

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**

DANIELLE MATTEI

**ALTERAÇÕES BIOQUÍMICA E FÍSICA DA SOJA TRATADA COM SILICATO DE
POTÁSSIO VISANDO O CONTROLE DE *Meloidogyne incognita***

MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ

2018

DANIELLE MATTEI

**ALTERAÇÕES BIOQUÍMICA E FÍSICA DA SOJA TRATADA COM SILICATO DE
POTÁSSIO VISANDO O CONTROLE DE *Meloidogyne incognita***

Tese apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia para a obtenção do título de Doctor Scientiae.

Orientador: José Renato Stangarlin

Coorientadora: Cláudia Regina Dias Arieira

MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ

2018

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Mattei, Danielle

Alterações bioquímica e física da soja tratada com silicato de potássio visando o controle de *Meloidogyne incognita* / Danielle Mattei; orientador(a), José Renato Stangarlin; coorientador(a), Cláudia Regina Dias-Arieira, 2018.

115 f.

Tese (doutorado), Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus Marechal Cândido Rondon, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2018.

1. Agronomia . 2. Fitossanidade. 3. Indução de resistência . 4. Nematologia. I. Stangarlin, José Renato . II. Dias-Arieira, Cláudia Regina . III. Título.



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ
GOVERNO DO ESTADO

DANIELLE MATTEI

Alterações bioquímica e física da soja tratada com silicato de potássio visando o controle de *Meloidogyne incognita*

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Doutora em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Fitossanidade e Controle Alternativo, APROVADO(A) pela seguinte banca examinadora:

Orientador(a) - José Renato Stangarlin

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Odair José Kuhn

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Cláudio Yuji Tsutsumi

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Marechal Cândido Rondon (UNIOESTE)

Vivian Carré Missio

Universidade Federal do Paraná - Campus de Palotina (UFPR)

Roberto Luís Portz

Universidade Federal do Paraná (UFPR)

Marechal Cândido Rondon, 14 de dezembro de 2018

DEDICATÓRIA

Quando os pais ensinam,
incentivam e acompanham seu filho,
orgulho de seus feitos terão.
Aos meus pais, dedico!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha família, pelo apoio nos dias de estudo e o suporte da ausência quando não pude estar com vocês. Mãe, pai e mana, nossas longas conversas ao telefone sempre auxiliaram a suportar a saudades. Sem o apoio, estímulo e compreensão de vocês não chegaria até aqui. Meu amor por vocês é incondicional e imensurável.

Andre Gustavo Battistus, obrigada por estar sempre ao meu lado, pelo apoio emocional, na distância da família, nos estudos, no trabalho, na correria do dia-a-dia. Por todo carinho, afeto, amor, felicidades, tristezas, angustias e sucessos compartilhados, por me fazer ver que amanhã não é o fim durante momentos de ansiedade, e que os pés devem permanecer no chão, firmes, dia após dia. Obrigada por compartilhar um pedacinho de sua vida comigo.

Aos colegas e amigos Andre G. Battistus, Anderson L. Helling, Eloisa Lorenzetti, Eliana Pereira, Emanuele G. Dal'Maso, Heriksen H. Puerari, Jeferson Carvalho, Lucas G Bulegon, Luiz Offmann, Marta I. F. da Cruz, Nicanor P. Henkemeier, Tulya F. Webler, pelo auxílio nas análises e condução dos ensaios experimentais, pelos grupos de estudo, acompanhados de muito tereré e risadas, pela vida que auxiliaram a descomplicar, através de conversas descontraídas e através também das conversas técnicas.

Aos professores e doutores Afonso Celso Gonçalves Júnior e Vandeir Francisco Guimarães, pela disponibilização de equipamentos, reagentes e/ou auxílio em processos de análises, retirada de dúvidas e troca de conhecimento. Gostaria de deixar aqui meu muito obrigada em especial ao Prof. Dr. Odair José Kuhn, que auxiliou durante realização das análises por diversas vezes, esclarecendo dúvidas, trocando experiências e conhecimento.

A minha coorientadora Prof^a Dr^a Claudia Regina Dias Arieira pelo aceite em continuar me acompanhando por mais essa etapa de formação, bem como por sua amizade.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Renato Stangarlin que me acolheu como sua orientada, me aconselhou e ensinou como mestre, mas também me ensinou muito através de sua forma de ser. Com seu jeito calmo e iluminado, em momentos de ansiedade conseguiu transmitir tranquilidade, me mostrando que o caminho não era assim tão sinuoso.

A Unioeste e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pela oportunidade de cursar um programa de doutorado e pela excelente receptividade de toda a equipe.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela disponibilização da bolsa de doutorado.

Muito obrigada!

RESUMO

MATTEI, Danielle. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, dezembro de 2018. **Alterações bioquímica e física da soja tratada com silicato de potássio visando o controle de *Meloidogyne incognita***. Orientador: José Renato Stangarlin. Coorientadora: Claudia Regina Dias Arieira.

Os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) estão entre os principais fitopatógenos de sistema radicular. O controle químico desse se baseia no uso de nematicidas sintéticos que apresentam elevada toxicidade, necessitando-se desenvolver métodos alternativos, como o uso de indutores de resistência, como o silício, considerado um indutor de amplo espectro. Desse modo, objetivou-se avaliar a eficiência de doses de silicato de potássio como indutor para o controle de *Meloidogyne incognita* em soja, avaliando sua influência sobre a atividade enzimática, teores de compostos fenólicos e lignina e modificações anatômicas nas células radiculares. Soja, cv. Syn. 1059, foi induzida, por pulverização em parte aérea no estádio fenológico V1, com silicato de potássio (Silifort[®]) à 0%, 0,25%, 0,5%, 1%, 2% e 4%. Cloreto de potássio (KCl) à 0,04% de K₂O, acibenzolar-S-metil (ASM) (Bion[®], 200 mg L⁻¹) e plantas não tratadas e não inoculadas foram utilizados como testemunhas. A inoculação com três mil ovos e eventuais juvenis de *M. incognita* foi realizada 10 ou 8 dias após os tratamentos, dependendo do ensaio. A avaliação dos parâmetros vegetativos e nematológicos foi realizada 60 dias a inoculação. A amostragem radicular para análise enzimática foi realizada aos 0, 4, 8, 12, 16 e 20 dias após a indução, e, nesta última, foram coletadas amostras para análise de fenóis, lignina e histologia. Foi procedida a análise de variância e quando significativa, foi realizado teste de Dunnett (5% de probabilidade de erro). Análises de regressão linear, quadrática e cúbica foram realizadas para as doses. O silicato de potássio a 0,5% e o ASM apresentaram redução de mais de 50% da população final e fator de reprodução de *M. incognita*. A população final, fator de reprodução, nematoides por grama de raiz e ovos por massa de ovos apontaram menores valores para dose calculada de 0,8% de silicato. A atividade enzimática não foi afetada, anteriormente à inoculação. A polifenoloxidase apresentou comportamento linear crescente (47% superior para silicato 4%), quatro dias após a indução. Fenilalanina amônia-liase apresentou para silicato 2%, aos 12 dias após indução, atividade 72% superior ao controle. A peroxidase, em mesmo período, apresentou incremento linear (55% superior para silicato 4%), e aos 16 dias, silicato 2% apresentou atividade 40% superior a dose 0. O silicato favoreceu o acúmulo de fenóis e decréscimo de lignina. Compostos fenólicos apresentaram média inferior ao controle para silicato, mas superior ao KCl e ASM, e a lignina, em geral, não diferiu do controle. O diâmetro

da raiz e dos vasos do xilema não foi afetado. Diâmetros do floema, de suas células e das células do xilema foram menores para silicato de potássio entre 0,6% e 1,3% e maior para silicato 3,3% a 4%. A espessura da parede das células do floema e estria de Caspary apresentou comportamento similar, enquanto que para as do xilema observou-se comportamento inverso. Portanto, confirmou-se a influência do silicato de potássio sobre a atividade enzimática, teor de fenóis, lignina e características anatômicas, em soja desafiada por *M. incognita*, indicando indução de resistência e *priming*, favorecendo o controle do nematoide das galhas.

Palavras-chave: Indução de resistência. Nematoide das galhas. Silício.

ABSTRACT

MATTEI, Danielle. State University of Western Paraná, December 2018. **Biochemical and physical reaction of soybean treated with potassium silicate for the control of *Meloidogyne incognita***. Adviser: José Renato Stangarlin. Co-Adviser: Claudia Regina Dias Arieira.

Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are among the major phytopathogenic nematodes. Chemical nematicides present high toxicity, and alternative methods such as resistance induction are required. Silicon is considered a broad-spectrum inducer. The aim of this study was to evaluate the efficiency of doses of potassium silicate as an inducer for the control of *Meloidogyne incognita* in soybean, evaluating enzymatic activity, changes in the phenolic compounds and lignin contents and anatomical modifications. Soybean, cv. Syn. 1059, was induced, by spraying on shoot at phenological stage V1, with 0%, 0.25%, 0.5%, 1%, 2%, and 4% potassium silicate (Silifort®). Potassium chloride (KCl) at 0.04% K₂O, acibenzolar-S-methyl (ASM) (Bion®, 200 mg L⁻¹) and untreated and uninoculated plants were used as controls treatments. The inoculation with 3,000 eggs and eventual juveniles of *M. incognita* was carried out 10 or 8 days after treatments, depending on the assay. Evaluation of vegetative and nematological parameters was performed at 60 days. Root samples for enzymatic analysis were performed at 0, 4, 8, 12, 16 and 20 days after induction, and at the final, samples were collected for analysis of phenols, lignin and histology. Dunnett's test (5% probability of error) was performed. Linear, quadratic and cubic regression analyzes were performed for the doses. The 0.5% potassium silicate and ASM showed a reduction of more than 50% of the final population and reproduction factor of *M. incognita*. The final population, reproduction factor, nematodes per gram of roots and eggs per mass, showed lower values for dose around 0.8% of silicate. The enzymatic activity was not affected prior to inoculation. Polyphenoloxidase showed an increasing linear behavior (47% higher for 4% silicate), four days after induction. Phenylalanine ammonia-lyase presented at 2% silicate, at 12 days after induction, activity 72% higher than the control. In the same period, peroxidase showed a linear increase (55% higher to 4% silicate), and at 16 days, 2% showed activity 40% higher than dose 0. The silicate favored phenols accumulation and lignin decrease. The average of phenolic for silicate was lower than the control, but higher than KCl and ASM, and lignin, in general, did not differ from the control. Diameter of root and xylem vessels was not affected. Phloem diameter, its cells and xylem cells were lower for potassium silicate between 0.6% and 1.3% and higher for 3.3% to 4%. The wall thickness of the phloem and Casparian strip cells presented similar behavior, whereas xylem cells presented inverse behavior. Therefore, the influence of potassium silicate on enzymatic

activity, phenol content, lignin and anatomical characteristics was confirmed in soybean challenged by *M. incognita*, indicating induction of resistance and priming, favoring root-knot nematode control.

Keywords: Resistance induction. Root-knot nematode. Silicon.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	13
2	CAPÍTULO 1: SILÍCIO COMO INDUTOR DE RESISTÊNCIA E A INTERAÇÃO PLANTA-<i>Meloidogyne</i>: UMA REVISÃO	19
2.1	OS NEMATOIDES DAS GALHAS E SUA INTERAÇÃO COM O HOSPEDEIRO	22
2.2	A INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA E O CONTROLE DE NEMATOIDES	25
2.3	O USO DA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA MEDIADA PELO SILÍCIO NO CONTROLE DO NEMATOIDE DAS GALHAS	27
2.4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
2.5	REFERÊNCIAS.....	35
3	CAPÍTULO 2: SILICATO DE POTÁSSIO PARA CONTROLE DE <i>Meloidogyne incognita</i> EM PLANTAS DE SOJA	42
3.1	INTRODUÇÃO	43
3.2	MATERIAL E MÉTODOS	45
3.3	RESULTADOS	48
3.4	DISCUSSÃO	54
3.5	CONCLUSÕES	58
3.6	REFERÊNCIAS.....	58
4	CAPÍTULO 3: INCREMENTO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA MEDIADA PELO SILICATO DE POTÁSSIO EM SOJA DESAFIADA COM <i>Meloidogyne incognita</i>	62
4.1	INTRODUÇÃO	63
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	65
4.2.1	Análises Bioquímicas	67
4.2.1.1	Obtenção Dos Extratos.....	67
4.2.1.2	Quantificação De Proteínas Totais.....	67
4.2.1.3	Atividade De Peroxidase (POD; E.C. 1.11.1.7).....	67
4.2.1.4	Atividade De Polifenoloxidase (PPO; E.C. 1.10.3.1).....	68
4.2.1.5	Atividade De Fenilalanina Amônia-Liase (PAL; E.C. 4.3.1.5)	68
4.2.2	Análises Estatísticas	69
4.3	RESULTADOS	69
4.4	DISCUSSÃO	77
4.5	CONCLUSÕES	80
4.6	REFERÊNCIAS.....	80
5	CAPÍTULO 4: ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS E CONTEÚDO DE FENÓIS TOTAIS EM RAÍZES DE SOJA INOCULADA COM <i>Meloidogyne incognita</i> E INDUZIDA COM SILICATO DE POTÁSSIO	85
5.1	INTRODUÇÃO	86
5.2	MATERIAL E MÉTODOS	89

5.2.1	Preparação E Condução Do Ensaio Experimental	89
5.2.2	Aplicação Dos Tratamentos.....	89
5.2.3	Obtenção Do Inóculo E Inoculação	90
5.2.4	Realização Da Amostragem.....	90
5.2.5	Compostos Fenólicos Totais	91
5.2.6	Lignina	91
5.2.7	Cortes Histológicos.....	92
5.2.8	Obtenção De Micrografias E Mensurações	93
5.2.9	Análise Estatística	93
5.3	RESULTADOS	94
5.4	DISCUSSÃO	101
5.5	CONCLUSÕES	105
5.6	REFERÊNCIAS.....	106
6	CONCLUSÕES GERAIS	110
7	REFERÊNCIAS	112

1 INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil apresenta grande evolução nas tecnologias de produção da soja, o que vem possibilitando ano após ano o aumento de produtividade, tendo esta passado de 2.854 kg ha⁻¹ na safra de 2013/2014 para 3.394 kg ha⁻¹ na safra 2017/2018, segundo acompanhamento da safra brasileira de grãos (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2018). Segundo este mesmo documento, a produção brasileira foi superior a 119,2 milhões de toneladas, com área plantada de 35,1 milhões de hectares, sendo previsto para a próxima safra produção de 119,4 milhões de toneladas, e área plantada de 36,1 milhões de hectares, com produtividade similar ao ano anterior. Considerando a produção estadual, ainda segundo a CONAB, o ranking brasileiro é liderado pelo estado do Mato Grosso, com produção de 32,3 milhões de toneladas, área plantada de 9,5 milhões de hectares e produtividade de 3.394 kg ha⁻¹, seguido do estado do Paraná com produção de 19,0 milhões de toneladas e área plantada de 5,4 milhões de hectares, mas com produtividade superior, alcançando a marca de 3.503 kg ha⁻¹. Logo, é evidenciada aqui a tamanha importância da cultura da soja, nos cenários mundial, nacional e estadual.

A ocorrência de doenças nas culturas prejudica a produção e qualidade de alimentos. Em geral observa-se o favorecimento do crescimento da população dos patógenos específicos das culturas ano após ano, quando se faz a adoção de monocultivos. Nesses casos, observa-se adoção excessiva de agroquímicos, o que pode levar a supressão da microbiota benéfica do solo, favorecendo patógenos, inclusive fitonematoides, os quais ocasionam perdas equivalentes a aproximadamente US\$ 141 bilhões anualmente em torno do mundo (FLEMING et al., 2016). Os danos à produção decorrentes da infecção por nematoides são variáveis de acordo com a suscetibilidade da cultura, espécie, nível populacional presente, condição ambiental e tipo de solo (PERRY; MOENS; STARR, 2009). A ocorrência dos nematoides é favorecida por práticas agrícolas que podem disseminar patógenos e pragas (FAO, 2017), como terceirização de maquinários e uso de mudas e sementes contaminadas, entre outras.

No Brasil há relato de mais de 100 espécies de nematoides na cultura da soja, sendo as espécies mais danosas a cultura no Brasil *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, *Heterodera glycines*, *Pratylenchus brachyurus* e *Rotylenchulus reniformis* (LIMA et al., 2016). Os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) são conhecidos mundialmente por seus danos, onde mais de 90 espécies estão classificadas, sendo destacadas entre as principais *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla* (LIMA et al., 2016; PERRY; MOENS, 2006).

Além dessas, *M. enterolobii*, *M. paranaensis*, *M. inornata*, *M. ethiopica* e *M. exigua*, consideradas espécies ‘menores’, vem sendo relatadas com maior frequência no Brasil, possivelmente devido ao acesso mais fácil a ferramentas mais precisas de identificação como a eletroforese de isoenzimas (MACHADO, 2014).

O ciclo de vida de *Meloidogyne* spp. inicia com a produção de um ovo, dentro do qual é observado o desenvolvimento de um embrião, que formará o juvenil de primeiro estágio, que após ecdise formará o juvenil de segundo estágio (J₂) (PERRY; MOENS; STARR, 2009). Este, após eclosão, se movimenta até a zona de alongamento das raízes, penetrando o sistema radicular (WILLIAMSON; HUSSEY, 1996). Internamente as raízes a migração ocorre entre as células, onde os J₂ migram até o ápice radicular e na zona de diferenciação se voltam para a porção central da raiz, retornando a parte superior, migrando até o pró-cambio e estabelecendo o sítio de alimentação (HOLBEIN; GRUNDLER; SIDDIQUE, 2016).

