosilício® no TF. O princípio desses testes, se baseia na resistência das sementes quando submetidas a uma condição de estresse, aos quais expõem às sementes a temperatura e umidade relativa elevada (EA) ou, a baixas temperaturas e alta umidade (TF), desta forma supõe-se que sementes vigorosas, têm mais chances de sobrevivência às condições adversas em ambiente de cultivo. Tavares et al. (2014), observaram que sementes de trigo recobertas com as maiores doses de Si (Microton® 26% de Si), proporcionaram menor perda de viabilidade quando as sementes foram submetidas ao teste de EA. Azimi et al. (2014), sugerem que os efeitos benéficos do Si podem estar relacionados a natureza hidrofílica, através do aumento da estabilidade dos lipídios em membranas celulares, o qual impede a deterioração e desestruturação funcional das membranas, quando expostas a condições adversas de ambiente.

A obtenção de plântulas vigorosas é de fundamental importância, pois o nível de vigor afeta o estabelecimento da cultura, o desenvolvimento das plantas, a uniformidade da lavoura e consequentemente a sua produtividade (MONDO et al., 2016).

Foi possível verificar que as fontes de Si apresentaram resultados positivos ao aumento das doses, para as diversas variáveis de crescimento e produção de massa seca de plântulas de feijão, determinadas aos cinco DAS. A fonte de Agrosilício® apresentou as melhores respostas entre as doses de 90 à 116g Si 100 kg^{-1} de sementes, enquanto o silicato de cálcio respondeu favoravelmente ao incremento das doses, já para a casca de arroz carbonizada, essa influência positiva foi verificada entre as variáveis somente na massa seca total de plântulas (MSTP), até a dose de 100g Si 100 kg^{-1} de sementes. Esses resultados corroboram com outros trabalhos, o qual demonstram que o Si é um elemento benéfico, que influencia positivamente na taxa de crescimento e no desenvolvimento das plântulas nos estágios iniciais, quando fornecidos via recobrimento de sementes (TAVARES et

al., 2012; CORLETT et al., 2014; JANMOHAMMADI; SABAGHNIA, 2015; RUFINO et al., 2017).

Incremento positivo em torno de 20% no comprimento de raiz, foi observado por Tunes et al. (2014), em sementes de arroz irrigado recobertas com casca de arroz carbonizada, na dose de 120g Si 100 kg^{-1} de sementes, no entanto, não obtiveram resposta para o comprimento de parte aérea. Delavar et al. (2017) e Marodin et al. (2014), também observaram incremento em torno de 25% na massa seca de plântulas de milho e tomate, respectivamente, com o fornecimento de Si. De acordo com Delavar et al. (2017), o Si aumenta o nível de auxina, fitohormônio importante para o alongamento celular, desenvolvimento e crescimento das plântulas, o qual está presente durante e após a germinação das sementes (TAIZ; ZEIGER, 2013). Nas raízes ocorrem as maiores modificações proporcionadas por esse elemento, favorecendo as atividades radiculares e essas a absorção de nutrientes (CHEN et al., 2011; WANG et al., 2015). O Si é depositado no retículo endoplasmático, paredes celulares e espaços intercelulares, como sílica amorfa hidratada ($SiO_2.nH_2O$), também na forma de complexos de polifenóis, possuindo um efeito análogo ao da lignina como componente estrutural, o qual promove resistência a parede celular (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Para as variáveis de qualidade fisiológica avaliados em casa de vegetação, verificamos que as diferentes doses e fontes de Si via recobrimento de sementes, não interferiram no estabelecimento das plântulas de feijão e nem no índice de velocidade de emergência, exceto para a casca de arroz carbonizada no IVE. Essa fonte de Si, proporcionou as sementes um atraso na emergência, porém não comprometeu o estabelecimento final do estande, indicando assim que as sementes foram capazes de se recuperar com o tempo. Vale ressaltar também, que para a fonte de Agrosilício® o comportamento do desenvolvimento de plântulas normais na emergência final, foi diferente dos que foram encontrados pelos testes realizados em câmara de germinação, pois as sementes conseguiram durante a emergência, superar a barreira física imposta pelo recobrimento, o qual não interferiu no estabelecimento do estande e nem no IVE, uma vez que as doses crescentes de Si, afetaram negativamente o número de plântulas normais nos testes de germinação e vigor (PCG e TF). Tavares et al. (2011) e Corlett et al. (2014), verificaram que o recobrimento das sementes com Si não comprometeu a emergência das plântulas

de arroz e cevada, respectivamente. Enquanto Tunes et al. (2014), constataram aumento linear de plântulas emergidas com o incremento das doses de Si.

Estudos com nanopartículas de Si em sementes, demostraram que os efeitos benéficos proporcionados por esse elemento, são mais pronunciados em baixas concentrações, pois ao aumentar as concentrações em torno da semente, essas acumulam nos tecidos epidérmicos, melhorando a sustentabilidade da parede celular, mas retardando a emissão da radícula e a germinação das sementes, por conseguinte afeta o crescimento e desenvolvimento das plântulas (JANMOHAMMADI; SABAGHNIA, 2015). Por outro lado, esse fortalecimento da parede celular, assim como a ativação de componentes bioquímicos mediados pelo Si, confere resistência às plantas contra estresses bióticos e abióticos (DEBONA et al., 2017).

O comprimento de parte aérea aos 21 dias após a semeadura (CPA21d), foi influenciado significativamente entre as fontes de Si com o incremento das doses. No entanto, tanto para o crescimento como a produção de massa seca de plântulas, os resultados foram mais expressivos para a fonte de Agrosilício®, quando avaliados em casa de vegetação. Já para a fonte de casca de arroz carbonizada, poucas variáveis respostas quanto a qualidade fisiológica das sementes foram significativas ao incremento das doses, tanto em laboratório, como em casa de vegetação, somente a MSTP e CPA21d apresentaram resultados positivos, respectivamente até a dose de 101g Si 100 kg^{-1} de sementes, e demostrando dessa forma que apesar da fonte possuir cerca de 83,45% de Si, esse elemento pode não estar totalmente disponível no meio, podendo estar assim, na forma amorfa com alto grau de organização, cuja a liberação seja lenta com baixa solubilidade (DEUS; BÜLL, 2013).

Vale ressaltar que o maior crescimento das plântulas pode incrementar o aproveitamento da radiação solar disponível no início do ciclo, importante para o processo fotossintético, bem como raízes bem desenvolvidas proporcionará maior área de exploração e captação de nutrientes e água (TAIZ; ZEIGER, 2012).

Quanto a massa seca de raiz aos 21 dias após a semeadura (MSR21d), verificou-se que independente da fonte de Si, com o aumento das doses houve redução na produção da massa seca das raízes, até as doses 104; 111 e 135g Si 100 kg^{-1} de sementes, para casca de arroz carbonizada, Agrosilício® e silicato de cálcio, respectivamente. No entanto, não comprometeu o desenvolvimento da parte aérea das plântulas. Efeito semelhante foi observado por Ribeiro et al. (2011) em

mudas de café e Farias Júnior et al. (2009) em arroz, quando as plantas foram supridas com elevadas doses de Si. O crescimento das raízes varia conforme os níveis de nutrientes, quando excedem um nível ótimo o crescimento se torna limitado (DURIEUX et al., 1994), e mesmo ocorrendo a diminuição da alocação dos recursos para as raízes, a alocação para a parte aérea não para (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os resultados da avaliação da massa seca de raiz (MSR) das plântulas, quando realizadas em ambiente controlado e padronizado, através do método de folha de papel germitest, não seguiu a mesma tendência na redução da massa seca das raízes aos 21 DAS (MSR21d), talvez o tempo de avaliação pode ter influenciado nos resultados, uma vez que o teste em laboratório foi realizado com cinco dias e o de casa de vegetação em 21 dias.

Segundo Delavar et al. (2017), o Si aumenta os níveis de auxina em plântulas, porém as raízes precisam de uma quantidade de concentração mínima para crescer, desta forma podemos supor que, com o aumento das doses de Si, aumenta a concentração de auxina nas raízes, as quais podem ter afetado na produção de massa seca.

Para a concentração de Si em feijão, verificou-se que as fontes se comportaram de forma distinta entre as partes da plântula. As fontes de silicato de cálcio e casca de arroz carbonizada, responderam de forma significativa entre as doses de Si nas raízes, chegando os maiores incrementos da concentração até as doses de 48 e 101g Si 100 kg^{-1} de sementes, respectivamente, além de incremento crescente em hipocótilos na fonte de silicato de cálcio. Entretanto, a concentração de Si nas folhas, só foi influenciada significativamente e positivamente pelas doses na fonte de Agrosilício®. Deus e Büll (2013), verificaram um incremento de 11,53% no teor médios de Si em parte área de feijão, quando as plantas foram supridas com silicato de cálcio e magnésio, já Alovis et al. (2014), observaram aumento linear com a aplicação de doses de Si no solo. De acordo com Oliveira (2009), o feijão absorve Si de forma rápida e intensa no início do seu desenvolvimento, sendo que essa tendência de deposição e acúmulo está diretamente relacionada com o aumento da produção de matéria seca.

Em relação a concentração média de Si em raiz, hipocótilo e folha, observa-se que existe uma maior concentração do elemento nas raízes das plântulas de feijão. Tal deposição do elemento nas raízes também já foi relatada em outras espécies, como tomate (HUANG et al., 2011), café (RIBEIRO et al., 2011) e

pimentão (FRENCH-MONAR et al., 2010). Essa maior retenção da concentração de Si nas raízes, provavelmente ocorre devido à baixa atividade dos transportadores do processo de absorção/transporte de espécies como feijão, que ocorrem predominantemente por difusão passiva ou metabolicamente controlada, dependendo do teor de Si no meio (MITANI; MA, 2005). A maior parte de Si nas raízes é constituinte da parede celular, sendo observado aumento da expansão celular, lignificação e suberização na presença do Si, o que pode beneficiar as plântulas durante os estágios iniciais, como pela maior resistência a doenças radiculares por exemplo, entre outros fatores que interferem no desenvolvimento satisfatório das plântulas (HEINE et al., 2005; HUANG et al., 2011; FLECK et al., 2011; MERWAD et al., 2018).

Quanto a concentração de Si em parte aérea de plântulas de feijão, esses resultados confirmam o que são encontrado na literatura, o qual classifica essa espécie como uma planta não acumuladora, devido à baixa capacidade de acumular o Si na matéria seca na parte aérea ($\leq$5 g kg^{-1}) (LIANG et al., 2006). Enquanto que as plantas classificadas como acumuladoras, apresentam absorção ativa do elemento mediada por transportadores específicos, como Lsi1 (do solo para a raiz), Lsi2 (da raiz para o xilema) nas células das raízes e Lsi6 na parte aérea, apresentando uma acumulação de Si na matéria seca da parte aérea superior a 10 $g.kg^{-1}$ (JONES; HANDRECH, 1987; MA et al., 2006, 2007; TUBANA et al., 2016).

Para a concentração de cálcio em plântulas de feijão, verificou-se que o incremento das doses de Si afetou negativamente a concentração de cálcio, em folhas pela fonte silicato de cálcio e em raiz, pela casca de arroz carbonizada. Entretanto, somente para a fonte de Agrosilício® houve aumento da concentração do elemento na raiz, até a dose de 96g Si 100 kg^{-1} de sementes.

Decréscimo do teor de Ca e outros nutrientes foram verificados por Cunha et al. (2012) em mudas de cafeeiro, Zanão Júnior et al. (2013) em rosas e Freitas et al. (2015) em arroz, quando as plantas foram supridas com Si. Segundo Marschner (1995), existe uma relação inversa entre a necessidade de Ca pelas plantas e a habilidade desse nutriente em absorver o Si, tendo o Ca sua função afetada na presença do Si, provavelmente por competir por ligações dentro da parede celular, já que o Si é depositado nas paredes celulares e em espaços intercelulares como uma fina camada de sílica amorfa e o Ca, participa da formação de paredes celulares (DAYOD et al., 2010).

Quanto a sanidade das sementes, sabe-se que os patógenos quando associados às mesmas ou presentes no solo, podem levar a redução da germinação, emergência e crescimento das plântulas (MARCENARO; VALKONEN, 2016). No entanto, o transporte de patógenos nas sementes não implica necessariamente na sua transmissão (MACHADO; SOUZA, 2009). Segundo Braga et al. (2003), são sempre os mesmos os patógenos associados às sementes de feijão no Brasil e esses, podem causar sérios danos nas sementes. Foram considerados patogênicos a cultura o *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp., *Penicillium* sp. e o *Aspergillus flavus*, os quais causaram deterioração das sementes, podridão das raízes e caules, murcha, necrose e morte das plântulas (MARCENARO; VALKONEN, 2016).

O Si vem sendo utilizado no controle de doenças em muitos patossistemas, contribuindo na estratégia de controle integrado de doenças, através do aumento da resistência das plantas por meio da nutrição mineral, o qual colabora para a redução da utilização de fungicidas no sistema agrícola (MARODIN et al., 2014; SOUZA et al., 2015).

O processo de recobrimento é uma técnica menos agressiva ao meio ambiente, que favorece o contato do micronutriente com as primeiras raízes emitidas, durante a germinação e emergência das plântulas (TUNES et al., 2012; CORLETT et al., 2014). Os nutrientes por sua vez, devem ser facilmente absorvidos pelo sistema radicular, a fim de proporcionar melhores condições para um crescimento rápido e vigoroso, para que as plântulas escapem da infecção inicial causada pelos patógenos, que estão tanto associadas as sementes como os que estão presente no solo, principalmente durante o período inicial de desenvolvimento (CORLETT et al., 2014; TUNES et al., 2014; LAMICHHANE et al., 2017).

Resultados benéficos da utilização do Si, foram verificados na cultura do arroz, por Dallagnol et al. (2013), na redução de *Bipolares oryzae* em plântulas e por Tunes et al. (2014), no controle de incidência de fungos nas sementes, entretanto Roma-Almeida et al. (2016), não verificaram a redução da incidência dos patógenos nas sementes de arroz, produzidas com diferentes doses e fontes de Si.

O recobrimento das sementes de feijão com as diferentes fontes e doses de Si, não eliminaram os patógenos associados as sementes, os quais na grande maioria ocorreram de forma esporádica entre as doses de Si.

A maior incidência média entre os patógenos ocorreu para o *Fusarium* sp., independente do tratamento. Mambrin et al. (2015), também constataram a presença desse gênero predominantemente em sementes de linhagens de feijão, produzidas na região central do Rio Grande do Sul. O *Fusarium* sp. causa podridão da raiz, colo e hipocótilo, o qual compromete todo o sistema vascular das plântulas de feijão (MARCENARO; VALKONEN, 2016). Já o *C. lindemuthianum*, apresentou uma das mais baixas porcentagens de incidência nas sementes, independente do recobrimento com doses e fontes de Si. Vale ressaltar que esse fungo, apresenta um elevado poder disseminação e destruição das lavouras mesmo ocorrendo em baixas porcentagens, principalmente quando encontra condições ambientais favoráveis para o seu desenvolvimento, sendo considerada uma praga de alto risco e que quanto maior quantidade de inóculo nas sementes, maior será a incidência e a severidade da doença no campo (SILVA et al., 2013; MARCENARO; VALKONEN, 2016; PEREIRA et al., 2018).

Desta forma, o recobrimento das sementes com as diferentes fontes de Si, pode se enquadrar como um tratamento funcional, onde potencializa o papel das sementes como agente veiculador de um produto benéfico, durante os estágios iniciais da cultura, devido ao fornecimento adequado do elemento e fazendo com que as plântulas respondam favoravelmente, cresçam de forma vigorosa e com melhor qualidade, apesar de não ter controlado os patógenos associados as sementes de feijão.

2.5 Conclusões

O recobrimento das sementes composto por Agrosilício®, casca de arroz carbonizada e silicato de cálcio não altera a qualidade física das sementes.

Doses crescentes de Si proporciona plântulas vigorosas sem comprometer a emergência final.

Silicato de cálcio e CAC em diferentes doses elevam as concentrações de Si na raiz, mas reduz a concentração de cálcio (Ca), enquanto que o Agrosilício® aumenta a concentração de Si em folha e do Ca na raiz.

Diferentes fontes e doses de Si, não controlam patógenos associados as sementes de feijão.

3 CAPÍTULO II - Mecanismos de defesa em plântulas de feijão desencadeados pelo silício contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*

3.1 Introdução

A murcha de Fusarium é uma das mais graves doenças do sistema vascular da cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) (XUE; WU, 2014). Ela é causada pelo fungo *Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *phaseoli* Kendrick & Snyder (FOP), que sobrevive por longos anos no solo, fragmentos de restos culturais e em sementes infectadas, as quais apresenta um dos meios mais eficaz de disseminação a longas distâncias, uma vez introduzido na área, torna a sua erradicação praticamente impossível (SILVA et al., 2014; HENRIQUE et al., 2015).

A penetração do fungo no hospedeiro ocorre, geralmente, próxima à ponta das raízes, mas pode ocorrer, também, por ferimentos e aberturas naturais. Inicialmente, o patógeno coloniza os espaços inter e intracelular do córtex e, rapidamente, atinge os vasos do cilindro central do xilema, onde se espalham ao longo dos vasos, ocorrendo a invasão das partes superiores da planta, produzindo assim uma grande quantidade de microconídios dentro dos vasos do xilema. A rapidez da colonização vai depender da agressividade do patógeno, o qual vai proporcionar o colapso dos vasos, prejudicando drasticamente o transporte de água para a parte aérea, induzindo os sintomas típicos da doença, como na redução de crescimento, amarelecimento das folhas, murcha e morte das plântulas e plantas (SILVA et al., 2014; NIÑO-SÁNCHEZ et al., 2015; XUE et al., 2015; GARCÉS-FIALLOS et al., 2017).

Com a finalidade de reduzir a intensidade da doença, algumas estratégias de manejo envolvem o uso de sementes sadias, para evitar a introdução do patógeno nas áreas (MARCENARO; VALKONEN, 2016), rotação de culturas (BATISTA et al., 2017) e a utilização de cultivares resistentes (BORBA et al., 2017; GARCÉS-FIALLOS et al., 2017). Todavia, o patógeno apresenta alta variabilidade e virulência

(HENRIQUE et al., 2015), o que dificulta o desenvolvimento de novas cultivares resistentes, além de que são poucos os materiais genéticos que conferem essa resistência completa (XUE et al., 2015; PEREIRA et al., 2018). Borba et al. (2017), observaram que o fungo causa perdas mesmo em cultivares consideradas resistentes, verificando a diminuição dos componentes de rendimento e chegando drasticamente a morte total das plantas em cultivares mais suscetíveis da cultura do feijão. Desta forma, tendo em vista o potencial de dano da murcha de Fusarium e a disponibilidade limitada de medidas efetivas para o seu controle, torna-se pertinente a busca de novas estratégias que complementam a redução do dano e o aumento da resistência do feijão durante o estabelecimento inicial da cultura.

Uma das medidas alternativas é através da utilização de silício (Si), pois esse elemento apresenta resultados efetivos na redução de doenças em vários patossistemas, além de proporcionar melhor desenvolvimento vegetativo às culturas (DEBONA et al., 2017). O Si potencializa os mecanismos de defesa das plantas contra patógenos, como na formação de uma barreira física, estando envolvido no reforço da parece celular, através da resistência bioquímica, pela ativação de enzimas de defesa, e a nível molecular, regulando a expressão de genes envolvidos nas respostas de defesa (WANG et al., 2017). Os melhores resultados quanto à redução da intensidade de doenças são observados quando o elemento é absorvido pelo sistema radicular, pois o Si se encontra na forma solúvel dentro da planta (DALLAGNOL et al., 2015). Assim, o processo de recobrimento das sementes com nutrientes, pode ser uma alternativa que possibilita o contato do elemento com as primeiras raízes emitidas durante o processo de germinação e emergência da cultura (TUNES et al., 2012; CORLETT et al., 2014).

Efeitos benéficos sobre o crescimento das plântulas a partir de sementes recobertas com Si, foram verificados em arroz (TUNES et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2016), cevada (CORLETT et al., 2014) e soja (RUFINO et al., 2017), em condições normais de cultivo. No entanto, não há informações sobre os efeitos do Si em plântulas de feijão sobre condição de estresse causado por patógenos, em especial o *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, tanto pelo desempenho do desenvolvimento inicial da cultura como em nível bioquímico.

Em tomate, o acúmulo de Si nas raízes foi significativamente correlacionado com a redução da gravidade da doença causada por *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, devido ao atraso do início da infecção nas raízes e o movimento do

patógeno para a coroa e hipocótilos (HUANG et al., 2011). O Si proporcionou aumento da resistência do feijão a antracnose, que foi associada à regulação positiva das enzimas antioxidantes como no aumento da superóxido dismutase, ascorbato peroxidase, glutationa redutase, lipoxigenases, fenilalanina amônia liases e na concentração de metabólitos como a lignina. Além disso, contribuiu na redução de sintomas de antracnose e o aumento da concentração de Si em folhas de feijão (POLANCO et al., 2012; POLANCO et al., 2014; CRUZ et al., 2014). Em mudas de bananeira, Fortunato et al. (2012), observaram que os sintomas de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*, diminuíram nas raízes supridas com Si, devido ao aumento dos compostos fenólicos solúveis totais, derivados de lignina-ácido tioglicólico, além das maiores atividades da fenilalanina amônia liases, peroxidases, polifenoloxidases, *b*,1-3 glucanase e a quitinases. O fortalecimento da parede celular, através do aumento da concentração de Si e da lignina nos tecidos radiculares, contribuiu para o aumento da resistência de mudas de bananeira contra a murcha de Fusarium (FORTUNATO et al., 2014), e em algodão proporcionou acumulação de compostos fenólicos e de lignina em células endodérmicas, as quais foram ativadas rapidamente e intensamente gerando repostas defensivas nas células contra o *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* (WHAN et al., 2016).

Desta forma, para aumentar a compreensão dos mecanismos envolvidos no controle do *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, conferidos pelo recobrimento das sementes com diferentes fontes de Si, o presente estudo objetivou verificar o desempenho das plântulas durante a emergência, assim como na expressão dos mecanismos bioquímicos envolvidos nas respostas de defesa pós infecção em diferentes momentos, através da mensuração do potencial fisiológico das sementes/plântulas e das atividades das enzimas oxidorredutoras ligadas ao estresse oxídativo (superóxido dismutase, catalase, peroxidase e lipoxigenase), hidrolases que tem ação direta sobre os constituintes da parede celular do patógeno (quitinase), e da resistência devido a respostas de defesa como o acúmulo de compostos fenólicos, derivados de lignina e concentração de Si em plântulas de feijão.

3.2 Material e Métodos

O estudo foi realizado na Universidade Federal de Pelotas, na sala de incubação do Laboratório de Patologia de Sementes e no Laboratório de Interação Planta Patógeno da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel FAEM/UFPel, Capão do Leão – RS.

3.2.1 Sementes utilizadas

Sementes de feijão, cultivar BRS Expedito, obtidas na safra 2014/2015, com germinação inicial de 82%, foram desinfestadas numa sequência de imersão em álcool 70% (v/v), hipoclorito de sódio 1% (v/v) e três imersões em água destilada e esterilizada, durante 60 segundos em cada etapa (JUNGES et al., 2017). Posteriormente, as sementes foram postas para secar sob papel filtro, em temperatura ambiente, por 48 h.

3.2.2 Inoculação em sementes de feijão *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*

O isolado UFSMFOP01 de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* utilizado no estudo, foi fornecido pelo Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal de Santa Maria, o qual foi isolado a partir de fragmentos de caule de plantas de feijão sintomáticas, coletadas em área de produção de sementes no município de Primavera do Leste, MT.

O fungo foi repicado em placas com meio de cultura de batata-dextrose-agar (BDA) modificado (restrição hídrica) com soluto sacarose (-0,6MPa) e incubados em câmara de crescimento por 15 dias, a temperatura de 20 ± 1ºC e com fotoperíodo de 12 h (COSTA et al., 2003). As sementes de feijão foram distribuídas aleatoriamente sobre as placas e, levemente prensadas sobre o meio completamente colonizado pelo fungo, enquanto que para o tratamento contendo sementes não inoculadas (artificialmente), foram somente acondicionados sobre o meio de cultura modificado, por 48 h, em temperatura de 20ºC e fotoperíodo de 12h. Em seguida as sementes foram removidas e distribuídas sobre papel filtro, em temperatura controlada de 20ºC, por 48h, para que pudessem retornar ao teor de água inicial. Posteriormente,

foi realizada a avaliação de sanidade das sementes através do Blotter test (BRASIL, 2009b), sendo então confirmado a contaminação das sementes artificialmente com 100% de incidência, enquanto as que as sementes não inoculadas não apresentaram infestação com o patógeno. Logo as sementes foram submetidas ao processo de recobrimento com Si.

3.2.3 Aplicação das fontes de silício

O Si foi fornecido na forma de silicato de cálcio e magnésio (Agrosilício®, composto de 10,5% de Si, 25% de cálcio e 6% de magnésio) e cinza de casca de arroz carbonizada (CAC, com 83,45% de Si). A forma de aplicação consistiu de recobrimento das sementes, na dose de 90g de Si para 100 kg^{-1} de sementes, mais polímero (300mL) e água (700mL) totalizando um volume de calda de 1L para 100 kg^{-1} de sementes.

O processo de recobrimento foi realizado manualmente, em sacos plásticos de polietileno, sendo previamente feito uma mistura com água, polímero e as respectivas fontes de Si no interior do saco plástico e posteriormente, adicionado 200g de sementes, agitados por 2 minutos, até que o produto ficasse aderido completamente. Após o processo de recobrimento, para que ocorresse a secagem, os sacos contendo as sementes foram abertos e colocados para secar em temperatura controlada de 20ºC por 48h. No tratamento controle, sem o recobrimento com Si (-Si) as sementes somente receberam uma calda de água mais polímero.