Como resultado do início da alimentação se desenvolvem células gigantes e multinucleadas, fonte permanente de nutrientes para esses parasitos (WILLIAMSON; HUSSEY, 1996). Após início da alimentação, o juvenil de segundo estágio passara por três ecdises, até formar o adulto, cujas fêmeas são de formato piriforme avantajado (PERRY; MOENS; STARR, 2009). A reprodução em geral é partenogênica (LIU; THOMAS; WILLIAMSON, 2007), decorrente da produção de ovos em grande capacidade pelas fêmeas, 3 a 6 semanas após o início do parasitismo, com ovopostura em matriz gelatinosa, enquanto os machos voltam a apresentar formato vermiforme, sendo a formação desses geralmente atrelada a condições estressantes (WILLIAMSON; HUSSEY, 1996).

Quando da ocorrência da infecção por *Meloidogyne*, em função da formação do sítio de alimentação, do qual o nematodo passa a depender para adquirir nutrientes por todo seu ciclo, observa-se que as plantas acometidas passam a apresentar, além do crescimento reduzido e deficiência nutricional, o sintoma típico de galhas, decorrente da hipertrofia e hiperplasia celular (MELO et al., 2012), sintomas geralmente distribuídos nas áreas de cultivo sob forma de reboleiras.

Diversas ferramentas estão disponíveis no mercado nos dias de hoje para o controle de nematoides. O controle químico em geral é representado por diversos produtos de alta toxicidade, como hidrocarbonetos alifáticos halogenados, isotiocianato de metila e carbofurano, os quais podem em função do uso contínuo ocasionar problemas de contaminação ambiental bem como de seleção de nematoides resistentes (ADEGBITE; ADESIYAN, 2006; GAO et al., 2016; JARDIM; DE ALMEIDA ANDRADE; DE QUEIROZ, 2009), o que vem fazendo com que sua eficiência seja reduzida. No Brasil, diversos produtos tiveram seus registros cancelados,

a exemplo daqueles a base de aldicarbe, carbofurano e carbosulfano (pertencentes ao grupo químico dos metilcarbamatos), bem como o fenamifós (do grupo químico organofosforado) (ADAPAR, 2018). Dentre as opções disponíveis no mercado brasileiro estão a abamectina (avermectina), terbufós e cadusafós (organofosforados), fluensulfona (fluoroalquenil sulfon heterocíclica), benfuracarbe (metilcarbamato), dazomete e metam sódico (precursores de isotiocianato de metila) (ADAPAR, 2018).

O tratamento de sementes garante bom estande, estabelecimento da raiz primária e desenvolvimento inicial da planta, podendo auxiliar na redução da população de nematoides que inicialmente atuam sobre as plantas, melhorando a produção, apesar de geralmente não afetar a população final de nematoides (VITTI et al., 2007). Fumigantes, erradicantes voláteis, após aplicados ao solo sob via líquida, liberam gases altamente tóxicos a todos organismos, pois são biocidas (GARCIA, 1999), logo, a não seletividade faz com que prejudiquem organismos benéficos e o sistema agrícola (MATTEI et al., 2017a). A alta toxidez e custos dos nematicidas químicos faz com que sejam buscadas alternativas ambientalmente corretas e com baixa toxicidade.

O controle biológico se destaca como medida em ascensão no mercado. Entretanto, é válido lembrar que a eficiência de um agente biológico será variável em função da possibilidade de existência de especificidade em relação ao patógeno com que interage (GONZAGA et al., 2009). Além disso, a ação dos agentes biológicos pode variar de acordo com o ambiente, logo, quanto maior a capacidade de adaptação a distintos ambientes, maior será a viabilidade de emprego (VERMA et al., 2013). Entre os agentes biológicos disponíveis para o controle de nematoides no Brasil estão os fungos *Paecilomyces lilacinus* e *Pochonia chlamydosporia*, bem como as bactérias *Pasteuria nishizawae*, *Bacillus firmus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. licheniformis* e *B. methylotrophicus* (ADAPAR, 2018).

A solarização se destaca quando se refere ao controle físico de patógenos de solo. O umedecimento do solo, uso de cobertura plástica e alta incidência luminosa promovem aquecimento até 50 °C à 10 cm de profundidade e o controle eficiente de patógenos, sobrevivendo alguns organismos termófilos e termotolerantes (STAPLETON, 2000). A não eliminação total dos microrganismos evita reestabelecimento de patógenos. Contudo, como é exigido que seja feita por aproximadamente 30 dias durante o verão, existe um custo implícito da não utilização da terra, fazendo com que não seja bem aceita.

A resistência genética, economicamente viável e ambientalmente correta, é passível de adoção no manejo integrado (HUSSAIN; MUKHTAR; KAYANI, 2016). Quando conferida pelos genes Mi1, Ma e Me3, a resistência ao nematoide das galhas promove resposta de

hipersensibilidade rápida, 24 horas após invasão das raízes, culminando em morte das células do sítio de alimentação e arredores (GOVERSE; SMANT, 2014). Existem vários genótipos de soja com resistência ao nematoide das galhas, em especial a *M. incognita* e *M. javanica*, quase todas descendentes da cultivar ‘Bragg’, mas em geral não apresentam níveis elevados de resistência (LIMA et al., 2016).

Entretanto, nem sempre é possível a adoção de cultivares resistentes, em função da disponibilidade do mercado, assim como muitas vezes não é bem aceito pelos produtores a adoção de produtos biológicos ou a realização de solarização, entre outros métodos alternativos. Logo, visando fugir do emprego dos nematicidas químicos, e atentando para o uso de um método de fácil adoção e aplicação, muito se discute a respeito da utilização de indutores de resistência no controle de fitonematoides, visando ativar mecanismos de resistência preexistentes na planta (DIAS-ARIEIRA et al., 2013).

Indutores atuam como ativadores da resistência sistêmica adquirida (RSA), mediada pelo sinalizador ácido salicílico (AS) (MOLINARI; BASER, 2010), ou resistência sistêmica induzida (RSI), mediada pelo ácido jasmônico (JA) e etileno (ET) (SALGADO et al., 2007). A RSA decorre da ação de patógenos necrotróficos, ou produtos químicos como o acibenzolar-S-metil (ASM), e a RSI é induzida por agentes não patogênicos (MOLINARI; BASER, 2010; SALGADO et al., 2007). Entretanto, apesar de decorrentes de fenômenos distintos, apresentam fenótipos semelhantes. Além disso, ambas dependem de um mesmo regulador transcricional, o NPR1 (CAARLS; PIETERSE; VAN WEES, 2015; HENRY; THONART; ONGENA, 2012).

Após a aplicação os indutores são reconhecidos como eliciadores, e a percepção destes por receptores presentes na membrana plasmática, ativa um estado de alerta ou *priming*, através da produção e acúmulo de aminoácidos, açúcares, espécies reativas de oxigênio (EROs), ácidos tricarbóxicos, bem como íons que atuam como sinalizadores e ativação de genes relacionados a resistência (MAUCH-MANI et al., 2017), logo, após a indução a resistência da planta será maior. Dentre os indutores estudados no controle de nematoides estão acibenzolar-S-metil (ASM), ácido jasmônico e metil jasmonato, e os fosfitos e silicatos (DIAS-ARIEIRA et al., 2012; GUIMARÃES et al., 2008; PUERARI et al., 2013; SILVA et al., 2015), entre outros.

O estudo dos silicatos na indução deve considerar que a interação planta-silício pode ser influenciada pelo modo de absorção da planta e sua capacidade de acúmulo (TUBANA; BABU; DATNOFF, 2016), superior a 4% de Si, em culturas acumuladoras, e inferior a 2% para aquelas não acumuladoras (VASANTHI; SALEENA; ANTHONI RAJ, 2014). A soja acumula teores em torno de 1,5% (MITANI; MA, 2005), de modo a ser classificada como não acumuladora.

É sabido que culturas acumuladoras tendem ao acúmulo de silício em parte aérea, verso que as não acumuladoras alocam tal nutriente nas raízes (LIANG et al., 2015). Além disso, teores e solubilidade dos nutrientes, e a dose e épocas de aplicação, são outros fatores que podem influir na ação dos indutores (BRITO et al., 2016; KEEPING, 2017).

Resultados positivos para o controle de doenças em plantas vem sendo observados na utilização de nutrientes como o potássio (K) e o silício (Si) (VASANTHI; SALEENA; ANTHONI RAJ, 2014; ZÖRB; SENBAYRAM; PEITER, 2013). O K atua na osmorregulação, potencial de membranas, fotossíntese, atividade de algumas enzimas e na síntese de ATP e proteínas (HAFSI; DEBEZ; ABDELLY, 2014). O Si favorece a eficiência de uso da água, rigidez do tecido pela polimerização de dióxido de silício nas paredes celulares e acúmulo de lignina, produção de moléculas relacionadas à defesa, como flavonoides, antocianinas, lactonas e fenóis, que apresentam atividade antioxidante e antifúngica, e incremento da atividade de enzimas, como catalase (CAT), peroxidases (POX), polifenoloxidasas (PPO), fenilalanina amônia-liase (PAL) e superóxido dismutase (SOD) (DEBONA; RODRIGUES; DATNOFF, 2017). Destas, a PAL, na rota dos fenilpropanóides, desamina a L-fenilalanina produzindo compostos fenólicos, utilizados na produção de ésteres, cumarinas, flavonoides e ligninas (STANGARLIN et al., 2011). Compostos fenólicos são substratos da PPO, usados na hidroxilação de monofenóis a *o*-difenois e destes a *o*-quinonas, bem como no acoplamento oxidativo de radicais monolignóis, para produção da lignina (JUKANTI, 2017; RAHMAN; WALLIS; UDDIN, 2015). A POX também atua na formação da lignina, utilizando peróxido de hidrogênio como agente oxidante de monolignóis (CESARINO et al., 2012; STANGARLIN et al., 2011).

Existem poucos estudos sobre o silicato e potássio de forma conjunta na indução, através da aplicação de potássio, entretanto, os resultados demonstram efetividade na indução de resistência contra *M. incognita* em cana-de-açúcar, alface e pepino (FREIRE, 2007; GUIMARÃES et al., 2008, 2010), *M. javanica* em arroz, feijão e soja (MATTEI et al., 2017b), *M. paranaensis* em café (ROLDI et al., 2017) e *Heterodera glycines* em soja (FREIRE, 2007). A aplicação de potássio através do cloreto de potássio favoreceu o controle de *M. paranaensis* em café (ROLDI et al., 2017), e o fosfite de potássio o controle de *Pratylenchus brachyurus* em milho (DIAS-ARIERIA et al., 2012), e *Heterodera avenae* em trigo e *M. marylandi* em trigo e aveia (OKA; TKACHI; MOR, 2007). Já o silício, através do silicato de cálcio, foi favorável ao controle de *M. incognita* em tomateiro e pepineiro, *M. javanica* em pepineiros (FREIRE, 2007) e *M. exigua* em café (SILVA et al., 2015). Silicato de cálcio e magnésio auxiliaram o controle de *M. javanica* em bananeira (OLIVEIRA et al., 2012), e outras fontes

de Si são também relatadas como eficientes para o controle de *M. incognita* em tomate (MELO et al., 2012), *M. javanica* em arroz, feijão, e soja (MATTEI et al., 2017b) e *M. graminicola* em arroz (ZHAN et al., 2018).

No controle de *Meloidogyne*, prega-se que a indução pode afetar a penetração e o desenvolvimento dos juvenis nas raízes, as células do sítio de alimentação, formação de galhas e até mesmo a fecundidade de fêmeas, além de levar ao incremento no acúmulo de proteínas relacionadas a patogênese (proteínas-PR), atividade de enzimas relacionadas a resistência vegetal e lignificação (MATTEI et al., 2017b; MOLINARI, 2016; OKA; COHEN, 2001).

Na literatura, estão disponíveis apenas alguns estudos envolvendo análises bioquímicas e estruturais em patossistemas visando controle de *Meloidogyne* em diferentes culturas induzidas pelo Si. No patossistema *Meloidogyne incognita* – cana-de-açúcar, verificou-se que plantas inoculadas apresentaram atividade enzimática superior de β -1,3-glucanase e peroxidase aos 21 dias após inoculação, e que a aplicação de silicato de potássio levou ao incremento da atividade da β -1,3-glucanase (GUIMARÃES et al., 2010). Além disso, os autores observaram maior atividade enzimática para a maior dose se Si aplicada. Redução do número de ovos e galhas de *M. exigua* em cafeeiro ‘Catuaí’, cultivado em solo corrigido com silicato de cálcio, foi atribuída ao aumento de lignina, acompanhado do aumento da atividade de enzimas como peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina- amônia-liase (SILVA et al., 2010).

Em arroz inoculado com *M. graminicola* a aplicação de Si a 0,04% reduziu a formação de galhas e o desenvolvimento de fêmeas, entretanto, não foi observada redução no número de células componentes do sítio de alimentação (ZHAN et al., 2018). No mesmo ensaio o Si promoveu aumento na área de deposição de calose nas galhas e acúmulo de peróxido de hidrogênio, produção de lignina e compostos fenólicos. O tratamento com silício em plantas de milho sob estresse abiótico favoreceu o desenvolvimento, e a formação das estrias de Caspary e tecidos vasculares (VACULÍK et al., 2012). Nesse caso, maior lignificação na estria de Caspary talvez possa reduzir o fluxo de água e nutrientes, afetando o suprimento dos sítios de alimentação dos nematoides sedentários (BAXTER et al., 2009).

Propõe-se que a indução de resistência decorrente da aplicação do Si contra *Meloidogyne* seja mediada pelo etileno (ET). Tal proposição foi confirmada em arroz desafiado por *M. graminicola* tratado com Si, pela super-expressão dos genes envolvidos na biossíntese (OsACS1), sinalização (OsEIN2) e resposta (OsERF1) ao ET (ZHAN et al., 2018). A diferenciação e desenvolvimento dos vasos condutores é mediada por diferentes hormônios vegetais. No caso do xilema, sua formação se dá pela redução do nível de citocininas e auxinas,

e elevação de etileno, resultando no colapso e morte celular, estruturando os vasos constituídos de tecido morto, onde ocorre o transporte passivo de seiva (SORCE et al., 2013).

Conforme abordado, o silício envolve-se no processo de indução de resistência influenciando na eficiência de uso de água, ativação de barreiras físicas e bioquímicas, mediada pelo acúmulo de etileno e modulação no conjunto de vasos condutores. Logo, o presente trabalho objetivou o estudo da aplicação de silicato de potássio em soja como indutor contra *M. incognita*, visando observar a eficiência no controle deste nematoide, desenvolvimento da planta, ativação de processos bioquímicos, estruturação celular e morfologia dos tecidos.

2 CAPÍTULO 1: SILÍCIO COMO INDUTOR DE RESISTÊNCIA E A INTERAÇÃO PLANTA-*Meloidogyne*: UMA REVISÃO

Resumo: Os nematoides das galhas (*Meloidogyne* spp.) estão entre os principais fitonematoides no que se refere ocorrência e danos observados na agricultura, o que é favorecido em função da ampla gama de hospedeiros que apresentam. Os métodos de controle geralmente não promovem isoladamente bom controle, e além disso, os produtos químicos apresentam elevada toxicidade, e a ação de produtos que atuam sobre os nematoides, bem como as cultivares resistentes, podem promover alta pressão de seleção quando usados frequentemente. A interação planta-nematoide é imprescindível para compreender o parasitismo. Além disso, a indução pode ativar mecanismos de resistência, favorecendo o reconhecimento do patógeno, atuando sobre a interação planta-nematoide. Existem diversos indutores químicos estudados para o controle, bem como nutrientes, onde o silício se destaca, por ser promotor de resistência contra estresses abióticos e bióticos. Desse modo, a presente revisão buscou explicar a respeito da interação planta-*Meloidogyne*, como atuam os indutores de resistência sobre as plantas, e como o silício como indutor pode ativar mecanismos de resistência para favorecer o controle do nematoide das galhas. Apesar da grande especialização ao parasitismo apresentada pelo nematoide das galhas, capaz inclusive de suprimir mecanismos de resistência do hospedeiro, a indução pode ativar mecanismos de resistência, favorecendo o reconhecimento de tais patógenos pela planta. O silício como indutor favorece sinalização, expressão gênica a ação de enzimas relacionadas desde o metabolismo fotossintético até aquelas de resistência vegetal. Assim, há redução do estresse decorrente do parasitismo pelos nematoides das galhas, bem como redução de seu desenvolvimento e reprodução, sendo, portanto, uma ótima alternativa para o controle de *Meloidogyne*.

Palavras-chave: Controle. Indução de resistência. Interação planta-patógeno. Nematoide das galhas.

A ocorrência de doenças nas culturas prejudica a produção e qualidade de alimentos (DE-LA-PENA; LOYOLA-VARGAS, 2014), culminando em baixa produção. Outro fator determinante no prejuízo da produção está relacionado a adoção de práticas agrícolas que favorecem a disseminação de patógenos e pragas (FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2017). Sob regime de monocultura, em geral se observa o uso de agroquímicos em demasia, supressão da microbiota benéfica do solo e o favorecimento de patógenos, inclusive fitonematoídeos, cujos danos a agricultura mundial podem chegar anualmente a US\$ 141 bilhões (FLEMING et al., 2016).