3.2.4 Semeadura

O solo utilizado foi do tipo Planossolo Hidromórfico Eutrófico Solódico, com textura franco-arenosa, pertencente à unidade de mapeamento de Pelotas-RS (STRECK et al., 2008). As características químicas do solo foram de pH em H_2O de 5,0; 8,5mg dm^{-3} de P; 66mg dm^{-3} de K; 0,3cmolc dm^{-3} Ca; 0,4cmolc dm^{-3} Mg; 1,6cmolc dm^{-3} Al; 4,2cmolc dm^{-3} H+Al; 0,9cmol dm^{-3} SB; 5,1mg dm^{-3} CTC; 17,6% V; MO 16,4g dm^{-3} e 6mg kg^{-1} de Si.

A semeadura foi realizada em copos plásticos de 700mL, contendo aproximadamente 400g de solo e vermiculita, na proporção 2:1 (v/v), distribuindo

cinco sementes por copo, em profundidade de 2cm. Primeiramente, o solo foi peneirado e, juntamente com a vermiculita, foram esterilizados em autoclave por duas vezes (120ºC e 1atm, durante uma hora, com intervalo de 24h). Após a semeadura, os copos foram umedecidos com água, obedecendo à capacidade de campo de 60% de retenção, sendo então incubados em sacos plásticos fechados (para promover uma câmera úmida) por 96h. Os tratamentos foram mantidos em sala de incubação com ambiente controlado de temperatura em 20 ± 1ºC e fotoperíodo de 12h e irrigados sempre que necessário.

3.2.5 Delineamento experimental

O estudo foi separado em dois experimentos, o primeiro foi utilizado para avaliar o desempenho inicial das plântulas de feijão e o segundo para verificar a incidência e a severidade da doença em plântulas e as análises bioquímicas.

3.2.6 Experimento 1 - Efeito da inoculação com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e do recobrimento de sementes com silício sobre o desempenho inicial de plântulas de feijão

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2, constituindo de três fontes de Si [Agrosilício®, CAC e o controle (-Si)] e inoculação das sementes (inoculadas ou não com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*), utilizando-se quatro repetições. Cada repetição foi constituída de 50 sementes (10 copos plásticos, contendo 5 sementes cada), totalizando 200 sementes por tratamento para a avaliação da emergência de plântulas.

Foram realizadas avaliações diária, até 13 dias após a semeadura (DAS), sendo contabilizadas na emergência final as sementes mortas, as plântulas anormais infectadas (sintomáticas) e as plântulas normais (aquelas que apresentavam as folhas primárias expandidas), com resultados expressos em porcentagens (NAKAGAWA, 1999).

Para avaliar o efeito da inoculação com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e do recobrimento de sementes com as fontes de Si sobre o desempenho inicial de plântulas de feijão, as sementes foram submetidas aos testes de emergência, índice de velocidade de emergência (IVE), comprimento de parte aérea, massa seca de

raiz, hipocótilo e folha, determinação da concentração de Si em plântulas e quantificação da faseolina em hipocótilos de feijão.

Os dados da avaliação diária da emergência foram utilizados para determinar o IVE. Para tal, para cada repetição, foi aplicada a fórmula de Maguire (1962):

IVE: $(E_1 \div N_1) + (E_2 \div N_2) + ... + (En \div Nn)$

Onde: IVE: índice de velocidade de emergência; E_1, E_2, Em: número de plântulas normais computadas na primeira, segunda e última contagem e N_1, N_2, Nn: número de dias entre a semeadura e a primeira, segunda e última contagem.

A avaliação do comprimento de parte aérea foi realizada após a contagem final do teste de emergência, em dez plântulas normais de cada repetição que, após serem coletadas aleatoriamente, foram lavadas em água corrente. Posteriormente, com o auxílio de uma régua graduada, determinou-se o comprimento da parte aérea das plântulas, sendo os resultados expressos em centímetros por plântula.

Para a determinação da massa seca, as plântulas avaliadas no teste de comprimento foram separadas em raiz, hipocótilo e folha e acondicionadas em sacos de papel, permanecendo em estufa de ventilação de ar forçado, regulada à temperatura de 70ºC por 72h. A massa seca total de parte aérea foi obtida pelo somatório da massa seca do hipocótilo e a massa seca da folha. Os resultados foram expressos em gramas por plântula.

Ao final do experimento do teste de emergência, as plântulas restantes dos tratamentos e repetições, foram separadas para a realização da determinação da concentração de Si em raiz, hipocótilo e folha. As plântulas coletadas foram lavadas com água deionizada e separadas em suas respectivas partes, secas a 70ºC durante 72h e após trituradas em moinho com peneira de 40 mesh. A concentração de Si (em g kg^{-1}) foi determinada com base na análise colorimétrica de digestão alcalina de 0,1g de tecido seco (KORNDÖRFER et al., 2004).

Para a quantificação da faseolina em hipocótilos de feijão foi utilizado a metodologia proposta por Dixon et al. (1983), com modificações. Para tal, as sementes de feijão provenientes dos tratamentos, foram distribuídas uniformemente, em quatro repetições de 10 sementes por tratamento, em rolo de papel germitest e umedecidas com água destilada na proporção de 2,5 vezes a massa do papel seco. Os rolos de papel foram acondicionados em sacos plásticos contendo pequenas perfurações e depositados, verticalmente, em câmera tipo BOD, a 25ºC, no escuro. Após sete dias, quatro segmentos com 4cm, da região central do hipocótilo, foram

destacados das plântulas e pesados em balança de precisão (0,001g), sendo então transferidos para tubos de ensaio, contendo 10mL de etanol 98%. Os tubos de ensaio foram mantidos a 4ºC por 48h, e posteriormente agitados em mesa agitadora, a 150rpm, com temperatura de 25ºC por uma hora, para extração da faseolina. A concentração da faseolina foi mensurada em espectrofotômetro, a 280nm. Os resultados foram expressos em unidade de absorbância por grama por massa fresco.

3.2.7 Experimento 2- Incidência e severidade da doença e análises bioquímicas em plântulas de feijão

Para avaliar o efeito do recobrimento das sementes com as fontes de Si na expressão dos mecanismos de defesa e sobre a incidência e severidade da doença em plântulas de feijão, utilizou-se delineamento experimental inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2 x 5, constituído de três fontes de Si [Agrosilício®, CAC e o controle (-Si)], efeito da inoculação (sementes inoculadas ou não com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*) e o tempo de amostragem após a inoculação [120; 168; 216; 264 e 312 horas após a inoculação (hai)], com quatro repetições (compostas por treze copos, com cinco plântulas cada).

Para cada tempo de coleta foram escolhidas, aleatoriamente, 10 plântulas de cada repetição, sendo amostradas assim, 40 plântulas inoculadas e 40 plântulas não inoculadas por tratamento [Agrosilício®, CAC e o controle (-Si)], sendo as mesmas avaliadas quanto à incidência de sintomas da doença em cada tempo de coleta.

As análises foram efetuadas na parte aérea das plântulas, sendo estas separadas em folhas primárias e hipocótilo. As plântulas provenientes das sementes não inoculadas foram utilizadas como controle nas análises bioquímicas. As amostras após a avaliação da incidência, foram imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e, após, armazenadas em ultra freezer (-80ºC) até a efetivação das análises. Nestas amostras, foram determinadas as concentrações de compostos fenólicos solúveis totais e derivados de lignina-ácido tioglicólico, assim como a atividade das enzimas superóxido dismutase, catalase, peroxidase, lipoxigenase e quitinases.

A avaliação da incidência da doença em plântulas de feijão, foi realizada em cada tempo de amostragem (120, 168, 216, 264 e 312 hai), verificando-se

visualmente os sintomas típicos da doença de acordo com o que foi apresentado no Anexo A, para raiz, hipocótilo e folhas primárias de dez plântulas escolhidas aleatoriamente. As plântulas foram coletadas, lavadas em água corrente e, em seguida, realizada a avaliação. Os resultados foram expressos em porcentagem de incidência de sintomas (MAFFIA et al., 2007). Também foi determinado, no último tempo de amostragem (312 hai), a severidade final da doença, utilizando as notas descritas no Anexo A, para raiz, hipocótilo e folha.

Para a quantificação de compostos fenólicos solúveis totais (CFST) e derivados de lignina-ácido tioglicólico (DLATG) foram utilizadas amostras de 0,1g de tecido, as quais foram maceradas em almofariz e pistilo, com auxílio de nitrogênio líquido. O conteúdo da maceração foi transferido para tubo de microcentrífuga e homogeneizado com 1,5mL de metanol 80% (v/v). Em temperatura ambiente, o extrato permaneceu em uma mesa agitadora a 200rpm por 12h. Posteriormente, o extrato metabólico foi centrifugado a 12.000 x g por 4 minutos e o sobrenadante foi transferido para outro microtubo, para a realização da determinação da CFSTs, sendo o resíduo armazenado em ultra freezer (-80ºC), para posteriormente ser determinada a concentração de derivados de lignina-ácido tioglicólico (DLATG).

Pelo método de Zieslin e Bem-Zaken (1993), com modificações, foi determinado os CFSTs. Um volume de 0,75µL do reagente Fenol Folin-Ciocalteu (0,25N) (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil); 0,75µL do extrato metabólico; 0,75µL de carbonato de sódio (1M), mais 1,5mL de água destilada foram utilizados para o extrato metabólico de folha. Para o hipocótilo, foram utilizados 160µL do reagente fenol folin-ciocalteu (0,25N); 160µL do extrato metabólico; 160µL de carbonato de sódio (1M) (Synth, Brasil), mais 1,5mL de água destilada para realizar a leitura da folha e do hipocótilo em espectrofotômetro a 725nm (Bel® modelo UV-UM51). Os resultados foram expressos em µg de CFST g^{-1} de matéria fresca.

O resíduo alcoólico-insolúvel seco, obtido após a extração dos CFSTs, que continha lignina e ácidos fenólicos associados à parede celular, foi utilizado para a determinação da concentração de derivados de lignina-ácido tioglicólico (DLATG), de acordo com a metodologia proposta por Barber e Ride (1988). Para tanto, o resíduo seco foi homogeneizado com 1,5mL de água destilada e centrifugado a 12.000 x g durante 10 minutos; após, o sobrenadante foi descartado e o precipitado, colocado em estufa a 65ºC por 24h. O resíduo seco foi reidratado com 1,5mL de solução ácido tioglicólico e HCl a 2 N (1:10), agitado levemente e depois colocados

em banho-maria por 4h a 100ºC. Em seguida, os microtubos foram colocados por 10 minutos em gelo (4ºC). Posteriormente, a mistura foi centrifugada a 12.000 x g por 10 minutos, e o sobrenadante resultante foi descartado e o precipitado lavado com 1,5mL de água destilada e centrifugado novamente a 12.000 x g durante 10 minutos. Logo após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspendido em 1,5mL de NaOH a 0,5N. Em temperatura ambiente, a mistura permaneceu por 12h em mesa agitadora (200rpm), sendo que transcorrido este período, os microtubos foram centrifugados por 10 minutos a 12.000 x g e o sobrenadante foi transferido para um novo tubo. Ao sobrenadante, adicionou-se 200µg de HCl concentrado, sendo os tubos transferidos para a geladeira, onde permaneceram por 4h, para que ocorresse a precipitação dos derivados da DLATG. Após, realizou-se uma nova centrifugação por 10 minutos a 10.000 x g, sendo o sobrenadante descartado e o precipitado dissolvido em 2mL de NaOH a 0,5N. Em espectrofotômetro, a 280nm, foi medida a absorbância dos derivados da DLATG e a concentração expressa em µg g^{-1} de MF, utilizando uma curva padrão obtida com diferentes concentrações de lignina alcalina, éter 2-hidroxipropil (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO).

Para as atividades das enzimas, amostras de 0,5g de tecido foliar e de hipocótilo foram maceradas com pistilo em um almofariz contendo nitrogênio líquido até a obtenção de um pó fino. Posteriormente, o pó foi homogeneizado com solução de extração, composta de tampão fosfato de potássio (100mM pH6,8) que inclui fluoreto de fenilmetilsulfonil (1mM) e polivinilpolipirrolidona (40mg). Em seguida, o homogeneizado foi centrifugado a 12.000 x g durante 15 minutos a 4ºC e logo após, o sobrenadante foi utilizado para determinar as atividades enzimáticas.

A atividade superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1), foi determinada por meio da quantificação colorimétrica da foto-redução do azul de nitrotetrazólio (NBT) (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) (RIBEIRO et al., 2014), em um meio de reação contendo 1.000µL fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8), 400µL metionina 70mM, EDTA 10µM, NBT 1mM, riboflavina 0,2µM, 390µL água destilada mais 20µL de extrato vegetal de folha e 30µL para hipocótilo. As leituras foram medidas em espectrofotômetro a 590nm (Bel® modelo UV-UM51). Uma unidade de SOD foi definida como a quantidade de enzima necessária para inibir a foto-redução do NBT em 50% e os resultados foram expressos em unidade de SOD mg^{-1} de proteína (GIANNOPOLITIS; REIS, 1977).

A atividade da enzima catalase (CAT, EC 1.11.1.6), foi definida através da quantificação da degradação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Merck, São Paulo, Brasil) (AZEVEDO et al., 1988). Para a mistura da reação foi utilizado 1.500µL do tampão fosfato de potássio 100mM (pH 7,5) contendo de H_2O_2 30% (2,5µL^{-1} do tampão de reação) mais 20µL do extrato vegetal de folha e 25µL para hipocótilo. As leituras foram medidas em espectrofotômetro a 240nm sendo os resultados expressos em µmol de H_2O_2 degradado min mg^{-1} de proteína.

A atividade da enzima peroxidase (POX, EC 1.11.1.7) foi determinada por meio da quantificação colorimétrica da oxidação do pirocatecol (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil). Sendo utilizado como meio de reação 475µL de água destilada, 375µL tampão fosfato de potássio 100mM (pH6,8), 300µL pirogalol 100mM, 300µL H_2O_2 100mM, 10µL do extrato vegetal de folha e 45µL para hipocótilo. Para o cálculo da atividade foi utilizado o coeficiente de extinção de 0,00247M^{-1} cm^{-1} (CHANCE; MAEHLEY, 1955). A atividade das enzimas POX foi expressa como mol de purpurogalina produzida por min mg^{-1} proteína.

A atividade da enzima lipoxigenase (LOX, EC 1.13.11.12), foi determinada conforme a metodologia descrita por Axelrod et al. (1981). Para o meio de reação foi utilizado 2.000µL do tampão de reação fosfato de sódio 50mM pH6,0 e 30µL da solução de substrato linoleato de sódio 10mM. A mistura foi incubada em banho-maria à temperatura de 25ºC, para estabilização, por aproximadamente 4 minutos. Foi adicionado ao meio de reação 20µL do extrato vegetal de folha e 30µL para o extrato do hipocótilo no qual foi quantificado o aumento na absorbância, em espectrofotômetro a 234nm em um ensaio colorimétrico por 3 minutos. Os volumes para a reação do branco foram os mesmos, porém sem o extrato vegetal. Foi utilizado o coeficiente de extinção molar 0,00250M cm^{-1}, sendo a atividade específica expressa em mol min^{-1} mg^{-1} de proteína.

A atividade da quitinase (QUI, EC 3.2.1.14) foi determinada pela quantificação colorimétrica da liberação de "*p*-nitrophenyl" clivado do substrato análogo da quitina "*p*-nitrophenyl-*β*-D-*N,N*'-diacetylchitobiose" (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Foi incubada a mistura da reação em 37ºC por 2h, contendo 470µL do tampão da reação acetato de sódio 50mM pH 5,0, 10µL da solução do substrato *p*-nitrofenil-*β*-D-*N,N*'-diacetilquitobiose (PNP) 2mg mL^{-1}, 40µL do extrato vegetal de folha e 160µL para o extrato do hipocótilo. Imediatamente após a adição do extrato foram acrescentados 250µL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) 0,2M. A absorbância foi

determinada a 410nm, em um ensaio colorimétrico em espectrofotômetro (Bel®, modelo UV-UM51). Para o cálculo da atividade subtraiu-se o valor da absorbância de cada amostra, do valor da absorbância do controle (realizado similarmente a mistura da reação, porém sem a adição do Na_2CO_3 e do extrato vegetal). Um coeficiente de extinção molar de 0,007M cm^{-1} foi utilizado para calcular a atividade da QUI, sendo os resultados expressos em mM de "*p*-nitrophenyl" produzido por min mg^{-1} de proteína. A determinação de QUI em hipocótilos foi realizada somente nos tempos de 120, 168 e 312 hai, faltando os tempos de 216 e 264 hai por insuficiência de reagente.

A concentração de proteína de cada amostra foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Bradford (1976), a qual foi utilizada para os cálculos da atividade específica das enzimas, utilizando albumina como padrão.

3.2.8 Análise estatística

Os dados obtidos após atender os pressupostos iniciais de normalidade dos resíduos por Shapiro-Wilk e homogeneidade das variâncias por Bartlett, foram submetidos à análise da variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) ou teste-t. Quando as variáveis não atenderam os pressupostos foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunn. Determinou-se também correção de Spearman (r) (não-paramétrica) para as combinações entre a incidência e severidade da doença, com a concentração de Si em plântulas de feijão. As análises foram realizadas através do software SAS (SAS Institute, Inc., 1989, Cary, NC).

3.3 Resultados

3.3.1 Efeito da inoculação com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e do recobrimento de sementes com silício sobre o desempenho inicial de plântulas de feijão

Não ocorreu interação significativa entre o fator inoculação e fonte de Si, para as variáveis índice de velocidade de emergência (IVE), emergência final de plântulas

(E), sementes mortas (SM), massa seca de folha (MSF) e de raiz (MSR), as quais tiveram efeito significativo apenas do fator inoculação (Tabela 10).

A presença do *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* nas sementes afetou significativamente o estabelecimento das plântulas de feijão, reduzindo em 26,6% o IVE, 33% a emergência das plântulas e aumentou o número de sementes mortas e plântulas anormais infectadas (sintomáticas), em relação as sementes não inoculadas (Tabela 10 e 11). A inoculação das sementes também afetou o crescimento das plântulas, reduzindo em 22,5% e 15,4% a produção de matéria seca de folha e raiz (Tabela 10) e em 25% a massa seca de hipocótilo (Tabela 11).

Tabela 10. Índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E), sementes mortas (SM), massa seca de folha (MSF) e massa seca de raiz (MSR), provenientes de sementes inoculadas ou não com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* independentemente da fonte de Si.

Inoculação	IVE	E (%)	SM (%)	MSF (g plântula^{-1})	MSR (g plântula^{-1})
Inoculado	5,1 b	47 b	38 a	0,03 b	0,03 b
Não inoculado	6,9 a	80 a	20 b	0,04 a	0,04 a

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Para as variáveis plântulas anormais infectadas (PAI), comprimento de parte aérea (CPA), massa seca de hipocótilo (MSH) e massa seca de parte aérea (MSPA) houve interação entre fontes de Si e inoculação (Tabela 11).

Tabela 11. Porcentagem de plântulas anormais infectadas (PAI), comprimento de parte aérea (CPA), massa seca de hipocótilo (MSH) e massa seca de parte aérea (MSPA) de sementes de feijão recobertas com fontes de Si, mediante a inoculação ou não com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

	Inoculação			
Fontes de Si	PAI (%)		CPA (cm plântula^{-1})	
	Inoculado	Não inoculado	Inoculado	Não inoculado
Agrosilício®	11 Ab	1 Ba	24,11 Aa	26,50 Aa
CAC	16 Aa	2 Ba	23,78 Ba	26,77 Aa
Controle (-Si)	19 Aa	3 Ba	20,20 Bb	27,16 Aa
	MSH (g plântula^{-1})		MSPA (g plântula^{-1})	
	Inoculado	Não inoculado	Inoculado	Não inoculado
Agrosilício®	0,05 Aa	0,05 Aa	0,08 Aa	0,09 Aa
CAC	0,05 Aa	0,05 Aa	0,08 Ba	0,09 Aa
Controle (-Si)	0,04 Ba	0,06 Aa	0,07 Bb	0,09 Aa

*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

O recobrimento das sementes com a fonte de Agrosilício® proporcionou menor porcentagens de plântulas anormais infectadas (PAI), em relação à CAC e ao controle (-Si), quando provenientes de sementes inoculadas (Tabela 11).

Para o comprimento e massa seca de parte aérea (CPA e MSPA) as fontes de Si na presença do fungo, proporcionaram maior desenvolvimento em relação a ausência de Si (controle). Sementes inoculadas e dos tratamentos com CAC e controle (-Si) resultaram em menor CPA e MSPA, em comparação com as não inoculadas. Já para o Agrosilício®, não houve diferença significativa para o fator inoculação nessas variáveis (CPA e MSPA) (Tabela 11).

Não se observou diferença significativa entre as fontes de Si, para massa seca de hipocótilo (MSH), no fator inoculação, nem para PAI, CPA, MSH e MSPA na ausência do *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Tabela 11).

Para a concentração de Si nas raízes, houve efeito significativo dos fatores isolados, fonte de Si e inoculação, além de interação entre os mesmos. As fontes Agrosilício® e CAC, quando inoculadas, aumentaram a concentração de Si nas raízes em 17,6% e 11,5%, respectivamente, em relação ao controle (-Si). Para as não inoculadas, o Agrosilício® aumentou a concentração de Si em 13,3 e 17,1% em relação ao controle (-Si) e CAC, respectivamente. Ao comparar o efeito das fontes à inoculação, o aumento da concentração foi maior somente para a CAC, chegando a 10,6% em relação as não inoculadas (Tabela 12).

Tabela 12. Concentração de silício (Si) em raízes de plântulas de feijão, provenientes de sementes inoculadas ou não com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e recobertas com diferentes fontes de silício.

Fontes de Si	**Inoculação**	
	Inoculado	Não inoculado
	Raiz (g kg^{-1})	
Agrosilício®	15,97 Aa	16,05 Aa
CAC	14,87 Aa	13,29 Bb
Controle (-Si)	13,16 Ab	13,91 Ab

*Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Não houve interação entre as fontes e a inoculação para a concentração de Si no hipocótilo, somente efeito dos fatores isolados. Sementes recobertas com Agrosilício® apresentaram aumento de 7% em relação ao controle (-Si), porém sem diferir significativamente do tratamento CAC (Tabela 13). Para a concentração de Si em sementes inoculadas com o patógeno no hipocótilo, incremento de 8,6% em relação as não inoculadas foram verificadas. Quanto a concentração de Si na folha, não houve diferenças significativas entre as fontes e nem para o efeito da inoculação (Tabela 13).

Tabela 13. Concentração de silício (Si) em hipocótilo e folha de plântulas de feijão, provenientes de sementes inoculadas ou não com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e recobertas com diferentes fontes de silício.

Tratamentos	Hipocótilo (g kg^{-1})	Folha (g kg^{-1})
Agrosilício®	3,57 a	5,90 a
CAC	3,39 ab	5,75 a
Controle (-Si)	3,32 b	5,86 a
Inoculado	3,58 a	5,92 a
Não inoculado	3,27 b	5,75 a

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, para fontes de silício ou inoculação, pelo teste de Tukey (p≤0,05).

No que se refere a indução de faseolina, houve maior acúmulo da mesma, em hipocótilos provenientes de sementes inoculadas, apresentando aumento de 12,1% em relação às sementes sem inoculação (Tabela 14).

Tabela 14. Indução de faseolina em hipocótilos de feijão, provenientes de sementes inoculadas ou não com *Fusarium* oxysporum f. sp. *phaseoli.*

Inoculação	Faseolina (ABS(280nm)/g.p.f)
Inoculado	0,99 a
Não inoculado	0,87 b

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p≤0,05).

3.3.2 Incidência e severidade da doença e análises bioquímicas em plântulas de feijão

No apêndice (apêndice B e C) estão os resultados do quadro da análise de variância, dos fatores tempo após a inoculação, fontes de silício e com e sem inoculação do patógeno, e suas interações avaliadas para hipocótilo e folha, a fim de melhor compreender os resultados apresentados a seguir.

3.3.2.1 Incidência e severidade da doença em plântulas

Não foram observados incidência da doença em plântulas, oriundas de sementes não inoculadas e nem nas raízes independente da inoculação (dados não apresentados), nos diferentes tempos.

As incidências de danos foram verificadas em hipocótilos e folhas provenientes de sementes inoculadas com o FOP, a partir das 168 hai (Tabela 15 e 16).

Para incidência da doença em hipocótilos, não foram observadas interações entre os fatores tempo e fontes de Si, somente para os fatores isolados. As

incidências de dano nos diferentes tempos de coleta, diferiram significativamente somente das 120 hai (Tabela 15).

Quanto as fontes de Si, observou-se que independente do recobrimento das sementes, todas as plântulas oriundas das sementes inoculadas apresentaram incidência de dano da doença no hipocótilo, que variaram de 3 a 6%, as quais não diferiram significativamente (Tabela 15). Como sintomatologia, foi observada descoloração vascular no hipocótilo, com pequenas estrias longitudinais deprimidas logo abaixo dos cotilédones, com comprimentos que variaram de 0,5 a 4,5cm.

Tabela 15. Incidência de dano da doença no hipocótilo de feijão, provenientes de sementes inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, avaliadas em diferentes tempos (hai) e recobertas com diferentes fontes de silício.

Tratamentos	Incidência de dano no hipocótilo (%)
120	0 b
168	5 a
216	5 a
264	5 a
312	11 a
Agrosilício®	3 a
CAC	6 a
Controle (-Si)	6 a

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, para horas após a inoculação ou fonte de silício pelo teste de Dunn (p≤0,05).

Para incidência de dano da doença em folha houve interação significativa para as fontes de Si e tempo de amostragem (hai). Foram observadas incidências de doença nas folhas a partir das 168 hai entre os tratamentos, entretanto o Agrosilício® diferiu significativamente a partir das 216 hai da CAC e do controle (-Si), apresentando os menores valores para esta variável (Tabela 16).

Tabela 16. Incidência de dano da doença em folhas de feijão, provenientes de sementes inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, avaliadas em diferentes tempos (hai) e recobertas com diferentes fontes de silício.

Horas após a inoculação	**Fontes de Silício**		
	Agrosilício® (%)	CAC (%)	Controle (-Si) (%)
120	0 Ab	0 Ab	0 Ab
168	15 Aa	35 Aab	23 Ab
216	18 Ba	60 Aa	48 Aa
264	18 Ba	63 Aa	63 Aa
312	30 Ba	65 Aa	68 Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste de Dunn (p≤0,05).