Dentro deste contexto destacam-se os nematoídeos das galhas. Estes nematoídeos são pertencentes ao gênero *Meloidogyne*, onde mais de 80 espécies estão classificadas, sendo destacadas entre as principais *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla* (PERRY; MOENS, 2006). Os danos a produção decorrentes da infecção por parasitos desse gênero são variáveis de acordo com a suscetibilidade da cultura, espécie, nível populacional presente, condição ambiental e tipo de solo (PERRY; MOENS; STARR, 2009). Na cultura do feijoeiro por exemplo, a ocorrência do nematoídeo das galhas podem ocasionar danos de até 90% (MACHADO et al., 2017).

Diversas ferramentas estão disponíveis para o controle de nematoídeos. O uso de variedades resistentes, prática economicamente viável e ambientalmente correta (HUSSAIN; MUKHTAR; KAYANI, 2016), além da fácil adoção, facilita a aceitação do método pelo agricultor. A resistência genética conferida a tomateiros, ameixeira e pimentões, mediada respectivamente pelos genes Mi1, Ma e Me3, promove resposta de hipersensibilidade rápida, dentro de aproximadamente 24 horas após invasão das raízes, culminando em morte das células do sítio de alimentação e arredores (GOVERSE; SMANT, 2014). Contudo, estes nem sempre são eficientes e podem exercer pressão para seleção de biótipos resistentes (GOVERSE; SMANT, 2014; MOLINARI, 2016).

Além das variedades resistentes o controle químico também é adotado. Este é representado por diversos produtos de alta toxicidade, como hidrocarbonetos alifáticos halogenados, isotiocianato de metila e carbofurano, os quais podem, em função do uso contínuo, ocasionar problemas de contaminação ambiental (ADEGBITE; ADESIYAN, 2006; GAO et al., 2016; JARDIM; DE ALMEIDA ANDRADE; DE QUEIROZ, 2009).

Logo, visando evitar seleção de nematoídeos resistentes, em decorrência da pressão de seleção exercida sobre as populações dos patógenos, observada tanto no caso do uso de genes de resistência em cultivares resistentes, bem como no caso do controle químico (ALTIERI;

NICHOLLS, 2003; EMBRAPA, 2013), faz com que se busquem outras medidas como os controles biológico, físico e, mais recentemente, a indução de resistência.

O controle biológico se destaca em como medida em ascensão. Encontram-se registrados no Brasil os fungos biocontroladores *Purpureocillium lilacinus* e *Pochonia chlamydosporia*; bem como as bactérias *Pasteuria nishizawae*, *Bacillus firmus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. licheniformis*, e *B. methylotrophicus* (ADAPAR, 2018). Entretanto, é válido lembrar que a eficiência de um agente biológico será variável em função da sua especificidade em relação ao patógeno com que interage, a exemplo do gênero de bactérias *Pasteuria*, onde *P. nishizawae*, apresenta especificidade ao parasitismo e controle dos nematoide de cistos, pertencentes aos gêneros *Heterodera* e *Globodera* (GONZAGA et al., 2009). Além disso, a ação dos agentes biológicos pode variar de acordo com o ambiente, devendo considerar a capacidade adaptação, pois quanto maior esta for, maior a viabilidade de uso do agente biológico (VERMA et al., 2013).

A solarização se destaca quando se refere ao controle físico de patógenos de solo. Através do umedecimento do solo e uso de cobertura plástica durante períodos de alta incidência de radiação luminosa, a ação dos raios solares promove o aquecimento e evaporação da água no solo, elevando a temperatura e promovendo o controle de grande parte dos patógenos, mas sem ocasionar vácuo biológico (STAPLETON, 2000). Contudo, como deve ser feita em períodos de alta incidência luminosa, no verão, há custo implícito da não utilização da terra, fazendo com que não seja comumente aplicada grandes áreas. Similarmente o uso do controle alternativo, mediante extratos e óleos vegetais, por exemplo, também é dificilmente adotado em grandes áreas de cultivo.

Visando ativar mecanismos de resistência preexistentes na planta, muito se discute a respeito de indutores de resistência e nutrientes visando o controle de fitonematoides, tendo essa técnica demonstrado bons resultados em diversos estudos (DIAS-ARIEIRA et al., 2013; SANTANA-GOMES et al., 2013). Dentro do contexto da utilização de nutrientes como indutores destacam-se os silicatos (GUIMARÃES et al., 2008; SALGADO et al., 2007; SILVA et al., 2010; ZHAN et al., 2018). O aumento dos danos ocasionados por nematoides, aliado a escassez de métodos eficazes de controle de fácil emprego e possibilidade de aplicação conjunta no manejo integrado tornam a indução de resistência um método grande potencial.

Desse modo, o presente artigo visa explanar a respeito da interação planta-*Meloidogyne*, a forma como atuam os indutores de resistência sobre as plantas, e como o silício como agente indutor pode interferir nos mecanismos de resistência físicos e bioquímicos contra o nematoide das galhas.

2.1 OS NEMATOIDES DAS GALHAS E SUA INTERAÇÃO COM O HOSPEDEIRO

O ciclo de vida de *Meloidogyne* spp. inicia com a produção de um ovo, dentro do qual é observado o desenvolvimento de um embrião, que formará o juvenil de primeiro estágio, o qual passará por uma ecdise ainda internamente ao ovo e formará o juvenil de segundo estágio, considerado a fase infectiva do referido nematodo (PERRY; MOENS; STARR, 2009). Este, após eclosão, se movimenta até a zona de alongamento das raízes, graças a percepção de estímulos químicos mediada por quimiorreceptores (os anfídios), e inicia o processo de penetração, que depende da liberação de enzimas produzidas pelas glândulas esofagianas através do estilete, bem como de sua força mecânica (WILLIAMSON; HUSSEY, 1996). Algumas das enzimas produzidas e liberadas pelos nematoides via estilete durante a infecção incluem: pectato liase, celulasas, expansinas, poligalacturonases, xilanases e endoglucanases (BOHLMANN; SOBCZAK, 2014).

Internamente as raízes a migração ocorre entre as células, por meio da degradação da lamela média, e para que atinjam a porção central da raiz os nematoides não atravessam a endoderme, mas as contornam. Para tal, após a penetração os juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne* migram até o ápice radicular e na zona de diferenciação migram para a porção central da raiz, voltando novamente à parte superior, migrando até o pró-cambio, onde estabelecerão o sítio de alimentação (HOLBEIN; GRUNDLER; SIDDIQUE, 2016).

Como resultado do início da alimentação se desenvolvem células gigantes e multinucleadas, que servem como fonte permanente de nutrientes até o fim do ciclo para esses parasitos e cuja manutenção depende de estímulo contínuo por parte dos nematoides, possivelmente atrelado a injeção de compostos produzidos pelas glândulas esofagianas (WILLIAMSON; HUSSEY, 1996). Entre estes compostos possivelmente estão citocininas e auxinas, cujo nível elevado é verificado em raízes infectadas, apesar de não ser observado incremento sistêmico (KENNEDY; HARNETT, 2001; PERRY; MOENS, 2006).

Após início da alimentação, o juvenil de segundo estágio passara por três ecdises, formando os juvenis de terceiro e quarto estágio, conhecidos como salsichóides, por apresentarem aumento de tamanho, e por fim formam o adulto (PERRY; MOENS; STARR, 2009). A reprodução em geral é partenogênica, podendo ser mitótica ou meiótica facultativa, sendo nesta última possível a ocorrência de reprodução cruzada (LIU; THOMAS; WILLIAMSON, 2007). As fêmeas adultas apresentam formato piriforme avantajado, com grande capacidade de produção de ovos, que se inicia entre 3 a 6 semanas após início do

parasitismo, realizando a ovopostura em matriz gelatinosa, enquanto os machos voltam a apresentar formato vermiforme, sendo a definição do sexo controlada epigeneticamente e a formação de machos geralmente atrelada a condições de estresse (WILLIAMSON; HUSSEY, 1996).

Conforme citado anteriormente, observa-se em raízes parasitadas por nematodos níveis elevados de citocininas e auxinas (KENNEDY; HARNETT, 2001; PERRY; MOENS, 2006). O incremento de citocinina pode culminar em aumento da fotossíntese foliar, resultante de estímulos de produção de clorofila (FARQUHAR; SHARKEY, 1982), conforme observado em tomateiros parasitados por *Meloidogyne incognita*, onde se observou incremento na assimilação de CO₂ e capacidade de descarboxilação 15 dias após a inoculação (MIORANZA, 2015).

Entretanto, tal incremento na fotossíntese não resulta em maior desenvolvimento da planta. A ação de parasitismo, com dreno de nutrientes e fotoassimilados representado pelo nematoide, culminará em menor desenvolvimento e sintomas relacionados à deficiência nutricional, geralmente observados no caso do parasitismo pelo nematoide das galhas (LUC; SIKORA; BRIDGE, 2005). Estes sintomas de deficiência decorrem principalmente da privação do suprimento de água e nutrientes para a parte aérea durante o parasitismo do *Meloidogyne* (WALLACE, 1974).

Além dos referidos sintomas, quando da ocorrência da infecção por *Meloidogyne*, em função da formação do sítio de alimentação, do qual o nematodo passa a depender para adquirir nutrientes por todo seu ciclo, observa-se que as plantas infectadas passam a apresentar, além do crescimento reduzido e deficiência nutricional, o sintoma típico de galhas, decorrente da hipertrofia e hiperplasia celular (MELO et al., 2012), sintomas geralmente distribuídos nas áreas de cultivo sob forma de reboleiras.

Como é de se imaginar, a ocorrência do parasitismo pelos nematoides culmina em uma relação planta-parasita, onde a planta pode perceber a infecção. A percepção das plantas a respeito da presença dos nematoide é mediada por proteínas receptoras específicas presentes no apoplasto e citoplasma, e levam ao reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos (*Pathogen Associated Molecular Patterns* – PAMPs) e padrões moleculares associados ao nematoide (*Nematode Associated Molecular Patterns* – NAMPs) (GOVERSE; SMANT, 2014).

Durante o processo de invasão das raízes, os danos provocados pelos nematoides provocam a liberação de fragmentos de parede celular, estes possivelmente podem atuar como padrões moleculares associados a danos (*Damage Associated Molecular Patterns* - DAMPs),

induzindo na planta respostas de resistência (HOLBEIN; GRUNDLER; SIDDIQUE, 2016). Além de DAMPs, os referidos autores ressaltam que também é muito discutida a presença de moléculas associadas ao nematoide atuando como NAMPs, uma forma de PAMPs específicos dos nematoides, induzindo a resistência, a exemplo são citados a quitina, compostos cuticulares e ascariosídeos, estes por sua vez, são caracterizados como glicosídeos com cadeia lateral derivada de ácidos graxos, evolutivamente conservados, secretados entorno do corpo do nematoide.

Logo, a defesa das plantas contra nematoides é mediada por sistema imune inato multicamada, iniciado pelo reconhecimento de NAMPs e DAMPs no apoplasto, e indução de defesa basal. Essa resulta em respostas rápidas incluindo produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), compostos antimicrobianos, enzimas e inibidores de protease, lignificação e calose (GOVERSE; SMANT, 2014). Segundo os referidos autores, tais mecanismos são ativados fortemente quando o padrão de movimentação dos fitonematoides envolve migração intracelular, quando comparado a intercelular.

Apesar disso, alguns nematoides aparentemente apresentam capacidade de suprimir mecanismos de defesa das plantas. A exemplo, pode-se citar a presença de uma camada recobrando externamente o corpo dos nematoides, rica em glicanos e dinâmica, sendo substituída continuamente durante o parasitismo, na qual também se observa a presença de proteínas antioxidantes, as peroxidases (GOVERSE; SMANT, 2014; MANTELIN; THORPE; JONES, 2015). As referidas peroxidases são enzimas que possivelmente apresentam ação contra respostas de defesa do hospedeiro. Isso pois tais enzimas atuam metabolizando espécies reativas de oxigênio, sendo também referidas na literatura como oxirredutase do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (STANGARLIN et al., 2011).

O nematoide das galhas, *M. incognita*, apresenta também a capacidade de liberar na planta durante o parasitismo um composto supressor da imunidade, a calreticulina, secretada na interface nematodo-sítio de alimentação, visando suprimir os mecanismos de defesa da planta, tornando-a mais suscetível, tanto ao nematoide como a outros patógenos (MANTELIN; THORPE; JONES, 2015). Segundo estes, as calreticulinas são proteínas ligantes de cálcio. Logo, são capazes de interferir na sinalização de defesa da planta hospedeira mediada pelos íons de cálcio (Ca^{2+}), sendo observadas proteínas homólogas a essas também em nematoides com hábito endoparasita migrador, indicando adaptação ao parasitismo, mediada pela redução da defesa basal da planta hospedeira (GOVERSE; SMANT, 2014). Aqui fica demonstrado o alto grau de especialização e que possibilita que tais organismos causem tantos danos a produção.

2.2 A INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA E O CONTROLE DE NEMATÓIDES

Quando se fala em indutores, é visada a utilização de produtos capazes de atuar sobre a planta ativando seus mecanismos de resistência, ou seja, que exercem o controle de patógenos sem apresentar ação direta de controle sobre os mesmos (SALGADO et al., 2007). Todavia, alguns produtos indutores podem apresentar também atividade direta sobre o desenvolvimento embrionário, eclosão e mortalidade dos nematóides (MATTEI; ARIEIRA, 2015; MOLINARI, 2016; SCHOUTEDEN et al., 2017), apesar de não ser a principal ideia vinculada a ação dos indutores.

A ativação da resistência sistêmica inespecífica ainda não é totalmente elucidada, entretanto, pode ocorrer de dois modos, através da resistência sistêmica adquirida (RSA) ou da resistência sistêmica induzida (RSI). A RSA é mediada pelo sinalizador ácido salicílico (AS) (MOLINARI; BASER, 2010), enquanto que a RSI é mediada pelo acúmulo de ácido jasmônico (JA) e etileno (ET) (SALGADO et al., 2007). Outra diferença são os agentes indutores: a RSA é decorrente da ação de patógenos necrotróficos, ou produtos químicos como o acibenzolar-S-metil (ASM), e a RSI é induzida por agentes não patogênicos (MOLINARI; BASER, 2010; SALGADO et al., 2007). Entretanto, apesar de decorrentes de fenômenos distintos, apresentam fenótipos semelhantes e dependem de um mesmo regulador transcricional, o NPR1 (CAARLS; PIETERSE; VAN WEES, 2015; HENRY; THONART; ONGENA, 2012).

Os eliciadores, como são referidos os indutores de resistência, atuam de forma similar aos padrões moleculares associados a danos, (DAMPs), moléculas produzidas a partir do dano celular durante o processo de patogênese (ZIPFEL, 2014), ou como padrões moleculares associados à microrganismos e patógenos (MAMPs e PAMPs, respectivamente) (HENRY; THONART; ONGENA, 2012). Estes autores propõem que o estudo contínuo da ação dos patógenos sobre as plantas, favorece o conhecimento de novos padrões, e que estes podem vir a ser ferramentas no manejo de doenças, podendo ser produzidos e purificados, para uso na indução de resistência. Outro fator salientado pelos referidos autores e que deve ser avaliado dentro do contexto da indução são os receptores de reconhecimento de padrões (RRPs) presentes na membrana plasmática, capazes de reconhecer os padrões moleculares, pois o reconhecimento de ampla gama de padrões favorece a resistência ampla a doenças, e tal processo tem sido observado através da expressão de heterólogos ou super expressão de receptores, podendo este ser outro caminho a cursar.

Dentre os RRP's presentes na membrana, destacam-se quinases e proteínas receptoras, internamente a células também são observados receptores, proteínas ricas em leucina, capazes de perceber a presença de efetores liberados pelo patógeno durante a patogênese, visando reprogramação fisiológica do hospedeiro e compatibilidade para ocorrência do processo de patogênese, entretanto, em alguns casos, esses efetores são reconhecidos e inicia-se a batalha entre mecanismos de defesa do hospedeiro e de ataque do patógeno (ZIPFEL, 2014).

Após reconhecimento de MAMPs ou DAMPs ocorre ativação de canais e bombas de íons de cálcio (Ca^{2+}). Esta ativação leva ao fluxo do íon através das membranas da célula, atuando como sinalizador secundário, reconhecido por outros receptores, como a calmodulina, responsável pelo reconhecimento da sinalização de Ca^{2+} no núcleo, culminando na produção de EROs, indução da expressão de genes, produção e acúmulo de ET, JA e AS (YUAN et al., 2017).

De modo similar, a percepção dos eliciadores pela membrana plasmática ativa um estado de alerta ou *priming*, através da sinalização mediada por íons, produção e acúmulo de aminoácidos, açúcares, espécies reativas de oxigênio (EROs), ácidos tricarbóxicos, fitoalexinas, compostos fenólicos, bem como pela ativação de genes relacionados a resistência, produção de hormônios e proteínas relacionadas à patogênese (Proteínas-PR) (MAUCH-MANI et al., 2017). Como resultado, a percepção do patógeno ocorre de forma mais eficiente após o *priming*, pois diversos mecanismos de resistência da planta são ativados. Entretanto, a ativação de tais mecanismos pode representar para planta induzida, em função da alteração metabólica e realocação de energia, determinado custo, reduzido ou elevado, dependendo da espécie em questão (MOLINARI, 2016).