Quanto ao efeito das fontes de Si em cada tempo de amostragem, verificamos que o tratamento Agrosilício® diferiu significativamente somente às 120

hai dos demais tempos, o controle (-Si) a partir das 216 hai, assim como para CAC a pesar de não diferir das 168 hai, resultando nas maiores incidências a parir desses tempos (Tabela 16). As folhas apresentaram sintomas de clorose, que chegaram até 50% de área afetada (Anexo A).

Não houve diferenças significativas entre as fontes de Si, quanto a severidade final avaliada em hipocótilo e folha feijão, oriundas de sementes inoculadas (dados não apresentados).

Os resultados de correlação (r) indicaram, correlação significativa e positiva para incidência e severidade da doença em hipocótilo (IH e SH) e folha (IF e SF), com a concentração de Si no hipocótilo (SiH); incidência no hipocótilo (IH) com IF, SH e SF; incidência na folha (IF) com SH e SF; e, entre severidade no hipocótilo (SH) com a SF (Tabela 17).

Tabela 17. Coeficiente de correlação de Spearman (r), entre os resultados de concentração de silício em raiz (SiR), hipocótilo (SiH) e folha (SiF); incidência e severidade da doença em hipocótilo (IH e SH) e folha (IF e SF) respectivamente, provenientes de sementes inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e recobertas com diferentes fontes de silício.

	SiR (g kg^{-1})	SiH (g kg^{-1})	SiF (g kg^{-1})	IH (%)	IF (%)	SH (%)
SiH g kg^{-1})	-0,16^{ns}					
SiF (g kg^{-1})	-0,31^{ns}	-0,11^{ns}				
IH (%)	0,02^{ns}	0,51*	0,26^{ns}			
IF (%)	-0,09^{ns}	0,56*	0,16^{ns}	0,71*		
SH (%)	0,07^{ns}	0,54*	0,10^{ns}	0,88*	0,60*	
SF (%)	-0,05^{ns}	0,77*	-0,13^{ns}	0,64*	0,81*	0,7*

^{ns}, r: não significativo; *, r: significativo ($p \leq 0,05$).

3.3.2.2 Concentração de CFSTs e derivados de LATG

3.3.2.2.1 Hipocótilo

Em hipocótilos, não foram observadas interações entre os fatores tempo, fonte e inoculação, somente para os fatores isolados tempo e inoculação para a concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFSTs). Em relação ao tempo, a concentração de CFSTs teve maior conteúdo nos hipocótilos às 168, 216 e 264 hai, quando comparadas ao primeiro (120 hai) e último tempo da avaliação (312 hai) (Figura 1 A). Já para o fator inoculação, a concentração de CFSTs em hipocótilos de feijão foi significativamente menor em 10,8% quando provenientes de sementes inoculadas em comparação com as não inoculadas (Figura 1 B).

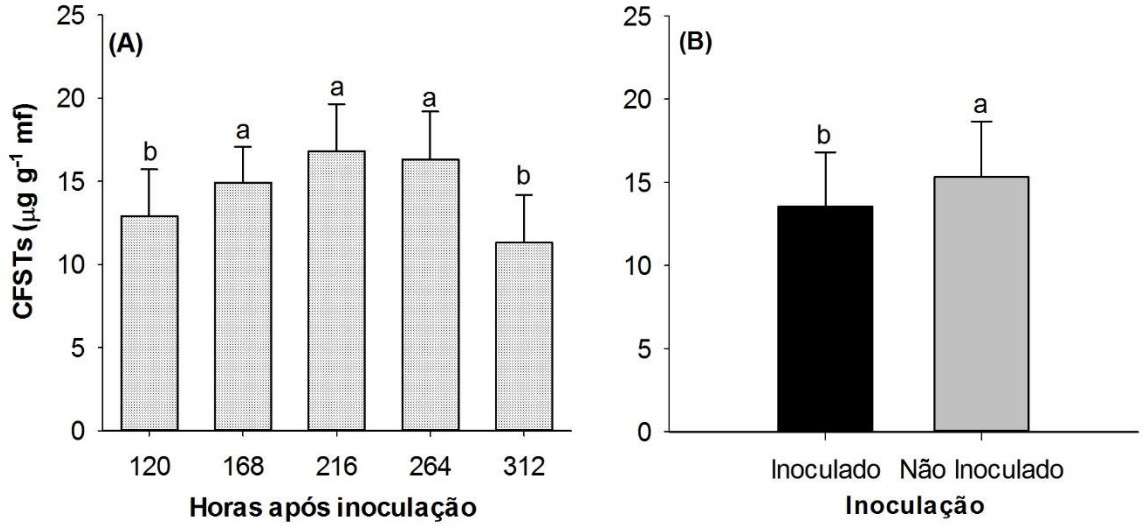


Figura 1. Concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFSTs), em hipocótilo de plântulas de feijão, nos diferentes tempos após inoculação (A) e em sementes inoculadas ou não inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (B). Barras representam o desvio padrão da média. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p≤0,05).

Interações entre tempo e fonte (Figura 2 A) e inoculação e fonte (Figura 2 B) ocorreram para concentração de derivados de lignina-ácido tioglicólico (DLATG).

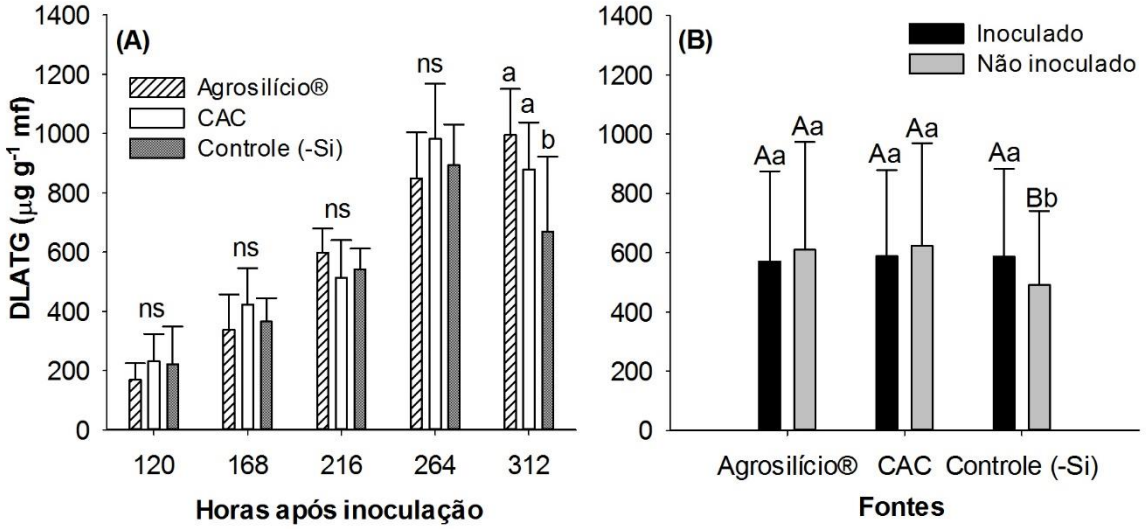


Figura 2. Concentração de derivados lignina-ácido tioglicólico (DLATG), em hipocótilos de plântulas de feijão, oriundas de sementes recobertas com fontes de Si e avaliadas em diferentes tempos após inoculação (A) inoculadas e não inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (B). Barras representam o desvio padrão da média. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p≤0,05) (A). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre as fontes e minúscula na fonte não diferem entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05) (B).

A concentração de DLATG foi maior às 312 hai, em hipocótilos provenientes de tratamentos com sementes recobertas com Si, quando comparadas com o controle (-Si), representando um aumento de 23,8% e 32,7% para CAC e Agrosilício®, respectivamente (Figura 2 A). Quanto as fontes, o fungo proporcionou maior concentração de DLATG em hipocótilos, em relação as não inoculada no tratamento controle (-Si), e essas foram significativamente menor em relação ao Agrosilício® e a CAC (Figura 2 B).

3.3.2.2.2 Folha

Sementes inoculadas e recobertas com Agrosilício®, proporcionaram, em folhas de plântulas de feijão, aumento significativo da concentração CFSTs somente as 216 hai; entretanto, a concentração foi menor as 120 hai. O mesmo efeito da menor concentração foi verificado, as 168 hai, no controle (-Si), em comparação às não inoculadas. Já para a CAC não foram observadas diferenças significativas entre a inoculação, para cada tempo de amostragem (Figura 3 A, B e C).

Folhas provenientes de sementes inoculadas não apresentam diferenças significativas quanto às fontes de Si para CFSTs, enquanto que na ausência do patógeno houve maior concentração em folhas oriundos do controle (-Si) nos tempos de 168 e 216 hai, diferindo significativamente no primeiro tempo da CAC e no segundo do Agrosilício® (Figura 3 A, B e C).

Diferenças significativas quanto a concentração de DLATG em folhas foram observadas somente para o fator tempo, onde aumento significativo em resposta a inoculação, foi verificado para o recobrimento das sementes com Agrosilício® às 120 hai, para CAC às 264 hai e para o controle (-Si) às 264 e 312 hai. Entretanto, foi menor as 168 hai no controle (-Si), quando comparando com as não inoculadas. Para fonte de Si e inoculação não houve diferenças significativas para DLATG (Figura 3 D, E e F).

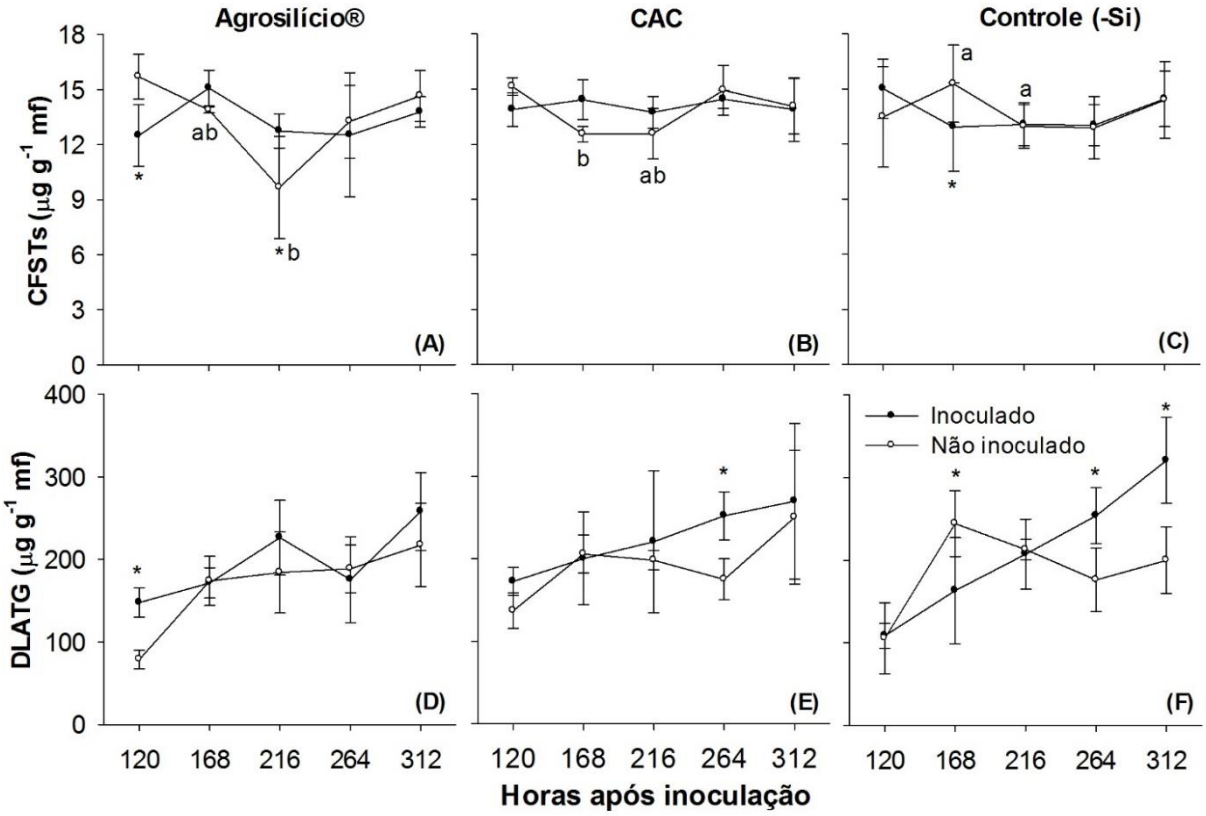


Figura 3. Concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFSTs) (A, B e C) e derivados lignina-ácido tioglicólico (DLATG) (D, E e F), em folhas de plântulas de feijão, onde as sementes foram recobertas com Agrosilício® (A e D), casca de arroz carbonizada (CAC) (B e E) e sem o recobrimento (controle (-Si)) (C e F), e inoculadas ou não inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Barras representam o desvio padrão da média. Médias de sementes inoculadas, seguidas por um asterisco (*) são diferentes (p≤0,05) pelo teste t das não inoculadas, no mesmo tempo e tratamento. Letras minúsculas representam diferenças significativa (p≤0,05) pelo teste de Tukey quando comparado sementes não inoculadas recobertas com diferentes fontes de silício (Si).

3.3.2.3 Atividade das enzimas SOD, CAT, POX, LOX e QUI

3.3.2.3.1 Hipocótilo

Sementes inoculadas e recobertas com Agrosilício® proporcionaram, no hipocótilo das plântulas de feijão, aumento significativo na atividade das enzimas SOD, às 216 hai, e POX, às 120 e 312 hai. Entretanto, foi menor para SOD, CAT e LOX às 120, 168 e 216 hai, respectivamente, em comparação às não inoculadas (Figura 4 A, D, G e J).

No tratamento com CAC, plântulas oriundas de sementes inoculadas, apresentaram aumento na atividade específica da SOD, às 168 hai, da CAT às 168 e 264 hai, POX às 264 e 312 hai e LOX às 264 e 312 hai. No entanto, a atividade da

enzima LOX foi significativamente menor nas sementes inoculadas, às 120 e 216 hai, quando comparadas às não inoculadas (Figura 4 B, E, H e L).

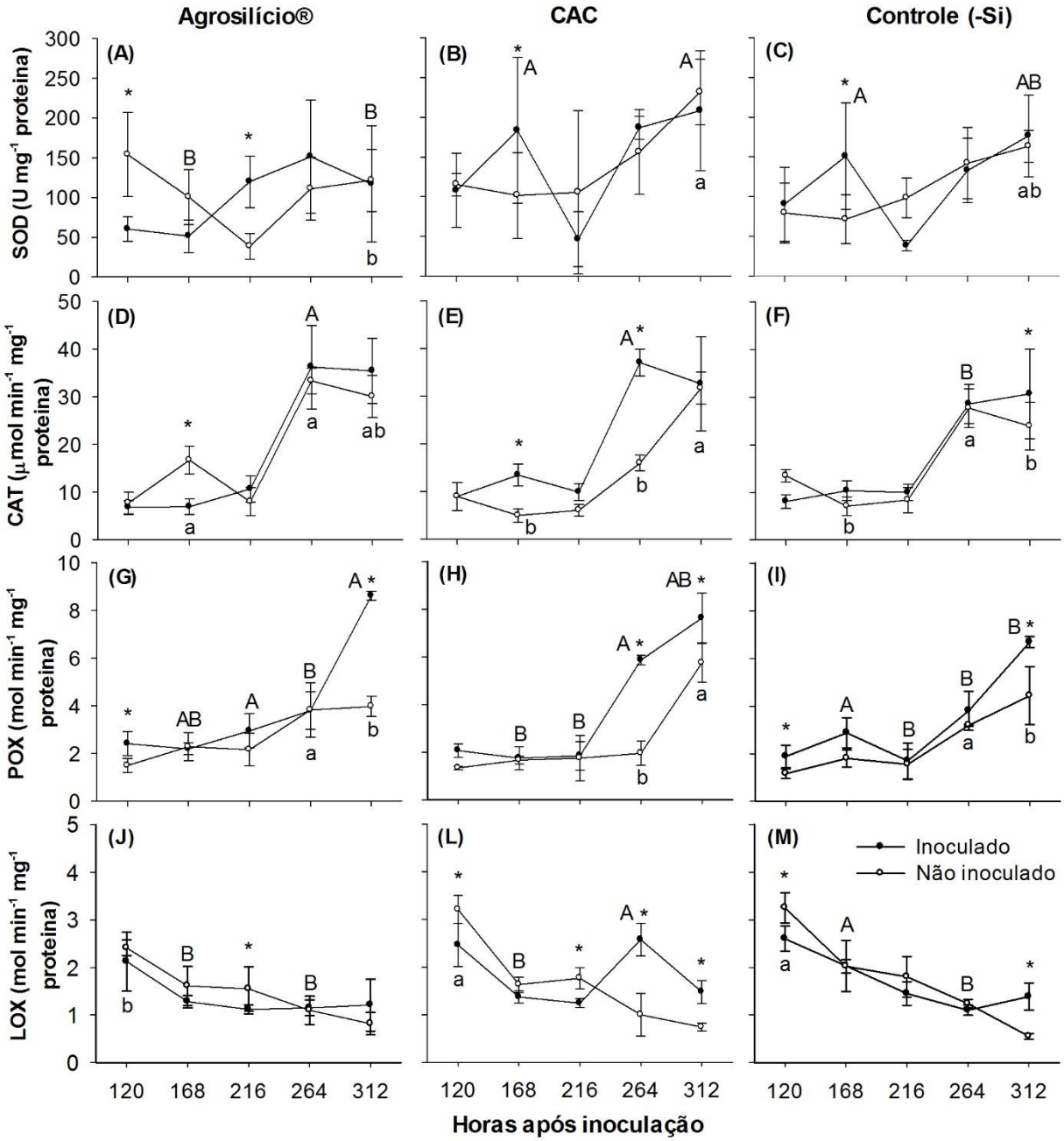


Figura 4. Atividade das enzimas superóxido dismutases (SOD) (A; B e C), catalases (CAT) (D, E e F), peroxidases (POX) (G, H e I) e lipoxigenases (LOX) (J, L e M), em hipocótilo de plântulas de feijão, onde as sementes foram recobertas com Agrosilício® (A, D, G e J), casca de arroz carbonizada (CAC) (B, E, H e L) e sem o recobrimento (controle (-Si)) (C, F, I e M), e inoculadas ou não inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Barras representam o desvio padrão da média. Médias de sementes inoculadas, seguidas por um asterisco (*) são diferentes (p≤0,05) pelo teste t das não inoculadas, no mesmo tempo e tratamento. Letras minúsculas representam diferenças significativa (p≤0,05) pelo teste de Tukey quando comparado sementes não inoculadas recobertas com diferentes fontes de silício (Si). Letras maiúsculas representam diferenças significativas (p≤0,05) pelo teste de Tukey entre sementes inoculadas recobertas com fontes de Si.

No controle (-Si), aumentos na atividade das enzimas SOD e CAT foram verificados as 168 e 312 hai, respectivamente, a POX, às 120 e 312 hai, e para a LOX, às 312 hai, quando provenientes de sementes inoculadas. Entretanto, a atividade da enzima LOX foi menor às 120 hai, quando comparadas em hipocótilos de plântulas oriundas de sementes não inoculadas (Figura 4 C, F, I e M).

Os tratamentos CAC e controle (-Si) inoculados, apresentaram as maiores atividades para SOD em hipocótilos às 168 hai, quando comparadas ao Agrosilício®. Às 312 hai a fonte com Agrosilício® apresentou a menor atividade quando comparada com a CAC, no entanto, não diferiram significativamente do controle (-Si). Essa mesma tendência foi verificada para sementes não inoculadas neste último tempo (312 hai) (Figura 4 A, B e C).

Quanto à atividade da CAT, verificou-se que as fontes Agrosilício® e CAC, proporcionaram maior atividade, quando comparadas ao controle (-Si), às 264 hai, em hipocótilos inoculados. Em relação a ausência do patógeno, a maior atividade da CAT foi observada para o tratamento com Agrosilício®, nos tempos de 168, 264 e 312 hai; no entanto, o tempo de 264 hai não diferiu significativamente do controle (-Si) e aos 312 hai, do tratamento com CAC (Figura 4 D, E e F).

Para a POX, a atividade foi significativamente influenciada entre os tratamentos às 168 hai, onde verificou-se aumento inicial da enzima no controle (-Si), quando comparadas com a CAC, porém sem diferirem significativamente do Agrosilício® em hipocótilos oriundos de sementes inoculadas. A atividade da enzima foi superior no Agrosilício®, nos tempos de 216 e 312 hai; enquanto que, a CAC teve aumento da atividade às 264 e 312 hai, no entanto sem diferir significativamente no último tempo, das demais fontes de recobrimento das sementes. Hipocótilos provenientes de sementes não inoculadas e recobertas com CAC, apresentam a menor atividade da enzima POX às 264 hai, em comparação com o controle (-Si) e ao Agrosilício®, contudo teve um pico da atividade às 312 hai, diferindo significativamente das demais fontes (Figura 4 G, H e I).

A maior atividade da enzima LOX, quando na presença do fungo, foi observada no controle (-Si), às 168 hai, diferindo significativamente das fontes de Si, enquanto que a CAC apresentou a maior atividade às 264 hai (Figura 4 J, L e M). Para as sementes não inoculadas não se observaram diferenças significativas entre as fontes para as enzimas LOX (Figura 4 J, L e M) e QUI (Figura 4 A, B e C).

No que se refere à atividade da enzima quitinase (QUI), o recobrimento das sementes com CAC, em sementes inoculadas, resultou em maior atividade desta enzima no hipocótilo às 312 hai, quando comparadas com o controle (-Si) e Agrosilício®, sendo na fonte de Agrosilício® observado a menor atividade (Figura 5 A, B e C).

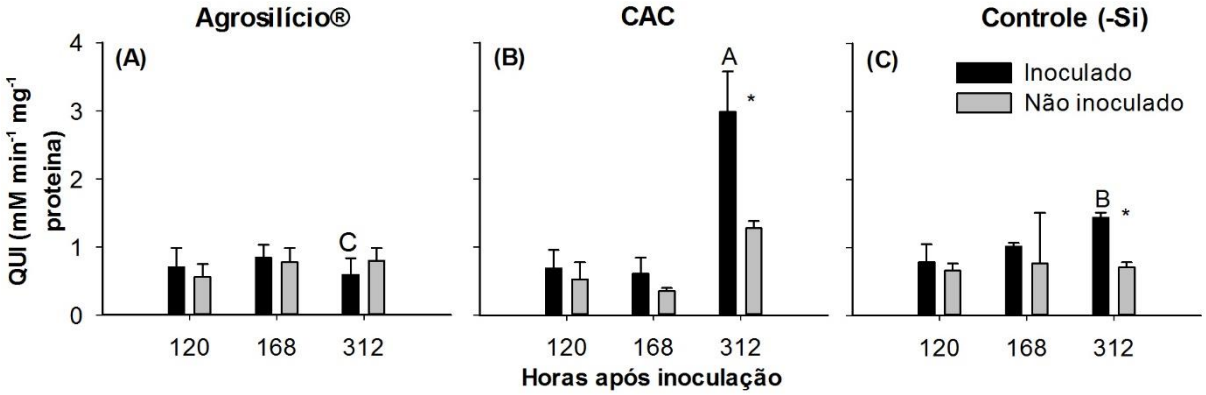


Figura 5. Atividade da enzima quitinase (QUI) (A, B e C) em hipocótilo de plântulas de feijão, onde as sementes foram recobertas com Agrosilício® (A), casca de arroz carbonizada (CAC) (B) e sem o recobrimento (controle (-Si)) (C), e inoculadas ou não inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Barras representam o desvio padrão da média. Médias de sementes inoculadas, seguidas por um asterisco (*) diferem significativamente (p≤0,05) pelo teste t das não inoculadas, no mesmo tempo e tratamento. Letras maiúsculas representam diferenças significativas (p≤0,05) pelo teste de Tukey entre sementes inoculadas e recobertas com fontes de Si.

Aumentos da QUI em 57,5% e 51% na presença do fungo em relação às sementes não inoculadas às 312 hai, foram verificados para a CAC e controle (-Si), respectivamente. Para o Agrosilício® não houveram diferenças significativas para a inoculação nos diferentes tempos de avaliação (Figura 5 A).

3.3.2.3.2 Folha

Nas folhas provenientes de sementes inoculadas e recobertas com Agrosilício®, ocorreu aumento significativo das atividades das enzimas SOD, às 120 hai, POX às 264 hai e QUI, às 216 e 264 hai; entretanto, foi menor para POX às 312 hai, quando comparada às não inoculadas (Figura 6 A, D e G).

Para o recobrimento com CAC foi observado, que quando na presença do patógeno, a atividade da enzima POX aumentou a partir das 216 hai, quanto a QUI teve a maior atividade as 264 hai, em comparação às não inoculadas (Figura 6 B, E e H).

Aumento significativo na atividade das enzimas também foi verificado no tratamento controle (-Si), em sementes inoculadas com o fungo. A atividade da SOD e QUI foi maior às 168 hai, entretanto menor às 264 hai na SOD, quando comparadas com as não inoculadas (Figura 6 C e I). Para a POX, não houveram diferenças significativas entre a inoculação em cada tempo (Figura F).

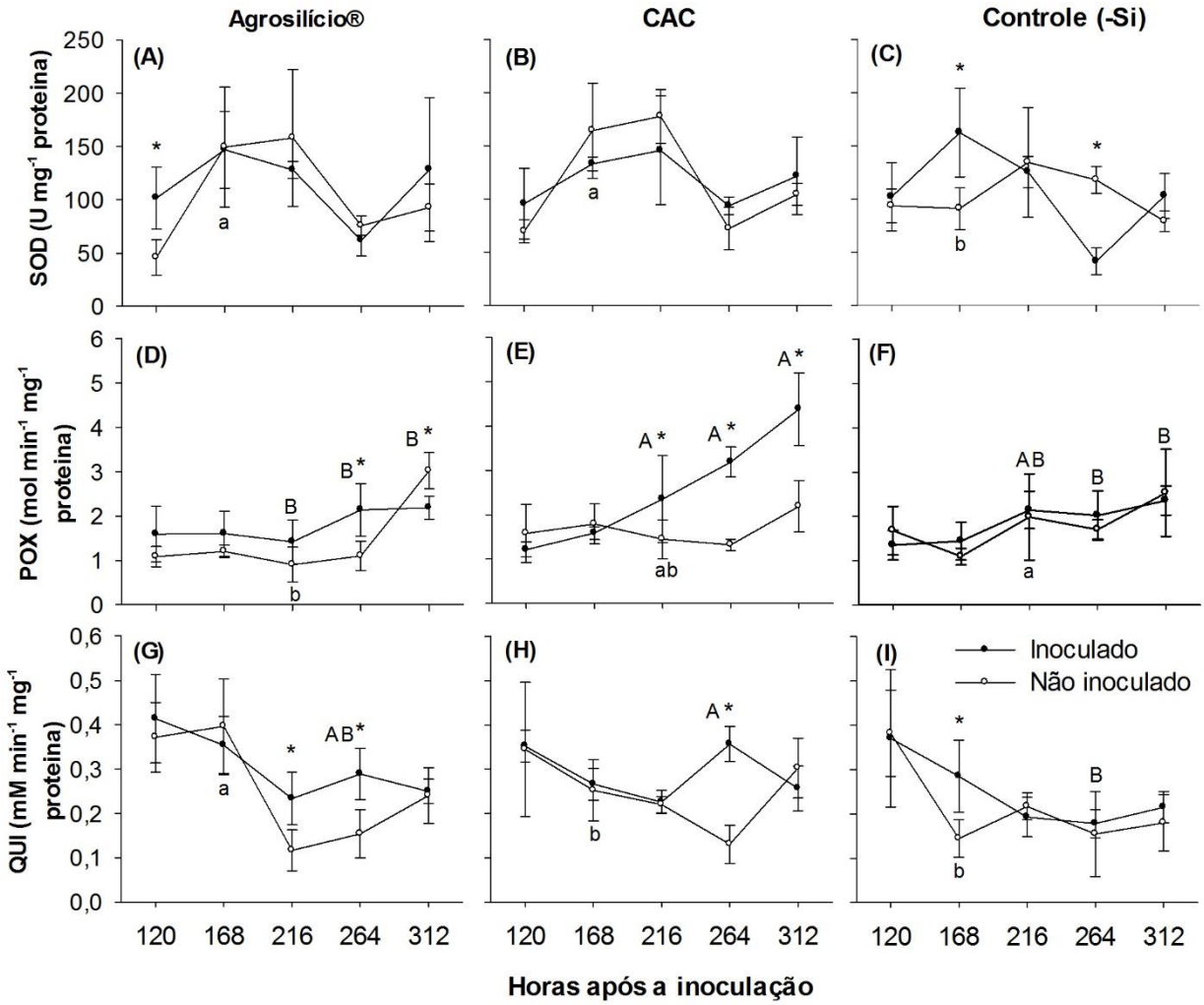


Figura 6. Atividade das enzimas superóxido dismutases (SOD) (A; B e C), peroxidases (POX) (D, E e F) e quitinases (QUI) (G, H e I), em folhas de plântulas de feijão, onde as sementes foram recobertas com Agrosilício® (A, D e G), casca de arroz carbonizada (CAC) (B, E e H) e sem o recobrimento (controle(-Si)) (C, F e I), e inoculadas ou não inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Barras representam o desvio padrão da média. Médias de sementes inoculadas, seguidas por um asterisco (*) são diferentes (p≤0,05) pelo teste t das não inoculadas, no mesmo tempo e tratamento. Letras minúsculas representam diferenças significativas (p≤0,05) pelo teste de Tukey quando comparado sementes não inoculadas recobertas com diferentes fontes de Si. Letras maiúsculas representam diferenças significativas (p≤0,05) pelo teste de Tukey entre sementes inoculadas recobertas com fontes de Si.

Quando avaliamos sementes inoculadas dentro das fontes de recobrimento das sementes, verificamos que não houveram diferenças significativas para a SOD

(Figura 6 A, B e C), enquanto que a CAC proporcionou aumento da enzima POX ao longo das horas após a inoculação, a partir das 216 hai e diferindo significativamente do Agrosilício® e do controle (-Si) (Figura 6 D, E e F). Já a atividade da QUI teve um pico às 264 hai na fonte de CAC, diferindo significativamente do controle (-Si); no entanto, foram estatisticamente iguais ao Agrosilício® (Figura 6 G, H e I).

Comparando sementes não inoculadas, verifica-se que o recobrimento das sementes com Agrosilício® e CAC proporcionaram maior atividade da enzima SOD quando comparada com o controle (-Si), às 168 hai (Figura 6 A, B e C). Para a enzima POX, o controle (-Si) obteve a maior atividade quando comparada com a fonte de Agrosilício®, sem diferirem significativamente da CAC, às 216 hai (Figura 5 D, E e F). Já para a QUI o maior acúmulo nas folhas correu para o Agrosilício®, às 168 hai, em comparação ao controle (-Si) e à CAC, quando provenientes de sementes não inoculadas (Figura 6 G, H e I).

Interações entre tempo e fontes de Si (Figura 7 A) e inoculação e fonte de Si (Figura 7 B) ocorreram para a enzima CAT. Nos tempos de 120, 216 e 312 hai ocorreram diferenças significativas para as fontes de Si, sendo observadas as maiores atividades no controle (-Si), o qual diferiu significativamente do tratamento com Agrosilício®, nos tempos de 120 e 216 hai, e da CAC, às 312 hai (Figura 7 A).

Quanto às fontes de Si em relação à inoculação, a menor atividade da CAT foi verificada em sementes recobertas com CAC na presença do patógeno, quando comparadas com o Agrosilício® e o controle (-Si), e também na comparação da inoculação dentro da fonte (Figura 7 B).

Para a enzima LOX interações significativas ocorreram entre tempo e fonte (Figura 7 A) e inoculação e tempo (Figura 7 B). A atividade da LOX foi significativamente maior às 120 e 216 hai para o controle (-Si) em comparação com o Agrosilício® e CAC, no entanto sem diferir às 216 hai da CAC. No tempo de 264 hai, a maior atividade foi verificada na CAC quando comparado com o controle (-Si), não diferindo significativamente do Agrosilício® (Figura 7 C).

Quanto à inoculação dentro de cada tempo, a maior atividade da enzima LOX, foi verificada para as não inoculadas às 120 e 216 hai e na presença do patógeno às 264 hai (Figura 7 D).

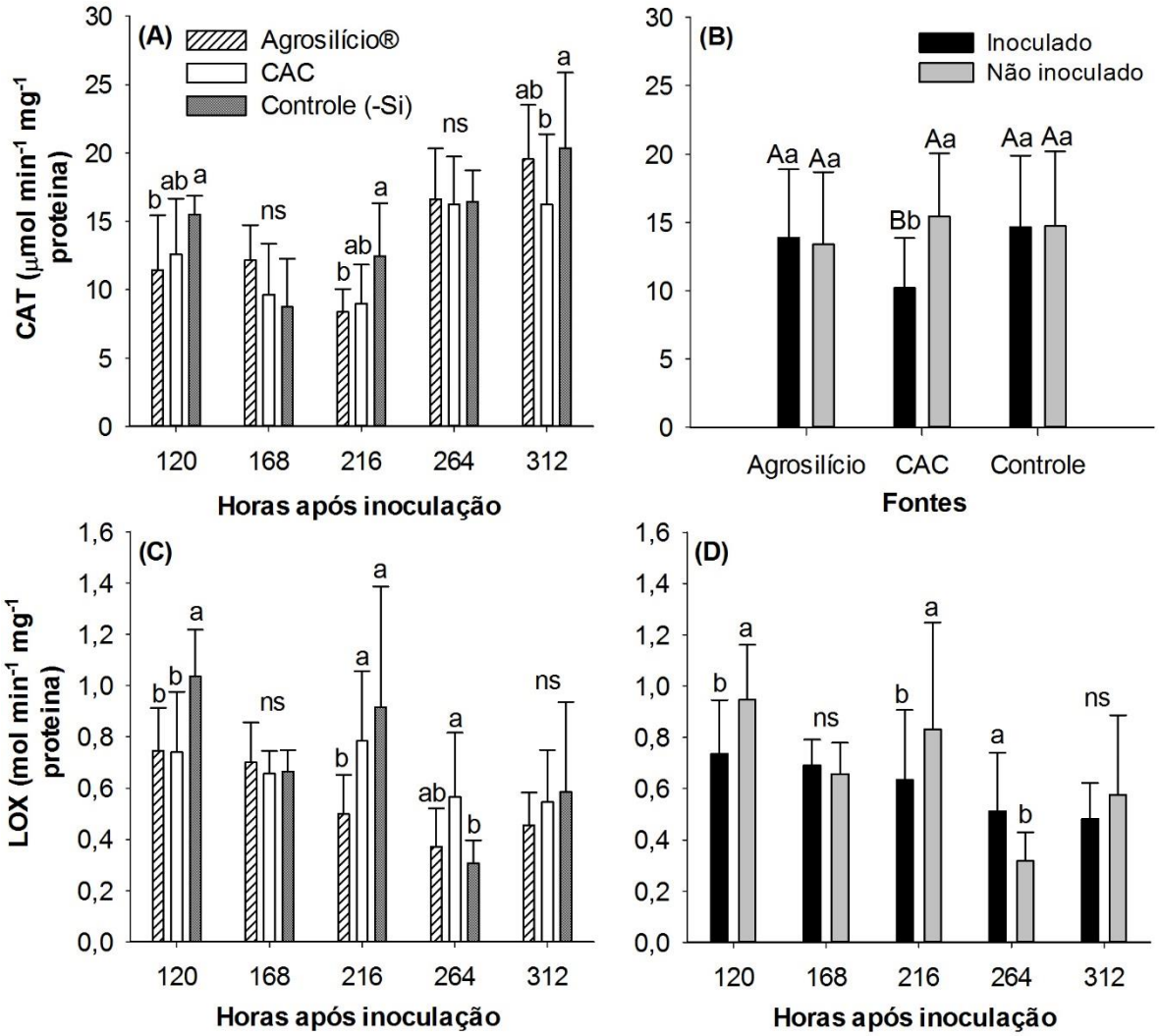


Figura 7. Atividades das enzimas catalases (CAT) (A e B) e lipoxigenases (LOX) (C e D) em folhas de plântulas de feijão, onde as sementes foram recobertas com Agrosilício®, casca de arroz carbonizada (CAC) e sem o recobrimento (controle (-Si)), e inoculadas ou não inoculadas com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Barras representam o desvio padrão da média. Médias seguidas pela mesma letra dentro de cada tempo, não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p≤0,05) (A, C e D). Médias seguidas pela mesma letra maiúscula entre as fontes de Si e minúscula na fonte de Si não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p≤0,05) (B). ns: não significativo.

3.4 Discussão

A associação do *F. oxisporum* sp. *phaseoli* nas sementes, comprometeu o crescimento e estabelecimento inicial das plântulas de feijão. Causou morte das sementes, enfraqueceu-as e provocou anormalidades nas plântulas, sendo observado ao redor dos cotilédones abundante formação de micélio, o qual dificultou

a emissão das folhas primárias. Danos em pré e pós emergência causados por *Fusarium* spp. em sementes de feijão também já foram relatados por Marcenaro e Valkonen (2016). De acordo com Naseri e Mousavi (2015), esta doença quando presente nas raízes das plantas, resulta em infestação nas sementes colhidas de até 40%. Consequentemente, se não forem utilizadas medidas preventivas de controle, a introdução ou o aumento da população do fungo no solo poderá causar sérios danos nas áreas agrícolas.

Os fornecimentos do Si por meio do recobrimento das sementes proporcionaram às plântulas, quando inoculadas com o fungo, maior crescimento além de um menor número de plântulas anormais na emergência final. Resultados positivos do efeito benéfico do Si, foram relatados por Dallagnol et al. (2013), onde as plantas supridas com Si, originaram sementes vigorosas e proporcionaram plântulas com menor incidência de sintomas causados por *Bipolares oryzae*. Incremento do vigor das plântulas por meio do recobrimento das sementes com Si também foram relatados por Tavares et al. (2011), Tunes et al. (2014) e Oliveira et al. (2016) em arroz; por Corlett et al. (2014) em cevada e por Rufino et al. (2017) em soja, em condições normais de cultivo. Quando na ausência do patógeno, no presente trabalho não foi possível observar o efeito do Si, sobre o vigor das plântulas de feijão.

O tratamento das sementes por meio da nutrição das plântulas, é uma das medidas preventivas na prática de controle de doenças de pré e pós emergência, no manejo integrado de doenças (LAMICHHANE et al., 2017). Isso se deve ao fato de que a disponibilidade adequada de nutrientes nas sementes, em contato direto com a emissão das primeiras raízes, supre as necessidades iniciais das culturas (TUNES et al., 2012), aumentando a taxa de crescimento, a germinação das sementes e o vigor das plântulas, fazendo com que estas escapem rapidamente das condições de estresse, limitando o período de tempo em que o fungo pode infectar a semente e as plântulas durante o processo germinativo no solo (LAMICHHANE et al., 2017).

O feijão é uma espécie de planta que tem capacidade de acumular baixas concentrações foliares de Si, como a maioria das dicotiledôneas. Por outro lado, pode apresentar altas concentrações deste elemento em tecidos radiculares, o que a classifica como uma espécie não acumuladora e/ou exclusora do Si. A alta concentração de Si nas raízes ocorre devido, à falta e a falha de transportadores específicos de Si das células corticais para o xilema, o qual pode ficar retido nas

camadas de suberina presente na endoderme das raízes (RAVEN, 2001; MITANI; MA, 2005).

O elemento é absorvido na forma de ácido monossilícico (H_4SiO_4), de modo passivo por fluxo de massa, o qual está relacionado à difusão a favor do gradiente de concentração, de uma solução mais concentrada para uma menos concentrada. A sua distribuição ocorre via xilema para a parte aérea e, a quantidade depositada na forma de ácido polimerizado (silíca amorfa) nas paredes externas das células epidérmicas das folhas, depende da quantidade disponível no meio e também da taxa de transpiração, sendo o transporte ou acúmulo regulado então pelo fluxo de transpiração ou desencadeado por um estímulo à proteção das plantas contra condições de estresse num processo de difusão ativa (HAYNES, 2017).

As sementes recobertas com fontes de Si foram capazes de reter maior concentração de Si, tanto nas raízes como no hipocótilo quando em condição de estresse causado pelo patógeno. Além do mais, a fonte de CAC aumentou o seu depósito após a infeção, demonstrando um possível efeito defensivo contra o ataque do fungo. Correlação positiva e significativa foi observado para a concentração de Si no hipocótilo, com incidência e severidade da doença em plântulas provenientes de sementes inoculadas com o fungo, demonstrando dessa forma que o Si ajudou a reduzir os danos causados pelo FOP em feijão.

A maior concentração pode proporcionar uma rigidez nos tecidos da plântula pela sua deposição ou polimerização, principalmente nas raízes e nos hipocótilos neste caso, reforçando as paredes celulares, agindo como uma barreira física e assim potencializado um dos mecanismos de defesa da plântula, o qual pode afetar a penetração do patógeno, pois esse penetra diretamente na epiderme das raízes e coloniza os espaços inter e intracelulares do córtex, progredindo para os vasos do cilindro central do xilema (XUE et al., 2015; GARCÉS-FIALLOS et al., 2017). Em tomate, o aumento da concentração de Si nas raízes teve correlação positiva com a redução da severidade causado pelo *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (HUANG et al., 2011).

A incidência de danos da doença causado pelo fungo, em plântulas de feijão começaram a se manifestar em hipocótilos como nas folhas aos 7 DAS, no entanto apesar da ausência de significância em hipocótilos a partir das primeiras incidências, um aumento de 54,5% foi verificado no período mais avançado da infecção (312 hai). Enquanto que para raízes até os 13 DAS, não tinha sido observado incidência

de danos. No início da infecção os sintomas nas plântulas constituíam de pequenas lesões nos hipocótilos, logo abaixo dos cotilédones e, nas folhas, clorose em pequenas porcentagens em relação à área foliar. Os danos progrediram e o tamanho das lesões no hipocótilo chegaram em algumas plântulas a até 4,5cm, enquanto que na folha os sintomas de clorose chegaram até 50% (Anexo A). Houve uma correção positiva entre a incidência e severidade da doença em hipocótilo e folhas de plântulas de feijão, indicando que quanto maior a incidência maior será a severidade.

Segundo Garcés-Fiallos et al. (2017), as unidades formadoras de colônia são maiores nos tecidos do hipocótilo em relação às das raízes, as quais, por sua vez, são superiores as encontradas nas folhas. Após a inoculação, são necessários de quatro (XUE et al., 2015) a cinco dias (GARCÉS-FIALLOS et al., 2017), para serem observados os microconídios dentro dos vasos do xilema de raízes e hipocótilos em feijão, tanto em cultivares resistentes como em suscetíveis. A partir do momento que atingem o xilema, são facilmente transportados para a parte aérea, através do fluxo da seiva. Os microconídeos germinam e as hifas penetram nos vasos da parede do xilema, sendo necessário 11 dias após a inoculação (dai) em cultivares suscetíveis e 23 dai nas resistentes, para poder observar os sintomas de clorose seguido de murcha das folhas, com progressão da doença interna e externamente (NIÑO-SÁNCHEZ et al., 2015).

Quanto maior é o nível de virulência do fungo, mais alta é a capacidade de infectar e colonizar rapidamente o sistema vascular da planta. Isolados mais agressivos, apresentam necrose completa na região da coroa e necrose extensa na região do xilema do hipocótilo, ao passo que em plantas inoculadas com um isolado menos agressivo ocorre clorose nas folhas, coroa necrótica e alguns sintomas de necrose na região do xilema (NIÑO-SÁNCHEZ et al., 2015).

A fonte de Agrosilício® proporcionou uma redução no final de até 56% no aparecimento da incidência de danos nas folhas, em relação a CAC e o controle (-Si) no último tempo da avaliação, e no hipocótilo em 50%, apesar da ausência de significância. Esses resultados sugerem um possível envolvimento do Si fornecido pela fonte de Agrosilício® na potencialização da resistência ao FOP. De acordo com o Huang et al. (2011) o Si reduziu a gravidade da doença e assim atrasou o início da infecção inicial na raiz e, consequentemente, o movimento do patógeno das raízes para a coroa seguido do hipocótilo.

O suprimento com Si pode afetar a produção de compostos fenólicos através da acumulação rápida nos sítios de infecção do hospedeiro, restringindo o ataque de patógenos nos estágios iniciais da resposta de defesa (BELANGER et al., 2003; FORTUNATO et al., 2012; DALLAGNOL et al., 2015). Os CFSTs afetam o processo infecioso através de diversos mecanismos, sendo considerados antifúngicos, mas também podem participar no reforço da parede celular, agindo indiretamente sobre o patógeno (SCALBERT, 1991; WHAN et al., 2016). De acordo com Fortunato et al. (2014), o Si tem um papel fundamental nas vias do fenilpropanoide em mudas de bananeiras contra a infecção de *F. oxisporum* f. sp. *cubense*, sendo que a potencialização dessas vias leva a produção de fenóis. Porém, no presente estudo, não foram encontrados resultados consistentes da concentração de CFSTs, quanto ao seu papel na resistência de plântulas inoculadas de feijão a partir de sementes recobertas com fontes de Si. Demostrando dessa forma, que o Si poderia estar associado à lignificação da parede celular e não à produção de CFSTs, devido à concentração de DLATG, como produtos finais da via do fenilpropanoide, tornando-se mais importante na resistência da infecção causada por patógenos e fortalecendo a parede celular das plântulas (POLANCO et al., 2012).

A lignina tem papel fundamental, pois limita a ação do patógeno pela formação de uma barreira física quando ligada à hemicelulose e polissacarídeos, na qual pode ajudar a retardar ou inibir a infecção pelo patógeno. Essa resistência mecânica à parede celular afeta a difusão de enzimas líticas e toxinas não específicas ao hospedeiro, que são produzidas durante a colonização do tecido (CHABANNES et al., 2001; FORTUNATO et al., 2012). A polimerização do Si contribui para o reforço das paredes celulares por lignificação (FORTUNATO et al., 2014). Aumentos da concentração de DLATG, em hipocótilos, foram observados quando as sementes foram recobertas com Agrosilício® e CAC, no tempo mais avançado da infecção (312 hai); enquanto que nas folhas, esse aumento foi verificado no início da infecção para a fonte de Agrosilício® e mais para o final, nos tratamentos com CAC e no controle (-Si), quando as sementes estavam inoculadas.

As concentrações de CFSTs e DLATG foram associadas com o aumento da resistência contra *F. oxisporum* f. sp. *cubense* em mudas de bananeiras (FORTUNATO et al., 2012), bem como para meloeiro no controle de *Podosphaera xanthii* (DALLAGNOL et al., 2015), entretanto atividades enzimáticas também foram desencadeadas pelo Si e associadas à diminuição da intensidade das doenças.

Os danos causados pelos patógenos em plantas, desencadeiam danos celulares através da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), como peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ânion de superóxido (O_2-) e o radical de hidroxila (OH-) (BARBOSA et al., 2014). Em resposta, compostos bioquímicos são induzidos pelas plantas, como forma de atenuar os efeitos deletérios causadas pelo agente patogênico. O Si pode auxiliar na eficiência dessa resposta de defesa da planta contra o ataque de patógenos (FORTUNATO et al., 2012; DALLAGNOL et al., 2015; WHAN et al., 2016).

Dallagnol et al. (2015) verificaram que a aplicação de Si via raízes, induziu um efeito *priming* que resultou na antecipação e aumento na intensidade de respostas de defesa pós-infecção em plantas de meloeiro, o que resultou em uma melhor redução da área da colônia e da severidade do patógeno (oídio). Enzimas antioxidantes (SOD, CAT POX e LOX) e hidrolases como a QUI agem diretamente sobre o patógeno ou limitam o processo oxidativo, contribuindo para a resistência das plantas aos patógenos por antecipação, potencialização ou por variação na intensidade (picos), sendo de fundamental importância para resistência das plantas. Porém esses mecanismos de defesa só são potencializados desde que o Si seja ativamente absorvido pelas raízes da planta para atingir elevados teores, assim como da presença na forma solúvel no interior da planta (PEREIRA et al., 2009; DALLAGNOL et al., 2015).

O primeiro mecanismo inicial de defesa enzimática das plantas contra estresse, devido aos níveis elevados de ROS, é desencadeado pela SOD, que catalisam o O_2, gerando H_2O_2 e O_2 (BARBOSA et al., 2014). No entanto, quando o H_2O_2 é acumulado em altas concentrações nas membranas celulares, danos oxidativos podem ocorrer, e a detoxificação é então desencadeada pela CAT, que vai atuar protegendo a célula e buscando o equilíbrio fisiológico celular, através da eliminação do H_2O_2 e convertendo em H_2O e O_2 (DUBEY, 2011). Já a POX, está envolvida com os processos de proteção celular ao extresse oxidativo, em que remove o H_2O_2 e o utiliza no processo de lignificação e reforço da parede celular, contra a ação de enzimas líticas produzidas pelo patógeno (HIRAGA et al., 2001).

O acúmulo de H_2O_2 nas células, atua como diferentes funções de defesa à percepção de sinais de infecção causada por patógenos, os quais apresentam uma rápida resposta, devido à fácil movimentação do H_2O_2 pela membrana celular (FAGERSTEDT et al., 2010). O Si aliviou os danos oxidativos induzidos pela

infecção por *C. lindemuthianum*, verificado pela menor concentração de H_2O_2 em folhas de plantas de feijão (POLANCO et al., 2014).

Picos de aumento do H_2O_2 em raízes de plantas de feijão inoculados com esse mesmo patógeno (FOP) foram relacionados com a reação de hipersensibilidade, sendo posteriormente desencadeadas lesões nos tecidos (XUE; WU, 2014). No presente trabalho, verificou-se que a atividade da SOD foi superior quando apareceram as primeiras incidências da doença no hipocótilo, assim como no estágio mais avançado (312 hai), tanto no tratamento com CAC como no controle (-Si), os quais foram superiores ao Agrosilício®, esses resultados podem ser resultantes da incidência média de dano causado no hipocótilo, pois sementes recobertas com Agrosilício®, apresentaram as menores incidências em relação aos demais tratamentos, consequentemente pode ter ocorrido menor dano oxidativo e acúmulo de H_2O_2 após a inoculação nesta fonte. Enquanto que na folha, o recobrimento das sementes não influenciou a atividade da SOD quando inoculado, somente na ausência do patógeno pelas fontes de Si. O aumento da atividade da SOD deve estar associado ao estresse causado pelo processo de recobrimento durante os primeiros dias de emergência, o qual pode ter causado alteração no metabolismo enzimático inicial das plântulas.

Em hipocótilos provenientes de sementes inoculadas, o recobrimento das sementes com as fontes de Si, proporcionaram um pico da atividade da CAT nos tempos mais avançados da inoculação (a partir das 264 hai), demostrando, dessa forma, que as fontes de Si potencializaram a eliminação do H_2O_2 nos hipocótilos, uma vez que a atividade da enzima somente é efetiva em concentrações relativamente altas do H_2O_2, ou seja, quando as condições de estresse são elevadas (DUBEY, 2011). Já, a maior atividade da CAT em folhas foi verificada no tratamento controle (-Si), enquanto que a menor foi para o Agrosílicio®, em diferentes tempos após a inoculação. Esse fato pode estar relacionado ao atraso da infecção nas folhas, uma vez que o controle (-Si) obteve altas incidências de dano, assim como para a fonte de CAC, que não diferiu significativamente do controle (-Si) nos tempos iniciais de infecção. A desintoxicação do H_2O_2 por meio da CAT em folhas provenientes de sementes inoculadas e recobertas com CAC foi ineficiente. Polanco et al. (2014) verificaram que o fornecimento de Si, não teve efeito para a CAT em folhas de plantas de feijão inoculadas, uma vez que a enzima ascorbato peroxidase (APX) tem mais afinidade ao H_2O_2 do que a CAT, a qual reage com alterações muito

pequenas nas concentrações e assim sendo, mais importante na redução da concentração do H_2O_2.