Para caracterização da indução, diferenciando-a de outros métodos biológicos de controle, são propostos três critérios: o primeiro requer a aplicação do indutor previamente ao contato da planta com o patógeno, para possibilitar a ativação dos mecanismos de resistência; o segundo propõe a eliminação do efeito tóxico direto do indutor sobre o patógeno, realizando o teste de controle através do método de raiz bipartida, onde uma porção é induzida e outra é desafiada; e por fim, o terceiro e último é a observação de respostas de diferentes hospedeiros; contudo, a indução pode ser confirmada pela mensuração da produção de fitoalexinas e enzimas, entre outros compostos induzidos (DIAS-ARIEIRA et al., 2013).

Apesar de ser colocado que indução de resistência demanda um período entre a aplicação do indutor e a ativação dos mecanismos de defesa, nem sempre é possível a aplicação do indutor previamente ao contato da planta com o patógeno. A exemplo de tal evento, pode-se colocar as nematoses, cujos parasitos encontram-se presentes em solos infestados, e onde a

semeadura direta faz com que logo após a emissão da radícula, já haja a possibilidade de contato entre planta e parasito, não sendo possível indução prévia, a não ser no caso de culturas que possibilitem a produção de mudas em substrato estéril. No entanto, diversos trabalhos demonstram a eficiência do referido método de controle de nematoides tanto em culturas perenes (OLIVEIRA et al., 2012; SILVA et al., 2015), como anuais (DIAS-ARIERIA et al., 2012; PUERARI et al., 2013) visando controle de nematoides.

A indução de resistência pode reduzir ou alongar o ciclo de vida dos nematoides, ter ação direta sobre eclosão e capacidade de localização das raízes, bem como sobre penetração no sistema radicular, pode afetar indução e manutenção do sítio de alimentação, o qual se torna incapaz de suprir a necessidade nutricional do parasita ou pode apresentar inibidores que afetem o desenvolvimento, e, por consequência, a reprodução do nematoide (GUIMARÃES et al., 2010; OKA; COHEN, 2001; PUERARI et al., 2015).

Se destacam dentre os indutores estudados no controle de nematoides: o acibenzolar-S-metil (ASM) (BRITO et al., 2016; CARDOSO et al., 2017; CHINNASRI; SIPES; SCHMITT, 2003; HERNANDES et al., 2017; LOPES et al., 2017; PUERARI et al., 2013, 2015; SALGADO et al., 2007), o metil jasmonato (GUIMARÃES et al., 2008, 2010; SCHOUTEDEN et al., 2017), os ácidos salicílico e metil salicílico (MOLINARI; BASER, 2010), os fosfitos (DIAS-ARIERIA et al., 2012; OKA; TKACHI; MOR, 2007; PUERARI et al., 2015; SALGADO et al., 2007) e silicatos (GUIMARÃES et al., 2008; MELO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2012; SILVA et al., 2015, 2010).

2.3 SILÍCIO E SUA ABSORÇÃO PELA PLANTA

O silício está entre os elementos observados em maior quantidade no ambiente, ficando atrás apenas do oxigênio (O), estando presente no solo sob forma de ácido monossilícico $[\text{Si}(\text{OH})_4]$, liberado a partir de rochas durante o intemperismo (RAVEN, 1983). Assim sendo, solos mais novos tendem a apresentar teores mais altos de Si, em relação aqueles que já sofreram maior processo de intemperismo. Segundo o mesmo autor, a disponibilidade de tal componente do solo varia de solo para solo e com a faixa de pH, sendo observada a presença de ácido monossilícico livre em pH abaixo de 4, e conforme aumento deste até 10, e maior quantidade de óxidos de ferro (Fe) e alumínio (Al) no solo, há incremento do teor de sais de silicato presentes, enquanto em água, observa-se aumento da solubilidade do silício, pela formação dos ânions $\text{Si}(\text{OH})_3\text{O}^-$ e $\text{Si}(\text{OH})_2\text{O}_2^{2-}$, conforme mais elevado o pH.

Transportadores de silício que auxiliam em sua absorção e são relatados em diferentes espécies, como arroz, cevada, milho e soja (DESHMUKH; VIVANCOS, 2013; JIAN et al., 2006; MITANI; CHIBA; YAMAJI, 2009), havendo modelos distintos de absorção conforme a espécie em questão. De modo geral, a absorção a partir do solo pelas raízes se dá por meio do ácido silícico, via transportadores de influxo (Lsi1) nas células epidérmicas e a partir destas tal componente se move na via simplástica até a endoderme, onde transportadores de efluxo (Lsi2) descarregam o nutriente para os vasos do xilema, que o transloca junto a corrente transpiratória para a parte aérea, onde é descarregado para o simplasto do parênquima por transportadores de influxo (Lsi6) (PONTIGO et al., 2015).

A aplicação em parte aérea e sistema radicular, na cultura do trigo, resultou em absorção de silício superior para aplicação ao solo (GUÉVEL; MENZIES; BÉLANGER, 2007). No referido ensaio, o controle de oídio (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici*) efetuado pela aplicação ao sistema radicular foi atribuído a polimerização do silício em parte aérea, enquanto para a aplicação em parte aérea o controle foi atribuído ao efeito salino deletério direto ao patógeno.

Para absorção dos nutrientes aplicados por pulverização sobre o dossel foliar é necessário que a solução atravesse a cutícula. Tal processo pode ocorrer por imperfeições, entre as placas de cutícula, cimentadas entre si por pectina, ou ainda pela passagem do nutriente através da mesma, que atua como uma membrana de troca catiônica semilipídica (WITTWER; TEUBNER, 1959). A pectina é altamente hidrofílica, assim, facilmente absorve água e forma um caminho contínuo da porção externa da folha até os tecidos internos, permitindo absorção de compostos pulverizados sobre as folhas (BOYNTON, 1954). Desse modo, a presença de umidade no ambiente favorece melhor absorção foliar de nutrientes.

Além da umidade, absorção foliar de nutrientes pode ser afetada por fatores como temperatura, pH, concentração do nutriente na solução e solubilidade do mesmo. Absorção crescente de compostos pelas folhas e frutos é o que ocorre conforme aumento de temperatura (BAUR; HANNOVER, 1995), sendo notado que substâncias ácidas apresentam redução da eficiência de absorção conforme o pH se eleva, observando-se o inverso para substâncias básicas (WITTWER; TEUBNER, 1959). Em arroz, silicato de potássio pulverizado sob pH 5,5 ou 10,5 não apresentou diferença de absorção ou acúmulo (BUCK et al., 2008). Segundo estes, potássio (K), fósforo (P) e cálcio (Ca), apresentam melhor absorção em pH ácido, enquanto boro (B) e zinco (Zn) são melhor absorvidos em pH entre 7,0 e 8,0, sendo considerada a faixa aquela entre 4,0 e 8,0.

A concentração do nutriente e solubilidade podem afetar a absorção, pois conforme aumento da concentração na solução, passível de ocorrer em decorrência da evaporação do

diluyente, leva ao ponto de saturação, podendo haver cristalização de sais sobre a planta. Portanto, esse processo pode ser evitado pela manutenção da umidade relativa elevada. Portanto, a umidade elevada favorece melhor absorção de nutrientes aplicados a parte aérea das plantas (MENGEL, 2002).

A aplicação de silício foliar visando o controle de patógenos de solo como nematoides apresenta resultados positivos (EL-SHER; GAD; SAADOON, 2016; MATTEI et al., 2017). Tal resultado pode ser decorrente da presença do silício em parte aérea. Nela, o Si é observado tanto no apoplasto como no simplasto, onde se encontra em maior proporção, sendo passível de retranslocação via floema, processo não esclarecido, mas cuja mobilidade aparentemente é baixa (RAVEN, 1983). Entretanto, acredita-se que a ação do silício não seja decorrente apenas de sua polimerização como sílica amorfa nas paredes das células do sistema radicular, e efeito direto sobre controle da penetração de patógenos, mas devido ao processo de indução mediado pelo mesmo (ZHAN et al., 2018).

2.4 O USO DA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA MEDIADA PELO SILÍCIO NO CONTROLE DO NEMATOIDE DAS GALHAS

A aplicação de silicatos como indutores de resistência no manejo nematoides vem sendo bastante estudada. Contudo, a interação planta-silício pode ser influenciada pelo modo de absorção da planta, que influirá sua capacidade de acúmulo (TUBANA; BABU; DATNOFF, 2016), que pode ser superior a 4% de Si, em culturas acumuladoras, e inferior a 2% para aquelas não acumuladoras, existindo ainda aquelas capazes de acumular apenas níveis intermediários (VASANTHI; SALEENA; ANTHONI RAJ, 2014). A soja acumula teores em torno de 1,5% (MITANI; MA, 2005), de modo a ser classificada como não acumuladora. É sabido que culturas acumuladoras tendem ao acúmulo de silício em parte aérea, verso que as não acumuladoras alocam tal nutriente nas raízes (LIANG et al., 2015). Além disso, teores e solubilidade dos nutrientes, a dose e épocas de aplicação são outros fatores determinantes (BRITO et al., 2016; KEEPING, 2017).