A POX é uma enzima chave no processo de lignificação e sua atividade é induzida rapidamente e fortemente quando infectadas por FOP em feijão, de modo que a expressão da enzima é regulada de forma mais intensa nas raízes e caules e de menor intensidade nas folhas (XUE; WU, 2014). Neste trabalho, a ativação da POX a partir das 120 hai, pode ter agido, como um mecanismo de proteção celular contra o extresse oxidativo em hipocótilos provenientes de sementes inoculadas, uma vez que não foi observado acúmulo significativo de DLATG no início da infecção. No entanto, em tempos mais avançados (264 e 312 hai) tanto a atividade da POX como a concentração de DLATG, foram mais intensas quando na presença do Si em ambas as fontes, o qual pode estar agindo como um mecanismo direto contra o agente invasor. O reforço da parede celular é rapidamente ativado em resposta à penetração do patógeno, desencadeando o processo de lignificação, o qual vai resultar em uma barreira mecânica, limitando o crescimento do agente patogênico (DALLAGNOL et al., 2015). Dorneles et al. (2017), também verificaram a antecipação da atividade da POX, por meio de uma possível proteção celular contra o estresse oxidativo em plantas de trigo infectada por *Pyrenophora tritici-repentis* e supridas com Si. Nas folhas, no presente estudo, a partir das 216 hai a atividade da enzima POX, foi mais intensa na fonte de CAC inoculado, quando comparado com o Agrosilício® ou com o controle (-Si). Esses resultados demostram que, o Si fornecido por essa fonte, ativou os mecanismos de proteção celular na folha, uma vez que a porcentagem da incidência da doença nas folhas era semelhante ao do controle (-Si), enquanto que no Agrosilício® apresentou a menor atividade, provavelmente decorrente da menor incidência, que por sua vez, refletiu em menores danos celulares.

A QUI é uma enzima importante na defesa do hospedeiro contra o ataque de patógenos. As quitinases hidrolisam a quitina da parede celular do fungo prejudicando o seu desenvolvimento e, ao mesmo tempo, liberando oligômeros de quitina, que podem atuar também como indutores de resistência (SHARMA et al., 2011). Após a infecção por patógenos, ocorre um aumento na atividade, o que ocasiona redução do crescimento dos fungos e liberação de oligossacarídeos elicitores que induzem a produção de fitoalexinas (HARTLEB te al., 1997). Entre as

fitoalexinas, está a faseolina no feijão, a qual também foi induzida na presença do patógeno.

A máxima atividade da QUI foi verificada em sementes recobertas com CAC no estádio mais avançado da doença em hipocótilos, enquanto que nas folhas as fontes de Si com CAC o Agrosilício® obtiveram as maiores atividades às 264 hai em relação às sementes sem o recobrimento. Demostrando dessa forma que o Si fornecido pela CAC maximizou a atividade dessa enzima em plântulas de feijão inoculadas. Polanco et al. (2012) e Fortunato et al. (2012) também relataram aumento da atividade da QUI em plantas de feijão e banana supridas com Si e infectadas com *C. lindemuthianum* e *F. oxisporum* f. sp. *cubense* respectivamente.

A LOX, desempenha um importante papel na capacidade da célula hospedeira em resistir a infecções, mas também está envolvida em várias funções fisiológicas de crescimento e desenvolvimento das plantas (VAUGHN; GARDNER, 1993). Durante o processo infeccioso, os danos ocasionados pelo patógeno à membrana plasmática celular causam degradação dos lipídios pela ação das lipoxigenases, gerando os hidroperóxidos de ácidos graxos, os quais são metabolizados para formar vários produtos, como o ácido jasmônico, aldeídos voláteis e metabólicos secundários que estão envolvidos na resistência dos patógenos pelo efeito inibitório sobre o crescimento do agente invasor (VAUGHN; GARDNER, 1993). Polanco et al. (2012), verificaram que a resistência das plantas de feijão fornecidos com Si contra *C. lindemuthianum*, foi fortemente associada com a lignificação e a participação das enzimas da QUI, LOX e fenilalanina amônia-liases (PAL).

Hipocótilos e folhas provenientes de sementes não inoculadas apresentaram as maiores atividades da LOX até as 216 hai. Essa maior atividade também foi observada na ausência de Si. Resultados semelhantes foram encontrados por Pereira et al. (2009), que consideraram essa variação entre aumento e decréscimo normal, perante as atividades das enzimas relacionadas às respostas de defesa durante o processo infeccioso, devido a todas as possíveis mudanças citológicas decorrentes da interação planta-patógeno. Esses resultados podem variar em função da espécie da planta, estádio fenológico, tipo de tecido da planta e do ambiente. Entretanto, um pico na atividade foi verificado para CAC às 264 hai em plântulas de feijão provenientes de sementes inoculadas, no presente estudo. Isso demonstra que, nos tempos mais avançados da infecção causado pelo FOP, o Si

fornecido pela CAC foi capaz de ativar a LOX, porém não reduziu os danos do patógeno nas plântulas.

Houve ativação dos mecanismos de defesa contra o *F. oxisporum* sp. *phaseoli*, também na ausência do Si, os quais foram ativados no início das primeiras incidências da doença, bem como no tempo mais avançado (hai). Porém, não foram capazes de impedir a colonização dos tecidos do hipocótilo e das folhas após a inoculação, devido à baixa atividade das enzimas entre esses períodos, assim como na concentração de CFSTs. Isso demonstra que, aumentos na atividade das enzimas antioxidantes e de hidrolases, ocorrem como resposta natural do hospedeiro durante a colonização pelo patógeno, constituindo-se em prováveis mecanismos de proteção celular ou tentativas de contenção do patógeno (DALLAGNOL, 2010).

As principais contribuições do fornecimento de Si através do recobrimento das sementes pela fonte de Agrosilício®, ocorreram quando as sementes foram submetidas à inoculação com o FOP, as quais apresentaram menor número de plântulas anormais, maior desenvolvimento de parte aérea de plântulas, assim como o maior acúmulo de Si em raízes e hipocótilos. Essa fonte de Si contribuiu para um melhor equilíbrio fisiológico celular, amenizando os danos como na redução da incidência da doença nas plântulas e aumentou e ativou rapidamente a proteção celular contra o estresse oxidativo, principalmente na atividade da enzima POX em hipocótilo, logo no início da emergência das plantas. A POX participa do sistema antioxidante, que provavelmente utilizou o H_2O_2 como o substrato para a biossíntese de lignina, servindo então como uma barreira físico-química contra o agente patogênico, resultado da polimerização do Si juntamente com a deposição da lignina (espessamento da parede celular), o qual ajudou a retardar a infecção, como verificado pela baixa atividade da QUI em hipocótilos no tempo mais avançado da infecção. Xue e Wu (2014) relataram que plantas de feijão inoculadas com FOP tiveram aumento da atividade da POX e do H_2O_2 em dois momentos, um logo no início da infecção e outro quando as lesões ficaram visíveis nos locais infectados, os quais são importantes na resposta de defesa das plantas contra o patógeno. Além disso, uma maior eficiência do sistema antioxidante em plântulas de feijão também foi verificada nos estágios posteriores da infecção, representada pelo aumento da atividade da CAT a partir das 264 hai, o que também pode ter ajudado a reduzir os

danos causado pelo acúmulo de ROS, ocorrendo dessa forma reajustes na fisiologia da célula, a fim de conter o patógeno.

No caso do recobrimento das sementes com CAC, quando na presença do FOP, embora tenha proporcionado maior acúmulo de Si nas raízes, crescimento de plântulas e aumento das enzimas antioxidantes, os danos da doença em plântulas não foram amenizados, sendo a incidência muito similar ao controle (-Si). O Si é absorvido pelas raízes na forma de ácido monosilícico, e no caso do feijão fica retido nas camadas de suberina presentes na endoderme das raízes na forma de ácido polimerizado (silíca amorfa) (RAVEN, 2001). Essa silíca amorfa forma uma barreira física que pode impedir a penetração do patógeno nas células, porém essa barreira não é uniforme, deixando regiões na epiderme desprotegidas e propensas ao ataque do patógeno (DALLAGNOL, 2010). A geração de ROS como ânion de superóxido (O_2), é a primeira resposta perante o início da penetração do patógeno, o qual vai ativar a atividade da enzima SOD, que vai catalisar o O_2- gerando H_2O_2. O acúmulo do H_2O_2 nas células vai atuar através de diferentes mecanismos de defesa celular, sendo que tanto a CAT como a POX vão participar desse processo, através da desintoxicação da ROS. Em hipocótilos, apesar da CAT ter atingido as maiores atividades nos tempos mais avançados após a inoculação, assim como a POX, não foi eficiente para reduzir os danos celulares. Este fato pode estar relacionado com a concentração de H_2O_2 inicial, uma vez que, quando acumulado em altas concentrações nas membranas celulares, danos oxidativos podem acontecer. No entanto, o aumento da atividade da POX, consumiu parte do H_2O_2 e contribuiu assim para a formação de lignina nos tempos mais avançados da inoculação, porém, não foi eficiente para bloquear a colonização do patógeno, provavelmente devido ao atraso das atividades dos mecanismos de defesa. A enzima QUI pode ter contribuído para a restrição da colonização do patógeno, uma vez que atua diretamente sobre a parede celular do fungo, e provavelmente pode ter agido impedindo a colonização adicional dos tecidos do hospedeiro pelo patógeno. Vale ressaltar que outros mecanismos não avaliados neste estudo podem estar envolvidos nessas respostas, uma vez que ativou as enzimas antioxidantes, mas não amenizou os danos causados pelo FOP, os quais merecem ser estudados em trabalhos futuros e com mais tempo de condução.

3.5 Conclusões

A associação do *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* nas sementes prejudica a emergência e crescimento das plântulas de feijão.

O Si tem pouco efeito nas respostas em plântulas não inoculadas com *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, mas eleva a concentração de lignina.

Na presença do *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, o Si desencadeia melhor desempenho inicial das plântulas e favorece e potencializa os mecanismos de defesa.

A fonte de Si fornecido pelo Agrosilício® proporciona uma antecipação rápida inicial da peroxidase, o que pode ter amenizado e atrasado os danos do patógeno nas plântulas.

A CAC como fonte de Si, embora tenha contribuído para a potencialização das enzimas de defesa nos períodos mais avançados da infecção, não se mostra eficiente no controle da incidência da doença.

4 CAPÍTULO III – Silício altera desenvolvimento inicial de plântulas de feijão oriundas de sementes infectadas por *Colletotrichum lindemuthianum*

4.1 Introdução

A antracnose (*Phaseolus vulgaris* L.), causada por *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc & Magnus) Lams.-Scrib é a principal doença fúngica da cultura do feijão. É uma doença devastadora em regiões com temperatura moderadas e alta umidade relativa do ar causando danos de até 100% no rendimento de grãos em cultivares altamente suscetível e comprometendo a qualidade das sementes (PADDER et al., 2017).

Sementes contaminadas pelo fungo constituem a principal forma de sobrevivência e disseminação de *C. lindemuthianum* para áreas indenes, representando uma grande ameaça durante o estabelecimento da cultura. O patógeno também pode sobreviver em restos culturais. A disseminação secundária ocorre principalmente por respingos de água e pelo vento (SINGH; SCHWARTZ, 2010; SILVA et al. 2013). A doença pode ocorrer em qualquer fase de desenvolvimento, mas é durante a fase de plântula que ocorre a maior suscetibilidade ao patógeno, pois os tecidos são pouco lignificados. As lesões da antracnose podem ocorrer nos cotilédones, hipocótilo, nas folhas, caule, ramos, vagens e sementes (CAMPA et al., 2015).

O manejo da doença deve envolver um conjunto de medidas tais como a rotação de culturas, uso de cultivares resistentes, sementes livres do patógeno, e de fungicidas para o tratamento de semente e para pulverização na parte aérea. No entanto, o uso sequencial de fungicida pode levar à seleção de indivíduos resistentes a determinados grupos químicos (SINGH; SCHWARTZ, 2010; CRUZ et al., 2014; MARINGONI; TRABANCO et al., 2015). Assim, outras estratégias com o uso de medidas alternativas são importantes para reduzir os danos da doença. Dentre as alternativas potenciais está o silício.

O silício (Si) é considerado um elemento não essencial, mas que desempenha um papel significativo, especialmente em reduzir danos bióticos e abióticos nas plantas (DEBONA et al., 2017). Em muitas culturas o efeito do Si é relatado na redução da intensidade de doenças (DALLAGNOL et al., 2005; FORTUNATO et al., 2012, 2014; POLANCO et al., 2012, 2014; DORNELES et al., 2017). Os mecanismos pelo qual o Si atua, envolvem desde barreira física à penetração de patógenos pela deposição do Si e polimerização na cutícula e na parede celular (HUANG et al., 2011; GUERRIERO et al., 2016); bem como pela ativação de respostas bioquímicas de defesa da planta por meio da ativação de enzimas de defesa (POLANCO et al., 2014; DORNELES et al., 2017), produção de compostos fenólicos (TATAGIBA et al., 2014), fitoalexinas (HAYNES, 2017) e lignina (POLANCO et al., 2012); e ao nível molecular pela regulação da expressão de genes envolvidos na defesa e resposta ao estresse (GHAREEB et al., 2011; WANG et al., 2017).

A elevada concentração foliar de Si reduziu os sintomas da antracnose nas nervuras das folhas de feijão (CRUZ et al., 2014), aumentou as atividades das enzimas antioxidantes (POLANCO et al., 2014) e a concentração de lignina (POLANCO et al., 2012), eventos importantes para o aumento da resistência da planta contra a infecção do fungo. Plantas de arroz supridas com Si produziram sementes vigorosas e com menor incidência de sintomas de *Bipolares oryzae* nas plântulas (DALLAGNOL et al., 2013). Em tomate o aumento da concentração de silício na raiz correlacionou positivamente com a redução da severidade da doença causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (HUANG et al., 2011). Tunes et al. (2014), verificaram que recobrimento de sementes com CAC e caulim reduziram a incidência de fungos em sementes de arroz. A aplicação de produtos contendo Si no tratamento de sementes de arroz e soja tem conferido maior emergência e desenvolvimento de plântulas com maior vigor (TUNES et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2016). Assim, acredita-se que o recobrimento de sementes de feijão com produtos contendo Si, pode ser potencialmente benéfico para o desenvolvimento das plântulas, além de fortalecer a defesa contra o ataque de patógenos nos estádios iniciais da cultura.

Neste estudo, foi avaliado o efeito do recobrimento de sementes com silício em resposta à infecção em cultivar suscetível e resistente ao *Colletotrichum lindemuthianum*, sobre o potencial fisiológico e sanitário das sementes e plântulas, durante o desenvolvimento inicial do feijão.

4.2 Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Análise de Sementes e no Laboratório de Patologia de Sementes da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, da Universidade Federal de Pelotas, Campão do Leão – RS.

4.2.1 Sementes utilizadas

As cultivares BRS Esplendor, caracterizada como resistente, e IPR Tuiuiú, caracterizada como suscetível ao *C. lindemuthianum* (COSTA et al., 2011; IAPAR, 2010), foram utilizadas nos experimentos. A desinfestação superficial das sementes foi realizada por meio de banhos, de 60 segundos cada, com álcool 70% (v/v), seguido de hipoclorito de sódio 1% (v/v) e três banhos de água destilada e esterilizada (JUNGES et al., 2017). Em seguida, as sementes foram postas para secar sob papel filtro em temperatura ambiente durante 48 horas, sendo posteriormente submetidas ao processo de inoculação.

4.2.2 Inoculação em sementes de feijão

O isolado CL01 de *C. lindemuthianum*, pertencente à micoteca do Laboratório de Bacteriologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas foi utilizado para inoculação. Para tal, o fungo foi repicado em placas de petri contendo meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar) modificado visando à restrição hídrica para -0,6Mpa utilizando soluto sacarose. Imediatamente após a repicagem do fungo as placas foram incubadas em câmara de crescimento tipo BOD à 22 ± 1ºC e fotoperíodo de 12h por 25 dias (CARVALHO, 1999). Após este período, as sementes de feijão foram distribuídas aleatoriamente sobre as placas e levemente prensadas sobre o meio completamente colonizado pelo fungo, o tratamento contendo sementes não inoculadas (artificialmente) com o fungo foi acondicionado somente sobre o meio de cultura modificado, por 48h, em temperatura de 22ºC e fotoperíodo de 12h. Em seguida as sementes foram removidas e distribuídas sobre papel filtro, em temperatura controlada de 20ºC, por 48h, para que pudessem retornar ao teor de água inicial. Decorrido esse período as sementes foram submetidas ao processo de recobrimento com Si.

4.2.3 Aplicação de silício

A fonte de Si utilizada foi o Agrosilício® (silicato de cálcio e magnésio), composto de 10,5% de Si, 25% de cálcio e 7% de magnésio. A forma de aplicação do Si foi através do recobrimento das sementes, na dose de 90g de Si para 100kg de semente (+Si) o equivalente a 854,7g do produto comercial, mais polímero (Collor Seed®) e água totalizando um volume de calda de 1L para $100kg^{-1}$ de sementes. O processo de recobrimento foi realizado manualmente em sacos plásticos de polietileno. Para tal, 90g de Si, 300mL de polímero e 700mL de água foram homogeneizados, e em seguida foram adicionados 200g de sementes, seguido de agitação manual dos sacos por 2 minutos, até que o produto ficasse complemente aderido à semente. Em seguida, os sacos contendo as sementes recobertas foram abertos e colocadas as sementes para secar a 20ºC por 48h. No tratamento sem o recobrimento com silicato (-Si), as sementes somente receberam 300mL de polímero e 700mL de água.

4.2.4 Delineamento experimental

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 × 2 × 2, com quatro repetições, onde os fatores foram: cultivar (BRS Esplendor e a IPR Tuiuiú), aplicação de silicato (com e sem recobrimento com Agrosilício®) e inoculação (sementes inoculadas ou não com *C. lindemuthianum*).

4.2.5 Desempenho inicial de plântulas de feijão

Na avaliação do desenvolvimento inicial da cultura foram mensuradas as seguintes variáveis: germinação, primeira contagem do teste de germinação, emergência, índice da velocidade de emergência (IVE), comprimento total da plântula, comprimento de parte aérea e de raiz, massa seca total, massa seca de parte aérea, massa seca de raiz e massa seca de parte aérea aos 15 dias após semeadura (DAS).

A avaliação da germinação foi realizada com quatro repetições de 50 sementes por tratamento, semeados em rolo de papel germitest, umedecidas com água destilada, na proporção de 2,5 vezes a massa do papel e acondicionados em

germinador a 25 ± 2ºC. A contagem de plântulas normais foi realizada aos cinco e nove dias após a instalação do teste e os resultados expressos em porcentagens (BRASIL, 2009a).

O teste de primeira contagem de germinação foi realizado conjuntamente com o teste de germinação, constitui no registro da porcentagem de plântulas normais verificadas no quinto dia após a semeadura, sendo os resultados expressos em porcentagens de plântulas normais (BRASIL, 2009a).

A avaliação da emergência de plântulas foi realizada com 200 sementes por tratamento, distribuídas em quatro repetições de 50 sementes. Cada repetição foi composta de 10 copos plásticos de 500mL, contendo areia lavada, peneirada e estilizada em autoclave por duas vezes (120ºC e 1atm durante uma hora com intervalo de 24h). Em cada copo foram semeadas cinco sementes na profundidade de 2cm. A areia foi umedecida com água, obedecendo à capacidade de campo de 60% da retenção e conservado úmido sempre que necessário. Os tratamentos foram mantidos em ambiente controlado com temperatura de 20 ± 1ºC e fotoperíodo de 12h. A avaliação foi realizada diariamente até 15 dias após a semeadura (DAS), sendo consideradas na emergência final, plântulas normais emergidas aquelas que apresentavam as folhas primárias expandidas, com resultados expressos em porcentagens.

Os dados da avaliação diária da emergência foram utilizados para determinar o IVE. Para tal, para cada repetição foi aplicada a fórmula de Maguire (1962):

IVE: $(E_1 \div N_1) + (E_2 \div N_2) + ... + (En \div Nn)$

Onde: IVE = índice de velocidade de emergência; E_1, E_2, Em: número de plântulas normais computadas na primeira, segunda e última contagem e N_1, N_2, Nn: número de dias entre a semeadura e a primeira, segunda e última contagem.

A determinação do comprimento de parte aérea, da raiz e o comprimento total da plântula foi realizado do modo similar ao usado no teste de germinação, sendo avaliado no quinto dia após a montagem do teste, em quatro subamostras de 10 plântulas para cada tratamento. As plântulas foram amostradas aleatoriamente a partir da semeadura de 20 sementes por repetição no terço superior da folha de papel germitest, umedecidas com água destilada com 2,5 vezes a massa do papel. Os rolos foram acondicionados em germinador à 25 ± 2ºC. Determinaram-se as mensurações com auxílio de régua graduada em milímetros, sendo o comprimento

da raiz obtido pela subtração do comprimento total pelo comprimento da parte aérea. Os resultados foram expressos em centímetros (NAKAGAWA, 1999).

A determinação da massa seca de parte aérea, massa seca de raiz e massa seca total foi realizada nas plântulas normais avaliadas no teste de comprimento. Foram separadas a raiz e a parte aérea das plântulas de cada repetição e secas em estufa a 70ºC, até o peso constante, obtido em 72h. A massa seca total foi obtida pelo somatório do peso da massa seca de raiz e massa seca de parte aérea, sendo os resultados expressos em gramas (NAKAGAWA, 1999).

Massa seca de parte aérea aos 15 DAS foi determinada após a contagem final do teste de emergência, parte aérea das plântulas normais de cada repetição dos tratamentos foram coletadas, colocadas em sacos de papel e secas em estufa regulada a 60ºC até atingir peso constante, obtido em 72h. Os resultados foram expressos em gramas por plântula.

4.2.6 Avaliação da incidência e severidade de *C. lindemuthianum* em feijão

A incidência de *C. lindemuthianum* em feijão foi determinada pelo método do rolo de papel, utilizando quatro repetições de 50 sementes (BRASIL, 2009b). As sementes foram distribuídas em folhas de papel germitest, umedecidas com água destilada na proporção de 2,5 vezes a massa do papel. Os rolos foram acondicionados em sacos plásticos pretos com pequenas perfurações, onde em seguida foram colocados dentro de câmera tipo BOD, com temperatura controlada de 22ºC no escuro e permanecendo durante um período de 7 dias. A avaliação foi realizada no sétimo dia após a incubação, por meio da observação de lesões necróticas escuras nos cotilédones e no hipocótilo. Os resultados expressos em porcentagem de incidência.

Nas plantas do teste de emergência, a partir do quinto dia após a semeadura foi iniciado as avaliações dos sintomas da doença nas folhas primárias das plântulas. As avaliações foram realizadas a cada 48h utilizando uma escala diagramática descrita no Anexo B, de Dalla Pria e Amorim (2010). Com os dados da severidade em função do tempo foi calculada a área abaixo da curva do progresso da doença (CAMPBELL; MADDEN, 1990), conforme a seguinte fórmula:

AACPD: $\Sigma[(Y1+Y2/2)* (t_2-t_1)]$.

Onde: Y_1: nota da avaliação no tempo t_1; Y_2: nota da avaliação consecutiva no tempo t_2; t_1-t_2: intervalo em dias entre duas avaliações consecutivas.

A severidade da doença avaliada aos 15 DAS foi determinada pelo índice de doença de McKinney (MCKINNEY, 1923), conforme a fórmula:

ID (%): $((\Sigma(Y*X_y))/(X_t*h)*100$.

Onde: Y: nota; X_y: número de plantas com esta nota; X_t: número total de plantas; h: valor máximo da escala.

Posteriormente foi determinada no final do teste de emergência, a incidência de danos da doença no hipocótilo e na folha. Nesta avaliação foram observados danos característicos da doença em todas as plântulas das repetições dos tratamentos, sendo os resultados expressos em porcentagem de incidência da doença (MAFFIA et al., 2007).

4.2.6.1 Quantificação da faseolina

Para quantificação da faseolina em hipocótilos de feijão foi utilizado a metodologia proposta por Dixon et al. (1983) com modificações. Para tal, as sementes de feijão foram distribuídas uniformemente, em quatro repetições de 10 sementes por tratamento, em rolo de papel germitest e umedecidas com água destilada na proporção de 2,5 vezes a massa do papel. Os rolos de papel foram colocados em sacos plásticos com pequenas perfurações e depositados em pé em câmera tipo BOD a 25ºC, no escuro. Após sete dias, quatro segmentos com 4cm, da região central do hipocótilo foram destacados das plântulas e pesados em balança de precisão (0,001g), após transferidos para tubos de ensaio, contendo 10mL de etanol 98%. Os tubos de ensaio foram mantidos a 4ºC por 48h, e posteriormente agitados em mesa agitadora a 150rpm a 25ºC por uma hora, para extração da faseolina. A concentração da faseolina formada foi mensurada em espectrofotômetro a 280nm. Os resultados foram expressos em unidade de absorbância por grama por massa fresca.

4.2.7 Determinação da concentração de silício e cálcio em parte aérea da plântula

Ao final do experimento, a parte aérea de plântulas (hipocótilo + folha) de cada repetição dos tratamentos foi coletada, lavada com água deionizada, seca a 70ºC durante 72h, em seguida triturada em moinho com peneira de 40 mesh. A concentração de Si foi determinada com base na análise colorimétrica de digestão alcalina de 0,1g de tecido seco (ELLIOTT; SNYDER, 1991). A concentração de Ca em parte aérea foi determinada por digestão nitro-perclórica de 0,2g de tecido seco conforme a metodologia de Malavolta et al. (1987).

4.2.8 Análise estatística

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade dos resíduos por Shapiro-Wilk e homogeneidade das variâncias por Bartlett, e ao atender as pressuposições foi feita a análise de variância e a comparação de médias pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. As variáveis que não atenderam os pressupostos foram transformadas através do sistema Box-Cox, possibilitando o ajuste dos dados para a realização da ANOVA.

4.3 Resultados

4.3.1 Desempenho inicial de plântulas de feijão

Na primeira contagem do teste de germinação (PCG), não ocorreu interação significativa entre os fatores, apenas para inoculação e cultivar (Tabela 18). A inoculação das sementes com *C. lindemuthianum* reduziu a porcentagem de plântulas normais em 11%, em relação às sementes não inoculadas. Entre as cultivares a cv. IPR Tuiuiú obteve a menor porcentagem de PCG em relação a BRS Esplendor.

Tabela 188. Porcentagem de plântulas normais do teste de primeira contagem de germinação, de sementes de feijão de duas cultivares, que foram inoculadas (I) ou não inoculadas (NI) com *Colletotrichum lindemuthianum*.

Tratamentos	**Primeira contagem do teste de germinação (%)**
Inoculação	
I	78 b
NI	89 a
Cultivar	
BRS Esplendor	94 a
IPR Tuiuiú	72 b

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Interação significativa entre cultivar e inoculação (Tabela 19) e inoculação e recobrimento (Tabela 21) ocorreu para a germinação. A presença do fungo nas sementes reduziu a germinação das sementes independente do recobrimento (Tabela 21), sendo em 13% para a cv. IPR Tuiuiú e 6% na BRS Esplendor (Tabela 19). A cv. BRS Esplendor apresentou as maiores porcentagens de germinação em relação a cv. IPR Tuiuiú, cerca de 21% para sementes inoculadas e 14% para as não inoculadas (Tabela 19).

Tabela 199. Porcentagem de germinação em função das cultivares de feijão inoculadas (I) ou não (NI) com *Colletotrichum lindemuthianum.*

Inoculação	**Cultivar**	
	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor
	Germinação (%)	
I	72 Bb	93 Ab
NI	85 Ba	99 Aa

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A cv. BRS Esplendor foi significativamente mais vigorosa que a IPR Tuiuiú, verificados pelos testes de emergência, massa seca de raiz (MSR) (Tabela 20), comprimento total de plântulas (CTP), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca de plântulas aos 15 DAS (MSP15) e índice de velocidade de emergência (IVE) (Tabela 23).

Tabela 20. Médias da emergência de plântulas e massa seca de raiz (MSR) em função das cultivares de feijão.

Cultivar	**Emergência** (%)	**MSR** (g plântula^{-1})
BRS Esplendor	87 a	0,16 a
IPR Tuiuiú	62 b	0,13 b

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A emergência das plântulas foi influenciada negativamente na presença do fungo, independente do recobrimento das sementes e ao comparar sementes inoculadas dentro do recobrimento, verificamos que quando na presença do fungo, as sementes recobertas com Si, proporcionaram aumento de 7% de plântulas normais emergidas quando comparadas com a ausência de Si (Tabela 21).

Tabela 21. Germinação e emergência de plântulas, em função do recobrimento (+Si) ou não (-Si) das sementes com Si e da inoculação (I) ou não (NI) com *Colletotrichum lindemuthianum*.

Si (90 g 100kg^{-1} de sementes)	**Inoculação**			
	I	NI	I	NI
	Germinação (%)		**Emergência** (%)	
+Si	80 Ba	93 Aa	70 Ba	82 Aa
-Si	84 Ba	91 Aa	65 Bb	81 Aa

*Médias seguidas pela mesma letra, minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A massa seca de raiz (MSR) foi 35,3% maior nas plântulas oriundas de sementes recobertas com Si, em comparação com as não recobertas. No entanto, resultado inverso foi verificado para massa seca de parte aérea, na ausência do Si houve um aumento de 13,5% no teor da MSPA, em relação as recobertas com Si (Tabela 22).

Tabela 222. Massa seca de raiz (MSR) e massa seca de parte aérea (MSPA) de plântulas oriundas de sementes recobertas (+Si) ou não com Si (-Si).

Si (90 g 100kg^{-1} de sementes)	**MSR**	**MSPA**
	----------(g plântula^{-1})----------	
+Si	0,17 a	1,15 b
-Si	0,11 b	1,33 a

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Interação significativa entre os fatores cultivar, inoculação e recobrimento das sementes, foram verificados para os testes de comprimento total de plântula (CTP), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca de plântulas aos 15 DAS (MSP15) e índice de velocidade de emergência (IVE) (Tabela 23).

Comportamento distinto entre as cultivares em relação as sementes inoculadas foram observadas quando as sementes foram recobertas com Si. A cv. IPR Tuiuiú (suscetível) inoculada, apresentou maiores valores de CTP, CR e MSP15 em relação as não inoculadas, correspondendo a um incremento aproximadamente de 15, 19, 13% respectivamente. Já para a cv. BRS Esplendor (resistente), houve

redução do CPA em 8,4% quando na presença do fungo em comparação às não inoculadas, enquanto que para as demais variáveis (CTP, CR e MSP15) não houve diferenças significativas (Tabela 23).

Tabela 233. Comprimento total de plântula (CTP), comprimento de parte aérea (CPA), comprimento de raiz (CR), massa seca de plântulas aos 15 DAS e índice de velocidade de emergência (IVE), em função do recobrimento das sementes com Si (+Si) ou não (-Si) e da inoculação (i) ou não (NI) com *Colletotrichum lindemuthianum* em duas cultivares de feijão.

	Comprimento total de plântula (cm plântula^{-1})			
Inoculação	+Si		-Si	
	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor
I	22,95 Baα	27,32 Aaα	14,02 Baβ	20,54 Aaβ
NI	19,60 Bbα	28,92 Aaα	13,53 Baβ	19,39 Aaβ
	Comprimento de parte aérea (cm plântula^{-1})			
Inoculação	+Si		-Si	
	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor
I	10,20 Baα	12,59 Abα	6,05 Baβ	7,79 Aaβ
NI	9,25 Baα	13,75 Aaα	5,81 Baβ	7,31 Aaβ
	Comprimento de raiz (cm plântula^{-1})			
Inoculação	+Si		-Si	
	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor
I	12,75 Baα	14,73 Aaα	7,97 Baβ	12,76 Aaβ
NI	10,35 Bbα	15,17 Aaα	7,72 Baβ	12,08 Aaβ
	Massa seca de plântulas aos 15 DAS (g plântula^{-1})			
Inoculação	+Si		-Si	
	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor
I	0,08 Baα	0,10 Aaα	0,06 Bbβ	0,01 Aaα
NI	0,07 Bbα	0,11 Aaα	0,07 Baα	0,11 Aaα
	IVE			
Inoculação	+Si		-Si	
	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor
I	1,63 Bbα	2,13 Abα	1,44 Abβ	1,52 Abβ
NI	1,98 Baα	3,53 Aaα	1,98 Baα	2,62 Aaβ

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Médias seguidas por símbolos iguais (β ou α) não diferem significativamente entre si, para silício (com + Si e sem -Si) dentro de cada cultivar inoculada (I) ou não inoculada (NI).

Quando na ausência do Si, não houve diferenças estatísticas significativas para as variáveis de crescimento (CTP, CPA, CR e MSP15) em relação a inoculação dentro de cada cultivar, exceto para MSP15 o qual o fungo proporcionou redução de 5,9%, em comparação com as não inoculadas (Tabela 23).

Sementes inoculadas *C. lindemuthianum* proporcionaram redução do IVE independente da cultivar e do recobrimento das sementes, afetando negativamente a emergência rápida das plântulas (Tabela 23).

Sementes recobertas com Si, independente da cultivar e da inoculação, proporcionou plântulas com maior CTP, CPA, CR e IVE, exceto nessa última

variável, onde o fornecimento de Si na cv. IPR Tuiuiú não inoculada, não teve efeito significativo. Enquanto que para a MSP15, o efeito significativo do Si só foi observado para a cv. IPR Tuiuiú inoculada com o fungo, o qual apresentou um incremento de 17% em comparação com as sementes não recobertas (Tabela 23).

4.3.2 Incidência e severidade da antracnose

Menor incidência de sintomas de *C. lindemuthianum* (IC) nos cotilédones e no hipocótilo das plântulas de feijão, foi observado na cv. BRS Esplendor quando comparado com a cv. IPR Tuiuiú (Tabela 24 e 25), e em sementes não inoculadas, em relação as inoculadas independente da cultivar (Tabela 25). Na cv. IPR Tuiuiú as sementes recobertas com Si apresentaram incidência de 17,25% menor em relação as sementes não recobertas. Contudo, não houve diferença significativa quanto ao efeito do Si para a cv. BRS Esplendor (Tabela 24).

Tabela 244. Incidência de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijão (IC), em função do recobrimento das sementes com Si (+Si) ou não (-Si) e de cultivares.

Si	**Incidência de *C. lindemuthianum* (%)**	
(90 g 100kg^{-1} de sementes)	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor
+Si	44,50 Ab	17,25 Ba
-Si	61,75 Aa	21,25 Ba

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) foi 88% menor nas plântulas originadas de sementes não inoculadas, em comparação as inoculadas na cv. BRS Esplendor (Tabela 25).

Tabela 255. Incidência de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijão (IC), área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e indução de faseolina em hipocótilos, em função de cultivares e da inoculação (I) ou não (NI) de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijão.

Inoculação	**Cultivar**					
	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor
	IC (%)		**AACPD**		**Faseolina** (ABS(280nm)/g.p.f)	
I	84 Aa	35 Ba	5,63 Aa	6,71 Aa	0,81 Aa	0,60 Ba
NI	22,3 Ab	3,5 Bb	5,21 Aa	0,81 Bb	0,52 Ab	0,58 Aa

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Não houve diferença significativa na AACPD entre as cultivares para as sementes inoculadas, mas para as plântulas de sementes não inoculadas, a AACPD foi 84,4% menor na cv. BRS Esplendor em relação a IPR Tuiuiú (Tabela 25).

A AACPD foi 75% menor nas plântulas oriundas de sementes recobertas com Si em comparação as plântulas de sementes não recobertas (Tabela 26).

Tabela 266. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de sementes recobertas (+Si) ou não com Si (-Si).

Si (90 g 100kg^{-1} de sementes)	**AACPD**
+Si	2,07 b
-Si	8,25 a

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Interação significativa entre inoculação e cultivar ocorreu para o acúmulo de faseolina em hipocótilo de feijão. A maior absorbância, até 36%, foi observada para cv. IPR Tuiuiú inoculada, em comparação a mesma cultivar não inoculada, e com a cv. BRS Esplendor (Tabela 25). O acúmulo de faseolina em hipocótilo de feijão apresentou interação significativa entre inoculação e o recobrimento com Si. Sementes inoculadas e que não receberam o recobrimento com Si, obtiveram maior absorbância, em comparação às não inoculadas, e com as plântulas de sementes recobertas com Si (Tabela 27).

Tabela 277. Indução de faseolina em hipocótilos de feijão em função do recobrimento das sementes com Si (+Si) ou não (-Si) e da inoculação (i) ou não (NI) com *Colletotrichum lindemuthianum*.

Si (90 g.100kg^{-1} de sementes)	**Inoculação**	
	I	NI
	Faseolina (ABS (280nm)/g.p.f)	
+Si	0,59 Ab	0,59 Aa
-Si	0,82 Aa	0,52 Ba

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A cv. IPR Tuiuiú independente da inoculação e do recobrimento, apresentaram as maiores porcentagens do índice de doença (ID), incidência sintomas em folha (IF) e sintomas no hipocótilo (IH) em comparação com a cv. BRS Esplendor, exceto para ID em sementes recobertas e inoculadas, onde as cultivares não apresentaram diferenças significativas (Tabela 28).

Quanto a inoculação, a presença do fungo nas sementes da cv. BRS Esplendor proporcionou as maiores porcentagens de ID, IF e IH em relação as não inoculadas, independente do recobrimento das sementes, enquanto que para a cv.

IPR Tuiuiú, esse comportamento de aumento dos danos foi verificado somente para sementes recobertas com Si, nas variáveis de ID e IF (Tabela 28).

Tabela 288. Índice de doença (ID), incidência de danos da doença em folhas (IF), incidência de danos da doença no hipocótilo (IH) causado pela inoculação (I) ou não (NI) do *Colletotrichum lindemuthianum* em função do recobrimento das sementes com Si (+Si) ou não (-Si) em duas cultivares de feijão.

Inoculação	**Índice de doença (ID)** (%)			
	+Si		-Si	
	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor
I	17,29 Aaα	15,07 Aaα	33,58 Aaβ	22,44 Baβ
NI	12,81 Abα	10,49 Bbα	32,13 Aaβ	10,87 Bbα
Inoculação	**Incidência de danos da doença em folhas (IF)** (%)			
	+Si		-Si	
	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor
I	21,79 Aaα	6,25 Baα	49,51 Aaβ	33,59 Baβ
NI	4,74 Abα	0 Bbα	52,42 Aaβ	5,19 Bbβ
Inoculação	**Incidência de danos da doença no hipocótilo (IH)** (%)			
	+Si		-Si	
	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor
I	9,57 Aaα	2,41 Baα	7,32 Aaα	3,51 Baα
NI	6,70 Aaα	0,71 Bbα	6,19 Aaα	1,39 Bbα

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Médias seguidas por símbolos iguais (β ou α) não diferem significativamente entre si, para silício (com + Si e sem -Si) dentro de cada cultivar inoculada (I) ou não inoculada (NI).

O recobrimento das sementes com Si reduziu significativamente o ID e IF, em comparação com a ausência de Si, independente da inoculação ou cultivar, no entanto não se observou essa mesma diferença entre o recobrimento das sementes para a IH (Tabela 28).

4.3.3 Concentração de silício e cálcio em parte aérea

Não houve diferenças significativas para a concentração de Si em parte aérea proveniente de sementes recobertas ou não com Si. Interação significativa ocorreu entre cultivar e inoculação. Incremento de 18,8% na concentração de Si na parte aérea foi observada para a cv. BRS Esplendor não inoculado em comparação com as inoculadas. A concentração de Si foi 20,7% maior na BRS Esplendor em relação à cv. IPR Tuiuiú, ambas não inoculadas (Tabela 29).

Tabela 299. Concentração de silício (Si) em parte aérea de plântulas, em função de cultivares e da inoculação (I) ou não (NI) com *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijão.

Inoculação	**Si** (g kg^{-1})	
	IPR Tuiuiú	BRS Esplendor
I	3,82 Aa	3,53 Ab
NI	3,45 Ba	4,35 Aa

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Para concentração de cálcio em parte aérea houve interação significativa entre inoculação e recobrimento com Si (Tabela 30).

Tabela 30. Concentração de cálcio (Ca) em parte aérea de plântulas, em função do recobrimento das sementes com Si (+Si) ou não (-Si) e da inoculação (I) ou não (NI) com *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijão.

Inoculação	**Ca** (g.kg^{-1})	
	+Si	-Si
I	2,00 Bb	2,47 Aa
NI	2,49 Aa	2,41 Aa

*Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nas sementes inoculadas, a concentração de Ca foi 19% menor nas plântulas oriundas de sementes recobertas com Si em relação as plântulas de sementes não recobertas. Para as plântulas oriundas de sementes recobertas, a concentração de Ca foi 19,7% maior nas plântulas de sementes não inoculadas em comparação as inoculadas (Tabela 30).

4.4 Discussão

A antracnose é uma das doenças mais importantes da cultura, sendo seus danos mais prejudiciais quando detectados no início do cultivo (PEREIRA et al., 2017). As sementes são uma das principais fontes de inóculo inicial, podendo o fungo sobreviver por longos períodos em sementes infectadas (MARCENARO; VALKONEN, 2016). Neste estudo, a presença do *C. lindemuthianum* nas sementes de feijão influenciou negativamente o desempenho de plântulas normais no teste de PCG, germinação, IVE e emergência final, além de se obter maior porcentagem de incidência da doença em plântulas (IC), índice de doença e incidência de danos em folha e hipocótilo.

A incidência de sintomas da antracnose em plântulas avaliadas em rolo de papel germitest (IC), variou de 35 a 84%, enquanto que nas folhas chegaram a 52,4% e no hipocótilo em 9,6% entre as cultivares, no entanto nota-se que as sementes não inoculadas também obtiveram elevadas incidências da doença nas plântulas, esse fato provavelmente se deve ao fungo estar infectando as sementes internamente, uma vez que foi realizado a desinfestação superficial das mesmas inicialmente. As plântulas sintomáticas apresentavam lesões pequenas de coloração marrom nos cotilédones, e no hipocótilo lesões de coloração escura, em formato alongado e deprimido. Já nas folhas, na parte inferior, as lesões necróticas de coloração marrom escura surgiram nas nervuras, enquanto que na parte superior, surgiram lesões cloróticas ao lado das necróticas, e frequentemente causando deformação da folha. Segundo Silva et al. (2013), quanto maior for a quantidade de inóculo nas sementes, em condições ambientais favoráveis para o desenvolvimento do fungo, maior será a incidência e a severidade da doença no campo. Rey et al. (2009), verificaram que a transmissão de *C. lindemuthianum* semente-plântula pode chegar até 80%.

Entre as cultivares, o melhor desempenho inicial das plântulas foi para a cv. BRS Esplendor, que originou plântulas vigorosas e com alta germinação, fato que pode estar relacionado com uma melhor qualidade inicial das sementes. Menor incidência e severidade da doença também foi verificado nessa cultivar, quando comparadas a cv. IPR Tuiuiú. A BRS Esplendor é considerada uma cultivar com nível mais elevado de resistência entre as cultivares recentes (PEREIRA et al., 2017).

O uso do Si é uma alternativa interessante para aumentar a resistência das plantas ao ataque do patógeno, que vem se destacando no controle de doenças em várias culturas (DEBONA et al., 2017). No entanto, os efeitos do Si são pouco conhecidos durante o desenvolvimento inicial da cultura do feijão e no controle de doenças em plântulas. Já se observou resultados positivos do Si via tratamento de sementes nas culturas da soja, arroz e cevada, através da obtenção de plântulas vigorosas, com maior crescimento e desenvolvimento inicial (CORLETT et al., 2014; TUNES et al., 2014; RUFINO et al., 2017).

Neste trabalho o recobrimento das sementes com Si auxiliou no crescimento das plântulas de feijão, assim como na diminuição da severidade da antracnose nos primeiros estágios de desenvolvimento. A redução da intensidade da doença foi

observada para ambas as cultivares estudadas, IPR Tuiuiú (suscetível) e a BRS Esplendor (resistente), indicando uma possível potencialização da resistência do feijão ao *C. lindemuthianum* durante o estabelecimento das plântulas.

Sementes da cultivar suscetível (IPR Tuiuiú) inoculadas com fungo e supridas com o Si tiveram uma melhor resposta quando comparadas com a cv. resistente, foi possível observar um maior crescimento, em relação às não inoculadas (Tabela 23). De acordo com Cooke e Leishman (2016), o Si tem pouco efeito no metabolismo das plantas em condições normais, mas quando expostas a algum tipo de estresse podem se adaptar de forma eficiente, sendo benéfico nessas condições, pois tem um papel importante nas atividades fisiológicas ou estruturais de sobrevivência das plantas. Uma das prováveis formas de como o Si proporciona resistência é por meio da indução do estado de *priming*, o qual resulta na antecipação e aumento na intensidade de respostas de defesa pós-infecção (DALLAGNOL et al., 2015), como o recrutamento das defesas celulares, e na ausência de patógenos ocorre a redução dos custos metabólicos (CONRATH et al., 2002).

Esse mineral ameniza o estresse oxidativo induzido no hospedeiro, sendo um importante mecanismo de defesa, uma vez que espécies reativas de oxigênio em excesso pode conduzir ao dano celular e posterior necrose nos tecidos causado pelo fungo (HAYNES, 2017). Uma intensificação rápida dos mecanismos de defesa da planta para a indução de resistência, como o aumento da síntese de fitoalexinas podem ser produzidos, uma vez que agem como substância inibidoras, que se acumulam nas células vegetais em torno do local de infecção, resultando na morte do patógeno (TAIZ; ZEIGER, 2013). A faseolina é a fitoalexina importante na interação planta-patógeno na cultura do feijão (DURANGO et al., 2002). Sementes inoculadas com o *C. lindemuthianum* da cv. suscetível apresentaram maior acúmulo de faseolina, o que pode estar relacionado a maior intensidade da doença, sendo, no entanto, verificado a menor atividade quando as sementes foram recobertas com Si, ou seja, provavelmente devido a um menor dano causado pelo fungo em plântulas de feijão.

Plântulas provenientes de sementes recobertas com Si apresentaram menor severidade da doença durante o desenvolvimento inicial. Resultados semelhantes foram observados por Polanco et al. (2014) nessa mesma cultura e Dallagnol et al. (2013), pela redução da transmissão de *Bipolares oryzae* em plântulas de arroz. De acordo com Cruz et al. (2014) a maior concentração foliar de Si colaborou para

diminuir os sintomas da antracnose nas nervuras das folhas das plantas, e que as maiores concentrações desse elemento estão associadas a resistência do *C. lindemuthianum* em plantas de feijão. Polanco et al. (2012), mostraram que o fornecimento de Si aumentou a resistência da planta contra a antracnose, através da maior concentração de lignina bem como a atividade da fenilalanina amônia-liases e lipoxigenases. A menor severidade da antracnose também foi associada ao aumento das enzimas antioxidantes, como o ascorbato peroxidase, superóxido dismutase e glutationa redutase (POLANCO et al., 2014).

O feijão é uma espécie vegetal que tem capacidade de acumular baixas concentrações de Si nos tecidos foliares, atingindo valores inferiores de 5 g kg^{-1} em matéria seca da parte aérea, o que classifica como uma espécie não acumuladora de Si, porém essas dependem da disponibilidade de Si no meio, idade da planta, tipo e localização dos tecidos envolvidos na absorção, o qual afeta diretamente na quantidade acumulada (JONES; HANDRECH, 1987; DATNOFF et al., 2001). A maior concentração de Si em parte aérea de feijão foi observado na cv. BRS Esplendor provenientes de sementes não inoculadas, o que pode estar relacionado a maior produção de matéria seca, uma vez que a deposição e acúmulo de Si está diretamente relacionado com a produção de biomassa em plântulas de feijão (OLIVEIRA, 2009). A deposição do elemento pode ajudar na rigidez da planta, mas também pode potencializar as enzimas e compostos de defesa do hospedeiro (DALLAGNOL et al., 2015). Os efeitos benéficos verificados pelo fornecimento de Si em plântulas de tomate, estavam envolvidas a funções bioquímicas extracelulares no apoplasto, mesmo não sendo constatado acúmulo do Si nas células (SHI et al., 2014). Segundo Katz (2014), os efeitos benéficos do Si nem sempre são proporcionais a sua acumulação e a baixa concentração nos tecidos não significa que tenha uma função limitada.

Para a concentração de Ca em parte aérea de feijão, foi observada maior teor em sementes inoculadas e sem o recobrimento com Si, e nas sementes recobertas com Si e não inoculadas. Esses resultados indicam que esse elemento não participou dos benefícios gerados pelo recobrimento das sementes no controle da doença, pois efeitos ocorridos via recobrimento das sementes são conferidos pelo Si. Zambolim e Ventura (2012) relatam que a severidade da doença é inversamente proporcional ao teor de Ca no tecido vegetal, no entanto não foi possível observar essa relação no trabalho.

O fornecimento de nutrientes por meio do recobrimento das sementes, proporciona benefícios para o crescimento das plântulas, além da redução da incidência e severidade da doença nos primeiros estádios de desenvolvimento na cultura do feijão. Em relação a cultivar sucessível ao *C. lindemuthianum*, o Si contribuiu amenizando os danos causados pelo fungo, fazendo com que as plântulas respondessem favoravelmente ao fornecimento do elemento, através da técnica de recobrimento das sementes e sendo desta forma, uma medida promissora no sistema de manejo integrado de controle de doenças.

4.5 Conclusões

O recobrimento das sementes com Si diminui a incidência e a severidade de *Colletotrichum lindemuthianum* e proporciona maior crescimento das plântulas de feijão.

O efeito de respostas potencializadas pelo Si tem maior expressividade na cultivar de maior suscetibilidade.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos no presente trabalho, demonstram os efeitos da utilização de Si via recobrimento de sementes de feijão, desde o processo germinativo até a emergência final das plântulas, tanto em condições normais de cultivo, como quando submetido a um estresse biótico causado por patógenos importantes da cultura.

Foi possível observar que as sementes recobertas com esse elemento, em diferentes fontes e doses respondem favoravelmente aos tratamentos, através de um maior crescimento e desenvolvimento das plântulas, sem comprometer da emergência final da cultura.

A quantidade determinada pela dose ideal de Si, pode proporcionar melhor custo benefício, pela economia e eficiência do material de preenchimento, devido às menores quantidade de pó, que resultam em efeitos satisfatórios para o desenvolvimento da cultura.

Apesar do recobrimento das sementes com Si não eliminar os patógenos associados às sementes, proporcionaram as plântulas quando infectadas por *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* e *C. lindemuthianum*, melhor crescimento além de uma redução de incidência de danos, devido ao aumento da resistência das plântulas, seja por meio de uma barreira física na parede celular ou por alterações a nível bioquímico.

As utilizações do Si por meio do recobrimento das sementes, através da utilização de produtos disponíveis na natureza, proporcionam uma produção mais sustentável e econômica, uma vez favorecem uma melhor qualidade ao desenvolvimento das plântulas de feijão.

6 REFERÊNCIAS

ABRASEM - Associação Brasileira de Sementes e Mudas. **Estatística da produção e comercialização de sementes no Brasil, resultado ano 2015.** Disponível em: <http://www.abrasem.com.br/site/estatisticas/#>. Acesso em: 25 jan. 2018.

ALOVISI, A.M.T.; NETO, A.E.F.; CARNEIRO, L.F.; CURI, N.; ALOVISI, A.A. Silicon-phosphorus interactions in soils cultivated with bean plants. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.36, n. 1, p. 79-86, 2014.

ANTUNES, I.F.; SILVEIRA, E.P.; TORRES DA SILVA, E. BRS Expedito: nova cultivar de feijão de grãos pretos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.42, n.1, p.135-136, 2007.

AVELAR, S.A.G.; BAUDET, L.; PESKE, S.T.; LUDWIG, M.P.; RIGO, G.A. CRIZEL, R.L; OLIVEIRA, S. Armazenamento de sementes de soja tratadas com fungicida, inseticida e micronutriente e recobertas com polímeros líquido e em pó. **Ciência Rural**, v.41, n.10, p.1719-1725, 2011.

AXELROD, B.; CHEESBROUGH, T.M.; LAASKO, S. Lipoxygenases from soybeans. **Methods in Enzymology**, v.71, p.441-451, 1981.

AZEVEDO R.A; ALAS R.M; SMITH R.J; LEA P.J. Response from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation in leaves and roots of wild type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum** v.104, p.280-292, 1998.

AZIMI, R.; BORZELABAD, M.J.; FEIZI, H.; AZIMI, A. Interaction of SiO_2 nanoparticles with seed prechilling on germination and early seedling growth of tall wheatgrass (*Agropyron Elongatum* L.). **Journal of Chemical Technology**, v.16, n. 3, p.25-29, 2014.

BARBER, M.S.; RIDE, J.P. A quantitative assay for induce lignification in wounded wheat leaves and its use to survey potential elicitors of the response. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.32, p.185-197, 1988.

BARBOSA, M.A.M.; SILVA, M.H.L.; VIANA, G.D.M.; FERREIRA, T.R.; CARVALHO SOUZA, C.L.F.; LOBATO, E.M.S.G.; SILVA LOBATO, A.K. Beneficial repercussion of silicon (Si) application on photosynthetic pigments in maize plants. **Australian Journal of Crop Science**, v.9, n.11 p.1113-1118, 2015.

BARBOSA, M.R.; SILVA, M.M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T.R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v.44, n.3, p.453-460, 2014.

BATISTA, R.O.; SILVA, L.C.; MOURA, L.M.; SOUZA, M.H.; CARNEIRO, P.C.S.; FILHO, J.L.S.C.; CARNEIRO, J.E.S. Inheritance of resistance to fusarium wilt in common bean. **Euphytica**, v.213, n.133, p.1-12, 2017.

BARNET, H. L.; HUNTER, B. B. **Ilustrated genera of imperfect fungi**. 3.ed. Minneapolis: Burgess, 1972. 241 p.

BECKMAN, C.H. Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants?. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.57, n.3, p.101–110, 2000.

BÉLANGER, R.R.; BENHAMOU, N.; MENZIES, J.G. Cytological evidence of an active role of silicon in wheat resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*). **Phytopathology**, v.93, p.402-412, 2003.

BERTOLIN, D.C.; SÁ, M.E.; MOREIRA, E.R. Parâmetros do teste de envelhecimento acelerado para determinação do vigor de sementes de feijão. **Revista Brasileira de Sementes**, v.33, n.1, p.104-112, 2011.

BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p.333-349.

BRADFORD, M.N. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, v.72, p.248-254, 1976.

BRASIL - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009 a. 399 p.

BRASIL - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Manual de Análise Sanitária de Sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009 b. 200 p.

BRAGA, N. A.; GOMES PESSOA, M. N.; TEÓFILO, E. M. Tratamento químico e biológico de sementes de caupi, *Vigna unguiculata* (L.) Walp., visando o controle

de Macrophomina phaseolina (Tass.) Goid. **Revista Ciência Agronômica**, v.34, n.2, p.193-199, 2003.

BROADLEY, M.; BROWN, P.; CAKMAK, I.; MA, J.F.; RENGEL, Z. Beneficial elements. In: **Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants.** 3.ed. Petra Marschner, 2012, p.249–269.

BORBA, M.C.; GARCÉS-FIALLOS, F.R.; STADNIK, M.J. Reactions of black bean seedlings and adult plants to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Crop Protection**, v.96, p.221-227, 2017.

BURUCHARA, R.A.; CAMACHO, L. Common bean reaction to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*, the cause of severe vascular wilt in Central Africa. **Journal of Phytopathology**, v.148, n.1, p.39-45, 2000.

CAMPA, A.; RODRÍGUEZ-SUÁREZ, C.; GIRALDEZ, R.; FERREIRA, J.J. Genetic analysis of the response to eleven *Colletotrichum lindemuthianum* races in a RIL population of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **BMC Plant Biology**, v.14:115, p.1-12, 2014.

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

CARNEIRO, J.M.T.; OLIVEIRA, L.A.; ROSSETE, A.L.R.M.; ABREU JR, C.H.; BENDASSOLLI, J.A. Accumulation and translocation of silicon in rice and bean plants using the 30Si stable isotope. **Journal of Plant Nutrition**, v.33, p.1374-1383 2010.

CARVALHO, João Custódio Barbosa de. **Uso da *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1999. 98 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 5.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2012. 590p.

CASTELLANOS, C.I.S.; ROSA, M.P.; DEUNER, C.; BOHN, A.; BARROS, A.C. S.A.; MENEGHELLO, G.E. Aplicação ao solo de cinza de casca de arroz como fonte de silício: efeito na qualidade de sementes de trigo produzidas sob stresse salino. **Revista de Ciências Agrárias**, v.39, n.1, p.95-104, 2016.

CHEN, W., YAO, X., CAI, K., CHEN, J., Silicon alleviates drought stress of rice plants by improving plant water status, photosynthesis and mineral nutrient absorption. **Biological Trace Element Research**, v.142, p. 67-76, 2011.

CONAB – Companhia nacional de abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira grãos, v. 5 Safra 2017/18 - Quarto levantamento**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/18_01_11_14_17_49_graos_4o_levantamento.pdf>. Acesso em: 25 jan.2018.

CONCEIÇÃO, P.M., VIEIRA, H.D. Qualidade fisiológica e resistência do recobrimento de sementes de milho. **Revista Brasileira de Sementes**, v.30, p.48-53, 2008.

CONRATH, U.; PIETERSE, C.M.J.; MAUCH-MANI, B. Priming in plant-pathogen interactions. **Trends Plant Science**, v.7, p.210-216, 2002.

COOKE, J.; LEISHMAN, M.R. Consistent alleviation of abiotic stress with silicon addition: a meta-analysis. **Functional Ecology**, v.30, p.1340-1357, 2016.

CORLETT, F.M.F.; RUFINO, C.A.; VIEIRA, J.F.; TAVARES, L.C.; TUNES, L.V.M.; BARROS, A.C.S.A. The influence of seed coating on the vigor and early seedling growth of barley. **Ciencia Investigación Agraria**, v.41, n.1, p.29-136, 2014.

CHANCE, B.; MAEHLEY, A.C. Assay of catalases and peroxidases. **Methods in Enzymology**, v.2, p.764-775, 1955.

CHABANNES, M.; RUEL, K.; YOSHINAGA, A. In situ analysis of lignins in transgenic tobacco reveals a differential impact of individual transformations on the spatial patterns of lignin deposition at the cellular and subcellular levels. **The Plant Journal**, v.28, p.271-282, 2001.

COSTA, M.L.N.; MACHADO, J.C.; GUIMARÃES, R.M.; POZZA, E.A.; ORIDE D. Inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* em sementes de feijoeiro através de restrição hídrica. **Ciência e Agrotecnologia**, n.27, v.5, p.1023-1030, 2003.

CRUZ, M.F.A.; ARAUJO, L.; POLANCO, L.R.; RODRIGUES, F.A. Aspectos microscópicos da interação feijoeiro-*Colletotrichum lindemuthianum* mediados pelo silício. **Bragantia**, v.73, n.3, p.284-291, 2014.

COSTA, J.G.C.; FARIA, L.C.; RAVA, C.A.; DEL PELOSO, M.J.; MELO, L.C.; DÍAZ, J.L.C.; FARIA, J.C.; SILVA, H.T.; SARTORATO, A.; BASSINELLO, P.Z.; ZIMMERMANN, F.J.P. BRS Esplendor common bean cultivar with black grain, upright growth and disease resistance. **Crop Breeding And Applied Biotechnology**, v.11, n.3, p.276-279, 2011.

CRUZ, M.F.A.; ARAUJO, L.; POLANCO, L.R.; RODRIGUES, F.A. Aspectos microscópicos da interação feijoeiro-*Colletotrichum lindemuthianum* mediados pelo silício. **Bragantia**, v.73, n.3, p.284-291, 2014.

CUNHA, A.C.M.C.M.; OLIVEIRA, M.L.; CABALLERO, E.C.; MARTINEZ, H.E.P.; FONTES, P.C.R.; PEREIRA, P.R.G. Growth and nutrient uptake of coffee seedlings cultivated in nutrient solution with and without silicon addition. **Revista Ceres**, v. 59, n.3, p.392-398, 2012.

DALLA PRIA, M.; AMORIN, L. Métodos de avaliação das doenças. In: DALLA PRIA, M.; SILVA, O.C. **Cultura do feijão**. Ponta Grossa: Editora UEPG, 2010. p.118-132.

DALLAGNOL, Leandro José. **Epidemiologia e bioquímica do controle do oídio do meloeiro por silício**. 2010. 66p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2010. Disponível em: http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11135/tde-10022011-171157/pt-br.php. Acesso em: 15 de fev. 2018.

DALLAGNOL, L.J.; RODRIGUES, F.A.; PASCHOLATI, S.F.; FORTUNATO, A.A.; CAMARGO, L. E. A. Comparison of root versus foliar applied potassium silicate in potentiating postinfection defences of melon against powdery mildew. **Plant Pathology**, v.64, n.5, p.1085-1093, 2015.

DALLAGNOL, L. J.; RODRIGUES, F.A.; MIELLI, M.V.B. Silicon improves the emergence and sanity of rice seedlings obtained from seeds infected with *Bipolaris oryzae*. **Tropical plant pathology**, v.38, n.6, p.478-484, 2013.

DIXON, R.A.; DEY, P.M.; LAWTON, M.A.; LAMB, C.J. Phytoalexin indution in french bean: intercellular transmission of elicitation in cell suspension cultures and hypocotyl sections of *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiology**, v.71, n.2, p.251-256, 1983.

DATNOFF, L.E., DEREN, C.W.; SNYDER, G.H. Silicon fertilization for disease management of rice in Florida. **Crop Protection**, n.16, p.525-531,1997.

DATNOFF, L. E; SNYDER, G. H; KORNDÖRFER, G. H. Silicon in agriculture. Amsterdam: **Elsevier science**, 2001. v.8, 424 p.

DAYOD, M.; TYERMAN, S.D.; LEIGH, R.A.; GILLIHAM, M. Calcium storage in plants and the implications for calcium biofortification. **Protoplasma**, v.247, p.215-231, 2010.

DEBONA, D.; RODRIGUES, F.A.; DATNOFF, L.E.; Silicon's role in abiotic and biotic plant stresses. **Annual Review of Phytopathology**, v.55, p.85-107, 2017.

DELAVAR, K.; GHANATI, F.; ZARE-MAIVAN, H.; BEHMANESH, M. Effects of silicon on the growth of maize seedlings under normal, aluminum, and salinity stress conditions. **Journal of Plant Nutrition**, v.40, n.10, p. 1475-1484, 2017.

DEUS, A.C.F.; BÜLL, L.T. Eficiência de escórias de siderurgia na cultura do feijoeiro em sistema de semeadura direta. **Ciência Rural**, v.43, n.10, p.1783-1789, 2013.

DIXON, R.A.; DEY, P.M.; LAWTON, M.A.; LAMB, C.J. Phytoalexin indution in french bean: intercellular transmission of elicitation in cell suspension cultures and hypocotyl sections of *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiology**, v.71, n.2, p.251-256, 1983.

DORNELES, K.R.; DALLAGNOL, L.J.; PAZDIORA, P.C.; RODRIGUES, F.A.; DEUNER, S. Silicon potentiates biochemical defense responses of wheat against tan spot. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 97, p.69-78, 2017.

DURANGO, D.; QUIÑONES, W.; TORRES, F.; ROSERO, Y.; GIL, J.; ECHEVERRI, F. Phytoalexin accumulation in Colombian bean varieties and aminosugars as elicitors. **Molecules**, v.7, n.11, p.817-832, 2002.

DUBEY, R.S. Metal toxicity, oxidative stress and antioxidative defense system in plants. In: GUPTA, S.D. **Reactive oxygen species and antioxidants in higher plants**. Enfi eld: Science Publishers, 2011. p.178-203.

DURIEUX, R.P.; KAMPRATH, E.J.; JACKSON, W.A.; MOLL, R.H. Root distribution of corn: the effect of nitrogen fertilization. **Agronomy Journal**, v.86, p.958-962, 1994.

ELLIOTT, C.L.; SNYDER, G.H. Autoclave - induced digestion for the colorimetric determination of silicon in rice straw. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.39, n.6, p.1118-1119, 1991.

EPSTEIN E. Silicon: its manifold roles in plants. **Annals of Applied Biology**, v.155, p.155–160, 2009.

EPSTEIN, E. Silicon. Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, Palo alto**, v.50, p. 641-664, 1999.

EPSTEIN, E. The anomaly of silicon in plant biology. **Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America**, v.91, p.11-17, 1994.

FAGERSTEDT, K.V. Cell wall lignin is polymerized by class I secretable plant peroxidase in Norway spruce. Journal of Integrative. **Plant Biology**, v.52, n.2, p.186,194, 2010.

FARIA JUNIOR, L.A.; CARVALHO, J.G.; PINHO, P.J.; BASTOS, A.R.R.; FERREIRA, E. V. Produção de matéria seca, teor e acúmulo de silício em cultivares de arroz sob doses de silício. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.4, p.1034-1040, 2009.

FOLETTO, E.L.; HOFFMANN, R.; HOFFMANN, R.S.; PORTUGAL Jr., U.L.; JAHN, S.L. (2005) - Aplicabilidade das cinzas da casca de arroz. **Química Nova**, v.28, n.6, p.1055-1060, 2005.

FORTUNATO, A.A.; RODRIGUES, F.Á.; NASCIMENTO, K.J.T. Physiological and biochemical aspects of the resistance of banana plants to fusarium wilt potentiated by silicon. **Biochemistry and Cell Biology**, v.102, n.10, p.957-966. 2012.

FORTUNATO, A.A.; SILVA, W.L.; RODRIGUES, F.Á. Phenylpropanoid pathway is potentiated by silicon in the roots of banana plants during the infection process of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **Phytopathology**, v.104, n.6, p.597-603, 2014.

FLECK, A.T.; NYE, T.; REPENNING, C.; STAHL, F.; ZAHN, M.; SCHENK, M.K. Silicon enhances suberization and lignification in roots of rice (*Oryza sativa*). **Journal of Experimental Botany**, v.62, n.6, p. 2001–2011, 2011.

FRANCO, H.B.J.; CRUZ, M.A.P.; BARBOSA, J.C. Estudo de métodos de inoculação para a avaliação de cultivares de soja a *Fusarium tucumaniae*. **Summa phytopathol**, v.35, n.1, p.32-38, 2009.

FREITAS, L.B.; FERNANDES, D.M.; MAIA, S.C.M. Silício na nutrição mineral e acúmulo de alumínio em plantas de arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.45, n.4, p.440-448, 2015.

FRENCH-MONAR, R.; RODRIGUES, F.A.; KORNDÖFER, G.H.; DATNOFF, L.E. Silicon suppresses Phytophthora blight development on bell pepper. **Journal of Phytopathology**, v.158, p.554–560, 2010.

GARCÉS-FIALLOS, F.R.; BORBA, M.C.; SCHMIDT, É.C.; BOUZON, Z.L.; STADNIK, M.J. Delayed upward colonization of xylem vessels is associated with resistance of common bean to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **European Journal of Plant Pathology**, v.149, n.2, p.477-489, 2017.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superoxide dismutases: occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v.59, p.309-314, 1977.

GHAREEB, H.; BOZSÓ, Z.; OTT, P.G.; REPENNING, C.; STAHL, F.; WYDRA, K. Transcriptome of silicon-induced resistance against *Ralstonia solanacearum* in the silicon non-accumulator tomato implicates priming effect. **Physiological and Molecular Plant Pathology,** v.75, p.83-89, 2011.

GUERRA, A.M.N.M.; RODRIGUES, F.Á.; LIMA, T.C.; BERGER, P.G.; BARROS, A.F.; SILVA, Y.C.R. Capacidade fotossintética de plantas de algodoeiro infectadas por ramulose e supridas com silício. **Bragantia**, v.73, n.1, p.50-64. 2014.

GUERRIERO, G.; HAUSMAN, J.F.; LEGAY, S. Silicon and the plant extracellular matrix. **Frontiers in Plant Science**, v.7, p.1-7, 2016.

GUISCEM, J.M.; FARIAS, A.S.; FIGUEIREDO, R.T.; CHAVES, A.M.S.; FIGUEIREDO, B.T.; PEREIRA, C.F.; ARÁUJO, J.R.G.; MARTINS, M.R. Teste de frio e envelhecimento acelerado na avaliação de vigor de sementes de feijão-frade. **Revista de Ciências Agrárias**, v.33, n.2, p.182-191, 2010.

HADI, N., PARTO, R., ABDO-RAHMAN, M. The role of silicon to increase salt tolerance in red and white varieties of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **The Journal of Plant Science Research**, v.30, p.81-90, 2014.

HARTLEB, H; HEITEFUSS, R; HOPPE, H. **Resistance of crop plants against fungi**. Germany:Fischer.1997. 544p.

HATTORI, T.; INANAGA, S.; TANIMOTO, E.; LUX, A.; LUXOVÁ, M.; SUGIMOTO, Y. Silicon induced changes in viscoelastic properties of sorghum root cell walls. **Plant Cell Physiology**, v.44, p.743-749, 2003.

HAYNES, R.J. Chapter Three - Significance and Role of Si in Crop Production. **Advances in Agronomy**, v.146, p.83-166, 2017.

HEINE, G.; TIKUM, G.; HORST, W.J. Silicon nutrition of tomato and bitter gourd with special emphasis on silicon distribution in root fractions. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v.168, p.600-606, 2005.

HUANG, C.H.; ROBERTS, P.D.; DATNOFF, L.E. Silicon suppresses *Fusarium crown* and root rot of tomato. **Journal of Phytopathology**, v.159, p. 546-554. 2011.

HENRIQUE, F.H.; CARBONELL, S.A.M.; ITO, M.F.; GONÇALVES, J.G.R.; SASSERON, G.R.; CHIORATO, A.F. Classification of physiological races of Fusarium oxysporum f. sp. *phaseoli* in common bean. **Bragantia**, v.74, n.1, p.84-92, 2015.

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

JANMOHAMMADI, M.; SABAGHNIA, N. Effect of pre-sowing seed treatments with silicon nanoparticles on germinability of sunflower (*Helianthus annuus*). **Botanica Lithuanica**, v.21, n.1, p.13–21, 2015.

JONES, L.H.P.; HANDRECK, K.A. Silica in soils, plants, and animala. **Advances in Agronomy**, v.19, n.2, p.107-149, 1967.

JUNGES, E.; MUNIZ, M.F.B.; BASTOS, B.O.; ORUOSKI, P.; MICHELON, C.J. Techniques microbiolization seed forager radish with *Trichoderma* spp. and *Bacillus subtilis*. **Revista Brasileira de Ciências Agrarias**, v.12, n.2, p.135-141, 2017.

IAPAR - Instituto Agronômico do Paraná. **Principais características das cultivares de feijão com sementes, 2010**. Disponível em: <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=1363>.Acesso em: 23 de outubro de 2017.

KATZ, O. Beyond grasses: the potential benefits of studying silicon accumulation in non-grass species. **Frontiers in Plant Science**, v.5. 2014.

KORNDÖRFER, G.H.; PEREIRA, H.S.; NOLA, A. **Análise de silício: solo, planta e fertilizante.** Uberlândia: GPSi-ICIAG-UFU, 2004. (Boletim técnico, 2).

LAMICHHANE, J.R.; DÜRR, C.; SCHWANCK, A.A.; ROBIN, M.H.; SARTHOU, J.P.; CELLIER, V.; MESSÉAN, A.; AUBERTOT, J.N. Integrated management of damping-off diseases. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, v.37, n.10, p.1-25, 2017.

LIANG, Y.; NIKOLIC, M.; BÉLANGER, R.; GONG, H.; SONG, A. Silicon-mediated tolerance to other abiotic stresses, silicon in agriculture. **Springer**, p.161–179, 2015.

LIANG, Y.; HUA, H.; ZHU, Y.G.; ZHANG, J.; CHENG, C.; ROMHELD,V. Importance of plant species and external silicon concentration to active silicon uptake and transport. **New Phytologist**, v.172, n.1, p.63–72, 2006.

LIMA, L.B.; SILVA, P.A.; GUIMARÃES, R.M.; OLIVEIRA, J.A. Peliculização e tratamento químico de sementes de algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, v.30, n.6, p.1091-1098, 2006.

LOVATO, F.; KOWALESKI, J.; SILVA, S.Z.; HELDT, L.F.S. Composição centesimal e conteúdo mineral de diferentes cultivares de feijão biorfortificado (P*haseolus vulgaris* L.). **Brazilian journal of food technology,** v.21, p.e2017068, 2018.

LOCARNO, M.; FOCHI, C.G.; PAIVA, P.D.O. Influência da adubação silicatada no teor de clorofila em folhas de roseira. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.2, p.287-290, 2011.

LOPES, A.C.A; NASCIMENTO, W.M. **Peletização em sementes de hortaliças**. EMBRAPA Hortaliças. Brasília, 2012. 28p. (Documentos, 137). Disponível em:<http://www.cnph.embrapa.br/paginas/serie_documentos/publicacoes2012/doc_137.pdf.>.Acesso em: 28 de nov. 2017.

MA, J.F.; TAMAI K, YAMAJI N, MITANI N, KONISHI S, et al. 2006. A silicon transporter in rice. **Nature**, v.440, p.688–691.

MA, J.F.; YAMAJI, N.; MITANI, N.; TAMAI, K.; KONISHI, S. An efflux transporter of silicon in rice. **Nature**, v.448, p.209–212, 2007.

MACHADO, J.C.; SOUZA, R.M. Tratamento de sementes de hortaliças para controle de patógenos: princípios e aplicações. In: NASCIMENTO, W.M. **Tecnologia de sementes de hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009, p. 247-272.

MAFFIA L.A.; MIZUBUTI, E.S.G.; ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. Quantificação de doenças em planta. Capítulo 7. In: ALFENAS. A.C.; MAFIA. R.G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 382 p.

MAGUIRE, J. Speed of germination aid in selection and evolution for seedling and vigour. **Crop Science**, v.2, n.2, p.176-177, 1962.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G.C.; OLIVEIRA, S.A. **Avaliação do Estado nutricional das Plantas; princípios e aplicações**.2.ed. Piracicaba:POTAFOS. 1987. 319p.

MARCENARO, D.; VALKONEN, J.P.T. Seedborne pathogenic fungi in common bean (*Phaseolus vulgaris* cv. INTA Rojo) in Nicaragua. **Plos One**, v.11, n.12, p.1-18, 2016.

MARCOS-FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. 2.ed., Londrina: ABRATES, 2015. 660p.

MARINGONI, A.C.E; BARROS, M. Ocorrência de isolados de *Colletotrichum lindemuthianum* resistentes a fungicidas benzimidazóis. **Summa Phytopathologica**, v.28, n.2, p.197- 200, 2002.

MARINO, R.H.; MESQUITA, J.B.; ANDRADE, K.V.S.; COSTA, N.A.; AMARAL, L.A. Incidência de fungos em sementes de *Phaseolus vulgaris* L. provenientes do Estado de Sergipe. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.3, n.1, p.26-30, 2008.

MARODIN, J.C.; RESENDE, J.TV.; MORALES, R.G.F.; SILVA, M.L.S.; GALVÃO, A.G.; ZANIN, D.S. Yield of tomato fruits in relation to silicon sources and rates. **Horticultura Brasileira**, v.32, n.2, p.220-224, 2014.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition in higher plants**. 2.ed. San Diego: Academic Press, 1995. 889p.

McKINNEY, H.H. Influence of soil, temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v.26, p.195-217, 1923.

MEDEIROS, E. M.; BAUDET, L.; PERES, W.B.; PESKE, F.B. Recobrimento de sementes de cenoura com aglomerantes em diversas proporções e fungicida. **Revista Brasileira de Sementes**, v.28, p.94-100, 2006.

MENDONÇA, A.O.; TAVARES, L.C.; BRUNES, A.P.; MONZÓNM, D.L.R.; VILLELA, F.A. Acúmulo de silício e compostos fenólicos na parte aérea de plantas de trigo após a adubação silicatada. **Bioscience Journal**, v.29, n.5, p.1154-1162, 2013.

MENDONÇA, E.AF.; CARVALHO, N.M.; RAMOS, N.P. Revestimento de sementes de milho superdoce (Sh2). **Revista Brasileira de Sementes**, v.29, n.2, p.68-79, 2007.

MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n° 45 de 17 de setembro de 2013**. Publicado no D.O.U em 18/09/2013. Disponível em: < http://apasem.com.br/site/index.php/instrucao-normativa-no-45/>. Acesso em: 25 de jan. 2018.

MERWAD, A.R.M.A.; DESOKY, E.S.M.; RADY, M.M. Response of water deficit-stressed *Vigna unguiculata* performances to silicon, proline or methionine foliar application. **Scientia Horticulturae**, v.288, p.132-14426, 2018.

MITANI, N.; MA, J.F. Uptake system of silicon in different plant species. **Journal of Experimental Botany**, v.56, p.1255-1261, 2005.

MONDO, V.H.V.; NASCENTE, A.S.; CARDOSO NETO, M.O. Common bean seed vigor affecting crop grain yield. **Journal of Seed Science**, v.38, n.4, p.365-370, 2016.

NAKAGAWA, J. Testes de vigor baseados no desempenho das plântulas. In: KRZYZANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA NETO, J. B. **Vigor de sementes: conceitos e testes**. Londrina: ABRATES, 1999. p.2-21.

NASERIA, B.; MOUSAVI, S.S. Root rot pathogens in field soil, roots and seeds in relation to common bean (*Phaseolus vulgaris*), disease and seed production International. **Journal of Pest Management**, v.61, n.1, p.60-67, 2015.

NIÑO-SÁNCHEZ, J. TELLO, V.; CASTILLO, V.C. Gene expression patterns and dynamics of the colonization of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by highly virulent and weakly virulent strains of *Fusarium oxysporum*. **Frontiers in Microbiology**, v.6, n.234, p.1-14, 2015.

NONOGAKI, H.; BASSEL, G.W.E; BEWLEY, J.D. Germination - Still a mystery. **Plant Science**, v.179, n.6, p.574–581, 2010.

NUNES, J. C. **Tratamento de semente - qualidade e fatores que podem afetar a sua performance em laboratório**. São Paulo: Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, 2005. 16p.

OLIVEIRA, J.A.; PEREIRA, C.E.; GUIMARÃES, R.M.; VIEIRA, A.R.; SILVA, J.B.C. Desempenho de sementes de pimentão com diferentes materiais. **Revista Brasileira de Sementes**, v.25, n.2, p.36-47, 2003.

OLIVEIRA, Lilian Aparecida. **Silício em plantas de feijão e arroz: absorção, transporte, redistribuição e tolerância ao cádmio**. 2009. 157 f. Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Piracicaba, 2009. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/64/64134/tde-03122009-094223/pt-br.php> Acesso em: 15 de jan. 2018.

OLIVEIRA, S.; BRUNES, A.P.; LEMES, E.S.; TAVARES, L.C.; MENEGHELLO, G.E.; LEITZKE, I.D.; MENDONÇA, A.O. Tratamento de sementes de arroz com silício e qualidade fisiológica das sementes. **Revista de Ciências Agrárias,** v.39, n. 2, p.202-209, 2016.

OLIVEIRA, S.; LEMES, E.S.; MENEGHELLO, G.E.; TAVARES, L.C.; BARROS, A.C.S.A. Aplicação de silício via solo no rendimento e na qualidade fisiológica de sementes de soja. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.5, p.3029-3042, 2015.

PADDER, B.A.; SHARMA, P.N.; AWALE, H.E.; KELLY, J.D. *Colletotrichum lindemuthianum*, the causal agent of bean anthracnose. **Journal of Plant Pathology**, v.99, n.2, p.317-330, 2017.

PEDRINI, S.; MERRITT, D.J.; STEVENS, J.; DIXON, K. Seed Coating: Science or Marketing Spin? **Plant Science**, v.22, n.2, p.106–116, 2017.

PEREIRA, C.E.; OLIVEIRA, J.A.; GUIMARÃES, R.M.; VIEIRA, A.R.; SILVA, J.B.C.; Condicionamento fisiológico e revestimento de sementes de pimentão. **Revista Ciência Agronômica**, v.36, p.74-81, 2005.

PEREIRA, S.C.; RODRIGUES, F.A.; CARRÉ-MISSIO, V.; OLIVEIRA, M.G.A.; ZAMBOLIM, L. Aplicação foliar de silício na resistência da soja à ferrugem e na atividade de enzimas de defesa. **Tropical Plant Pathology**, v.34, n.3, p. 164-170, 2009.

PEREIRA, C.E.; OLIVEIRA, J.A.; GUIMARÃES, R.M.; VIEIRA, A.R.; EVANGELISTA, J.R.E.; OLIVEIRA, G.E. Tratamento fungicida e pelicultura de sementes de soja

submetidas ao armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia** v.35, n.1, p.158-164, 2011.

PEREIRA, H.S.; FARIA, L.C.; WENDLAND, A.; COSTA, J.G.C.C.; SOUZA, T.L.P.O.; MELO, L.C. Genotype by environment interaction for disease resistance and other important agronomic traits supporting the indication of common bean cultivars. **Euphytica**, v.214, n.12. p.1-11, 2018.

POLANCO, L.R.; RODRIGUES, F.A.; NASCIMENTO, K.J.T.; CRUZ, M.F.A.; CURVELO, C.R.S.; DAMATTA, F.M.; VALE, F.X.R. Photosynthetic gas exchange and antioxidative system in common bean plants infected by *Colletotrichum lindemuthianum* and supplied with silicon. **Tropical Plant Pathology**, v.39, n.1, p.35-42, 2014.

POLANCO, L.R.; RODRIGUES, F.A.; NASCIMENTO, K.J.T.; SHULMAN, P.; SILVA, L.C.; NEVES, F.W.; VALE, F.X.R. Biochemical aspects of bean resistance to anthracnose mediated by silicon. **Annals of Applied Biology**, v.161, p.140-150, 2012.

RAVEN, J.A. Silicon transporta at the cell and tissue level. In: DATNOFF, L.E.; SNYDER, G.H.; KORNDORFER, G.H. **Silicon in agriculture**. Amsterdam: Elsevier, 2001. p.41-55.

REY, M.S.; LIMA, N.B.; SANTOS, J.D; PIEROBOM, C.R. Transmissão semente-plântula de *Colletotrichum Lindemuthinum* em feijão (*Phaseolus vulgaris*). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.76, n.3, p.465-470, 2009.

REZENDE, A.A.; PACHECO, M.T.B.; SILVA, V.S.N.; FERREIRA, T.A.P.C. Nutritional and protein quality of dry Brazilian beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Science and Technology**, v.19, p.1-7, 2017.

RIBEIRO, M. V. DEUNER, S.; BENITEZ, L.C.; EINHARDT, A.M.; PETERS, J.A.; BRAGA, E.J.B. Betacyanin and antioxidant system in tolerance to salt stress in Alternanthera philoxeroides. **Agrociencia**, v.48, n.2, p.199- 210, 2014.

ROMA-ALMEIDA, R.C.C.; PEREIRA, O.L.; DIAS, D.C.F.S.; PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C.C.; DUARTE, H.S.S.; RODRIGUES, F.A. Efeito da aplicação de silicato de cálcio e de cinza de casca de arroz sobre a incidência de fungos associados a manchas em sementes de arroz irrigado. **Summa Phytopathol**, v.42, n.1, p.73-78, 2016.

RUFINO, C.A.; TAVARES, E.C.; RAMOS, P.M.; VIEIRA, J.F.; ABREU JUNIOR, J.S.; SILVA, F.J.A.; CORREA, M.F.; GIL, J.M. Performance of soybean seedlings ufon nutrient aplication by seed coating. **Brazilian Archives of Biology And Technology**, v.60, p.1-11, 2017.

SAMPAIO, T.G.; SAMPAIO, N.V. Recobrimento de sementes de hortaliças. NASCIMENTO, W.M. **Tecnologia de sementes de hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009, p.275-306.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry** v.30, p.3875-3883, 1991.

SANTOS, F.C.; OLIVEIRA, J.A.; PINHO, É.V.R.V.; GUIMARÃES, R.M.; VIEIRA, A.R. Tratamento químico, revestimento e armazenamento de sementes de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.3, p.69-78, 2010.

SHI, Y.; ZHANG, Y.; YAO, H.; WU, J.; SUN, H.; GONG, H. Silicon improves seed germination and alleviates oxidative stress of bud seedlings in tomato under water deficit stress. **Plant Physiol Biochem,** v.78, p.27-36, 2014.

SHARMA, N.; SHRMA, K.P.; GAUR, R.K.; GUPTA, V.K. Role of chitinase in plant defense**. Asian Journal of Biochemistry**, v.6, p.29-33, 2011.

SILVA, F.P.; VECHIATO, M.H.; HARAKAVA, R. EF-1α gene and IGS rDNA sequencing of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* and *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* reveals polyphyletic origin of strains. **Tropical Plant Pathology**, v.39, n.1, 2014.

SILVA, G.C.; GOMES, D.P.; KRONKA, A.Z.; MORAES, M.H. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) provenientes do Estado de Goiás. **Semina: Ciências Agrárias**, v.29, p.29-34, 2008.

SILVA, J.B.C.; NASCIMENTO, W.M. Peletização de sementes de hortaliças. In: NASCIMENTO, W.M. **Tecnologia de sementes de hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2009, p.309-341.

SILVA, J.B.C.; NAKAGAWA, J. Metodologia para avaliação de materiais cimentícios para peletização de sementes. **Horticultura Brasileira**, v.16, p.31-37,1998.

SILVA, M.G.; POZZA, E.A.; MACHADO, J.C. Influence of contaminated crop remains and seed health quality on the intensity of bean anthracnose. **Journal of Agricultural Science**, v.5, n.10, p.56-66, 2013.

SINGH, S.P.; SCHWARTZ, H.F. Breeding common bean for resistance to diseases: a review. **Crop Science**, v.50, p.2199-2223, 2010.

SUZANA, C.S.; KULCZYNSKI, S.M.; ROSA, G.M.; MIGLIORINI, P.; KIRSCH, V.G.; ROSA, F.T. Qualidade fisiológica e sanitária de sementes salvas de feijão produzidas no Médio Alto Uruguai, RS, Brasil. **Agrotrópica**, v. 29, p. 157-166, 2017.

STRECK, E.V.; KÄMPF, N.; DALMOLIN, R.S.D.; KLAMT, E.; NASCIMENTO, P.C.; SCHNEIDER, P.; GIASSON, E.; PINTO, L.F.S. **Solos do Rio Grande do Sul**. 2.ed. Porto Alegre: Emater/RS. 2008. 222p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5ed. Artmed: Porto Alegre, 2013. 918p.

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

TATAGIBA, S.D.; RODRIGUES, F.A.; FILIPPI, M.C.C.; SILVA, G.B.; SILVA, L.C. Physiological responses of rice plants supplied with silicon to *Monographella lbescens* infection. **Journal of Phytopathol**, v.162, p.596–606, 2014.

TAVARES, L.; TUNES, L.; MENDONÇA, A.; LEMES, E.; SALINAS, J.; BARROS, A.C.; MENEGHELLO, G. Alteraciones fisiológicas y enzimáticas en semillas de trigo (*Triticum aestivum* L.) recubiertas con silicio. **Revista de Agricultura**, v.89, n.3, p.199-211, 2014a

TAVARES, L.C.; RUFINO, C. A.; DÖRR, C.S.; BARROS, A.C.S.A.; PESKE, S.T. Performance of lowland rice seeds coated with dolomitic limestone and aluminum silicate. **Revista Brasileira de Sementes**, v.34, n.2, p.202-211, 2012.

TEDESCO, M.J.; GIANELLO, C.; BISSANI, C.A.; BOHNEN, H.; VOLKWEISS, S.J. **Análises de solo, plantas e outros materiais**. 2ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1995. (Boletim técnico, 5).

TRABANCO, N.; CAMPA, A.; FERREIRA, J.J. Identification of a new chromosomal region involved in the genetic control of resistance to anthracnose in common bean. **The Plant Genome**, v.8, n.2, p.1-11, 2015.

TUBANA, B.S.; BABU, T.; DATNOFF, L. E. A review of silicon in soils and plants and its role in us agriculture: history and future perspectives. **Soil Science,** v.181, p.339-411, 2016.

TUNES, L.M.; PEDROSO, D.C.; TAVARES, L.C.; BARBIERI, A.P.P.; BARROS, A.C.S.A.; MUNIZ, M.F.B. Tratamento de sementes de trigo com zinco: armazenabilidade, componentes do rendimento e teor do elemento nas sementes. **Ciência Rural**, v.42, n.7, p.1141-1146, 2012.

TUNES, L.V.M.; FONSECA, D.A.R.; MENEGHELLO, G.E.; REIS, B.B.; BRASIL, V.D.; RUFINO, C.A.; VILLELA, F.A. Qualidade fisiológica, sanitária e enzimática de sementes de arroz irrigado recobertas com silício. **Revista Ceres**, v.61, n.5, p.675-685, 2014.

VAUGHN, S.F.; GARDNER, H.W. Lipoxygenase-derived aldehydes inhibit fung pathogenic on soybean. **Journal of Chemical Ecology**, v.19, p.2337-2354, 1993.

WANG, M.; GAO, L.; DONG, S.; SUN, Y.; SHEN, Q.; GUO, S. Role of silicon on plant–pathogen Interactions. **Frontiers in Plant Science**, v.8, p.1-14, 2017.

WANG, M.; GAO, L.; DONG, S.; SUN, Y.; SHEN, Q.; GUO, S. Role of silicon on plant–pathogen Interactions. **Frontiers in Plant Science**, v.8, n.701, p.1-14, 2017.

WANG, S.; LIU, P.; CHEN, D.; YIN, L.; LI, H.; DENG, X. Silicon enhanced salt tolerance by improving the root water uptake and decreasing the ion toxicity in cucumber. **Frontiers in Plant Science**, n.6, n.759, p.1-10, 2015.

WANG, S.; LIU, P.; CHEN, D.; YIN, L.; LI, H.; DENG, X. Silicon enhanced salt tolerance by improving the root water uptake and decreasing the ion toxicity in cucumber. **Frontiers in Plant Science**, n.6, n.759, p.1-10, 2015.

WHAN, J.A.; DANN, E.K.; AITKEN, E.A. Effects of silicon treatment and inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* on cellular defences in root tissues of two cotton cultivars. **Annals of Botany**, v.118, n.2, p.219–226, 2016.

XAVIER, P.B.; VIEIRA, H.D.; GUIMARÃES, C.P. Physiological potential of stylosanthes cv. Campo Grande seeds coated with different materials. **Journal of Seed Science**, v.37, n.2, p.117-124, 2015.

XUE, R.F.; WU, J. Cloning and characterization of a novel secretory rootexpressed peroxidase gene from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) infected with *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Molecular Breeding**, v.34, n.3, p.855-870, 2014.

XUE, R.F; WU, J.; ZHU, Z.; WANG, L.; WANG, X.; WANG, S.; BLAIR, M.W.; Differentially expressed genes in resistant and susceptible common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes in response to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli.* **Plos one**, v.10, n.6, p.1-20, 2015.

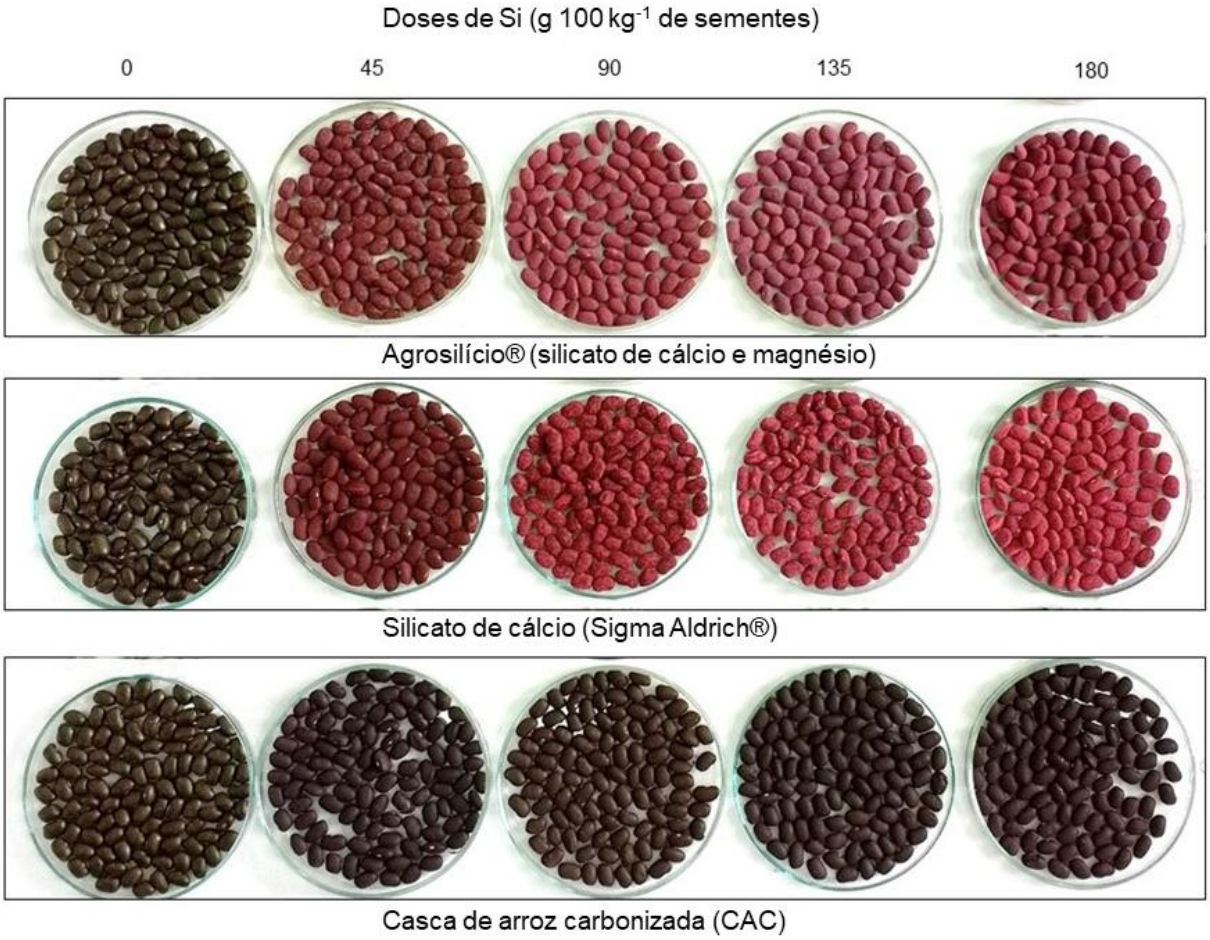
ZAMBOLIM, L.; JÚNIOR, L.A.Z.; VENTURA, J. A. Mecanismos de ação do silício na redução de doenças em plantas. In: ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A.; JÚNIOR, L.A.Z. **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. Ed. Independente: Viçosa, 2012. 321p.

ZANÃO JÚNIOR, L.A.; ALVAREZ, V.V.H.; CARVALHO-ZANÃO, M.P.; FONTES, R.L.F.; GROSSI, J.A.S. Produção de rosas influenciada pela aplicação de doses de silício no substrato. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.37, n.6, p.1611-1619, 2013.

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

ZUCARELI, C.; BRZEZINSKI, C, R.; ABATI, J.; WERNER, F.; JÚNIOR, E.U.R.; NAKAGAWA, J. Qualidade fisiológica de sementes de feijão carioca armazenadas em diferentes ambientes. **Revista brasileira de engenharia agrícola e ambiental**, v.19, n.8, p.803–809, 2015.

APÊNDICES



Apêndice A. Vista das sementes recobertas com diferentes doses e fontes de silício, mais polímero e água.

Apêndice B. Análise de variância dos fatores tempos após a inoculação (T), fontes de silício (F) e com e sem inoculação do patógeno (I) e suas interações sobre a incidência de sintomas, concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFSTs), derivados de lignina-ácido tioglicólico (DLATG) e atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalases (CAT), peroxidases (POX), lipoxigenase (LOX) e quitinases (QUI) em hipocótilo de feijão, provenientes de sementes inoculadas ou não com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e recobertas com diferentes fontes de silício.

Fonte de variação	GL	Valores de *F*							
		Incidência	CFSTs	DLATG	SOD	CAT	POX	LOX	QUI
Tempos (T)	4	**3,53***	**19,52***	**117,7***	**13,98***	**189,9***	**194,05***	**92,79***	**27,19***
Fontes (F)	2	1,09^{ns}	0,61^{ns}	2,71^{ns}	**7,62***	**4,23***	**5,12***	**13,30***	**7,10***
Inoculação (I)	1	-	**13,14***	0,08^{ns}	0,05^{ns}	**13,83***	**104,03***	0,02^{ns}	**21,24***
T x F	8	0,87^{ns}	1,17^{ns}	**3,32***	1,65^{ns}	**3,08***	**2,61***	**4,82***	**18,33***
T x I	4	-	0,78^{ns}	0,88^{ns}	1,80^{ns}	**5,47***	**16,23***	**18,59***	**6,14***
F x I	2	-	2,21^{ns}	**3,23***	0,17^{ns}	**7,73***	1,00^{ns}	2,22^{ns}	**6,84***
T x F x I	8	-	1,43^{ns}	0,86^{ns}	**3,37***	**4,96***	**8,35***	**4,19***	**5,08***

*Significativo a 5% de probabilidade (p≤0,05); ns: não significativo.

Apêndice C. Análise de variância dos fatores tempos após a inoculação (T), fontes de silício (F) e com e sem inoculação do patógeno (I) e suas interações sobre a incidência de sintomas, concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFSTs), derivados de lignina-ácido tioglicólico (DLATG) e atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalases (CAT), peroxidases (POX), lipoxigenase (LOX) e quitinases (QUI) em folhas de feijão, provenientes de sementes inoculadas ou não com *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* e recobertas com diferentes fontes de silício.

Fonte de variação	GL	Valores de *F*							
		Incidência	CFSTs	DLATG	SOD	CAT	POX	LOX	QUI
Tempos (T)	4	**16,84***	**5,05***	**24,37***	**24,84***	**33,81***	**27,89***	**16,06***	**22,76***
Fontes (F)	2	**13,22***	1,33^{ns}	**3,37***	2,03^{ns}	**3,39***	**8,71***	**5,38***	**5,19***
Inoculação (I)	1	-	0,00^{ns}	**10,28***	0,74^{ns}	**7,22***	**20,18***	2,14^{ns}	**10,09***
T x F	8	**3,25***	1,64^{ns}	0,65^{ns}	1,14^{ns}	**2,34***	**2,26***	**3,24***	**2,95***
T x I	4	-	1,86^{ns}	**3,55***	**4,70***	0,69^{ns}	**4,13***	**4,11***	**2,94***
F x I	2	-	0,13^{ns}	0,06^{ns}	0,34^{ns}	**9,00***	**6,54***	2,16^{ns}	0,18^{ns}
T x F x I	8	-	**2,58***	**2,19***	**3,64***	1,56^{ns}	**5,21***	1,31^{ns}	**2,61***

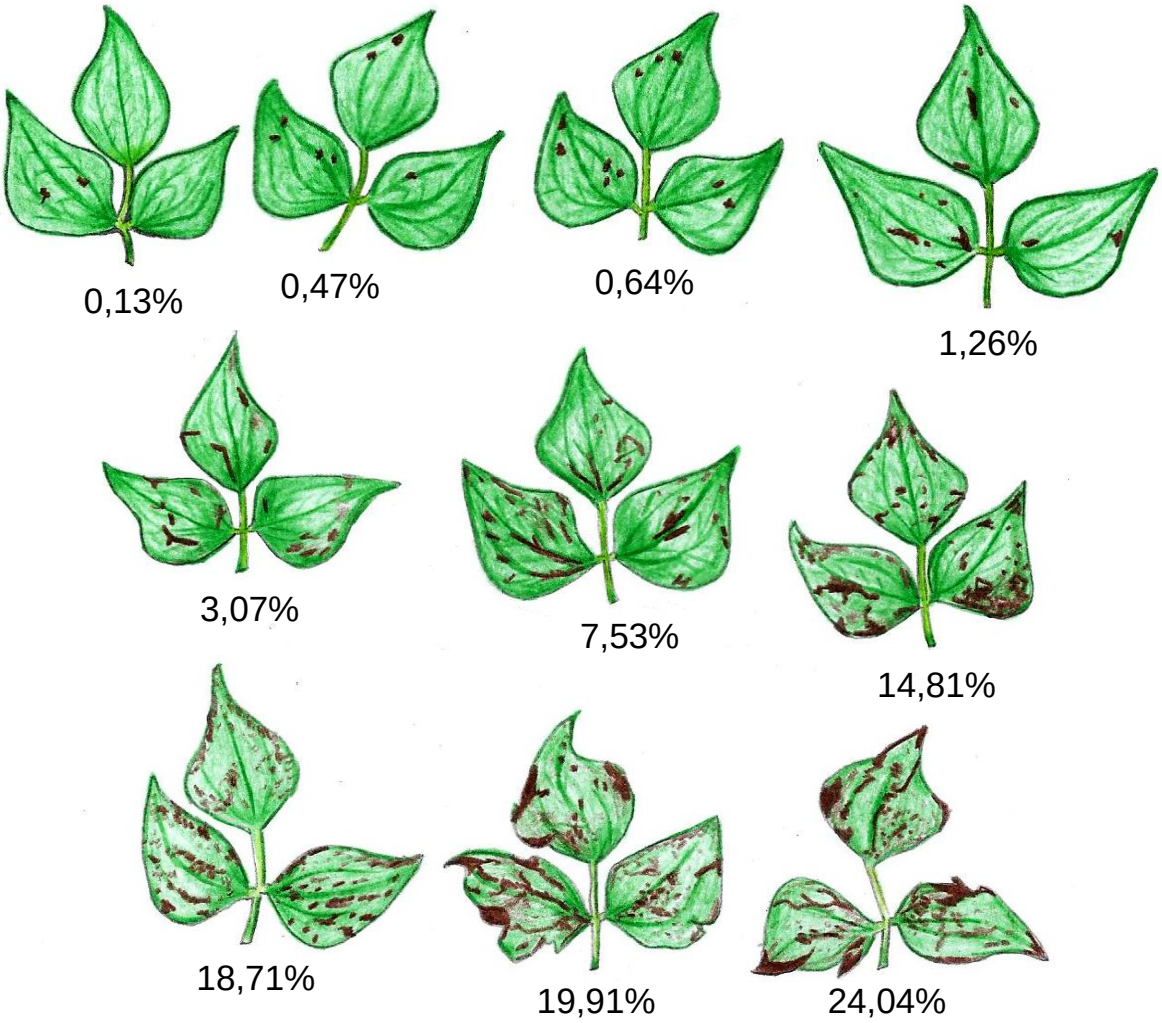
*Significativo a 5% de probabilidade (p≤0,05); ns: não significativo.

ANEXOS

Anexo A. Sintomas de danos observados em raiz, hipocótilo e folha, causado por *Fusarium* sp.

	Sintoma
	Raiz
1	Ausência de sintomas
2	Raiz pivotante totalmente ou parcialmente necrosada, porém sem raízes secundárias normais
3	Sistema radicular totalmente necrosado
	Hipocótilo
1	Ausência de sintomas
2	Plântula com lesão superficial, com até 1,0 cm de extensão no hipocótilo
3	Plântula com lesão deprimida, acima de 2,0 cm de extensão no hipocótilo
	Folha
1	Ausência de sintomas
2	Leve desenvolvimento dos sintomas, com clorose nos folíolos com traços de até 10%
3	Moderado desenvolvimento dos sintomas, com clorose nos folíolos de até 25% da área foliar afetada
4	Elevado desenvolvimento dos sintomas, com clorose nos folíolos de até 50% de área afetada
5	Severo desenvolvimento dos sintomas, com clorose de 51 a 100% da área foliar e/ou plântulas mortas.

*adaptado de Franco et al. (2009).



Anexo B. Escala diagramática para avaliar a severidade do *Colletotrichum lindemuthianum* em folhas de feijão (adaptado de Dalla Pria e Amorim, 2010, por Jerffeson Araújo).