O processo de indução mediado pelo Si e a ativação dos mecanismos de resistência nas plantas ainda não está totalmente elucidado (DIAS-ARIEIRA et al., 2013). Não obstante, a eficiência do uso de silício no controle de nematoide das galhas foi demonstrada através de vários estudos, englobando distintos patossistemas e fontes. Dentre estes destacam-se: o silicato de cálcio, para o controle de *M. incognita* em tomateiro e pepineiro, *M. javanica* em pepineiros

(FREIRE, 2007) e *M. exigua* em café (SILVA et al., 2015), silicato de cálcio e magnésio para o controle de *M. javanica* em bananeira (OLIVEIRA et al., 2012), e o silicato de potássio efetivo contra *M. incognita* em cana-de-açúcar, alface e pepino (FREIRE, 2007; GUIMARÃES et al., 2008, 2010), *M. javanica* em arroz, feijão e soja (MATTEI et al., 2017) e *M. paranaensis* em café (ROLDI et al., 2017). Outras fontes de Si demonstraram eficiência para controle de *M. incognita* em tomate (MELO et al., 2012), *M. javanica* em arroz, feijão, e soja (MATTEI et al., 2017) e *M. graminicola* em arroz (ZHAN et al., 2018).

Dentre as funções do Si sobre as plantas é sabido que atua como promotor de maior eficiência de uso da água e da luz, favorece rigidez do tecido pela polimerização de dióxido de silício no apoplasto junto as paredes celulares sob forma de sílica amorfa (fitólitos), pode se complexar a hemicelulose e ainda influir na produção e acúmulo de lignina nas paredes celulares, a produção de moléculas relacionadas à defesa da planta também é conhecida, por influir a produção e acúmulo de compostos fenólicos e incremento da atividade de enzimas, como catalase (CAT), peroxidases (POX), polifenoloxidasas (PPO), fenilalanina amônia-liase (PAL), superóxido dismutase (SOD), chalcone sintase (CHS), quitinases (CHI), β -1,3-glucanases (GLU) e proteínas relacionadas a patogênese PR1 (DEBONA; RODRIGUES; DATNOFF, 2017; LIANG et al., 2015).

Os resultados positivos na mitigação de estresse abiótico em função da aplicação do Si na agricultura são atribuídos, entre outros fatores, ao aumento da eficiência de uso da água (DEBONA; RODRIGUES; DATNOFF, 2017). É possível que em plantas parasitadas por nematoides o Si possa minimizar o efeito negativo do parasitismo. No caso dos nematoides das galhas (*Meloidogyne*), por exemplo, capazes de ocasionar murchas (MUNAWAR et al., 2015), é possível que o silício tenha capacidade de amenizar tais efeitos favorecendo melhor desenvolvimento das plantas.

Analogamente, a redução de estresse abiótico também pode ser decorrente da melhora no processo fotossintético, mediante a aplicação de Si em plantas sob estresse, onde se observa redução da ação negativa do estresse oxidativo sobre o ciclo de Calvin e cadeia transportadora de elétrons. Incremento na expressão dos genes Os03g57120 e Os09g26810, envolvidos no complexo de coleta de luz, e Os08g02630 que codifica uma poliproteína vital ao fotossistema II, além de PsaH, PetC e PetH, que codificam subunidades do fotossistema I, o polipeptídeo de ligação ao citocromo bf, e a enzima da síntese do NADPH na cadeia de transporte de elétrons (ferredoxina NADP⁺ redutase), respectivamente, otimizam o funcionamento do aparato fotossintético sob condição estressante, sendo favorecidos pela aplicação de Si (MANIVANNAN; AHN, 2017).

O uso de silicatos visando mitigar o efeito de estresse decorrente da ação de nematoides pode ser também decorrente da melhora na estruturação dos tecidos, visto a ação do Si na melhoria da estruturação e enrijecimento das paredes celulares. Em cafeeiro desafiado por *M. paranaensis* o silicato de potássio favoreceu melhora na organização celular (ROLDI, 2015), e em milho sob estresse abiótico, o Si também favoreceu o desenvolvimento e a formação das estrias de Caspary e tecidos vasculares (VACULÍK et al., 2012).

Outros relatos revelam que plantas de arroz conduzidas sob deficiência de Si apresentam níveis de celulose e lignina superiores, possivelmente para compensar a falta do nutriente na estruturação dos tecidos, sendo notado ainda que quando presente o Si interfere na expressão de genes que regulam lignificação e suberização (MEHARG; MEHARG, 2015). Portanto, possivelmente a redução dos estresses bióticos e abióticos pelas plantas pode ser decorrente de melhora na estruturação dos tecidos durante formação e desenvolvimento, em função da disponibilidade do referido nutriente.

Apesar do acúmulo do silício nas raízes e melhora da estruturação dos tecidos, sabe-se que os nematoides das galhas penetram as raízes na região de alongamento - porção não lignificada - e migram até a região central da raiz e daí para a região de diferenciação, movendo-se intercelularmente, mas contornando a camada lignificada representada pela estria de Caspary (WILLIAMSON; HUSSEY, 1996). Além disso, é colocado que, mesmo que houvesse incremento nos teores de Si, promovendo enrijecimento das paredes celulares, como penetram e se movimentam utilizando-se da força física de seu estilete somada à atividade de enzimas, possivelmente estas seriam suficientes para invasão das raízes (ROLDI, 2015).

Contudo, tal opinião sofre divergência entre pesquisadores, sendo colocado que maior lignificação na estria de Caspary possivelmente influa sobre o fluxo de água e nutrientes, afetando o suprimento dos sítios de alimentação dos nematoides sedentários (BAXTER et al., 2009). Em arroz inoculado com *M. graminicola* a aplicação de Si a 0,04% promoveu aumento na área de deposição de calose nas galhas, acúmulo de peróxido de hidrogênio, produção de lignina e compostos fenólicos, e reduziu a formação de galhas e desenvolvimento de fêmeas, entretanto, não foi observada redução no número de células componentes do sítio de alimentação (ZHAN et al., 2018). Assim, é questionado se o enrijecimento de tecidos próximos ao sítio de alimentação não pode ter afetado o suprimento de água e nutrientes para estes, reduzindo, por consequência, o desenvolvimento de tais parasitos, como observado em soja pulverizada com silicato de potássio à 0,5% e desafiada por *M. javanica* (MATTEI et al., 2017).

Conforme mencionado previamente, a indução de resistência nas plantas através da aplicação do Si não tem seus mecanismos totalmente elucidados. No entanto, a aplicação de Si

visando indução contra o nematoide das galhas (*Meloidogyne*) pode ser mediada pelo ET, sendo nesse caso um processo de RSI. Estudo desenvolvido no patossistema arroz - *M. graminicola* induzido com Si, revelou a expressão superior de genes envolvidos na biossíntese, sinalização e resposta ao ET (OsACS1, OsEIN2 e OsERF1, respectivamente) (ZHAN et al., 2018).

O ET está entre os hormônios que modulam a formação dos vasos condutores. O incremento desse hormônio, acompanhado da redução dos níveis de citocininas e auxinas, leva ao colapso celular e formação do tecido morto que passará a constituir os vasos do xilema (SORCE et al., 2013). Logo, é possível que a indução mediada pela aplicação de Si ative a RSI, sinalizada pelo ET, e este possa influenciar e modular o desenvolvimento dos vasos condutores. Em cafeeiros tratados com Si foi observada influência do nutriente na organização celular e sobre a estruturação do xilema, bem como redução da população final de *M. paranaensis* e *M. exigua* (ROLDI, 2015; ROLDI et al., 2017; SILVA et al., 2010), salientando a possibilidade da melhoria da estruturação dos tecidos favorecer o controle do nematoide das galhas.

Os fatores estruturais relacionados a resistência mediada pelo Si são decorrentes não apenas da ação direta, mas também da ativação de fatores bioquímicos mediante a aplicação do Si. Teores de lignina superiores em arroz induzido com Si foram atribuídos a super expressão de genes de defesa relacionados a via de biossíntese dos fenilpropanóides, o que foi confirmado após aplicação de inibidor de tal rota, que culminou na redução da defesa mediada pelo Si e maior infecção pelo *M. graminicola* (ZHAN et al., 2018).

No controle de *M. paranaensis* em café, observou-se aumento nos teores de micronutrientes como ferro (Fe) e cobre (Cu), cofatores que atuam sobre a síntese de enzimas de defesa vegetal, quando realizada aplicação de silicato de potássio (ROLDI et al., 2017). Em estudo similar, café mediante aplicação de silicato de cálcio ao solo, sob dose de 1,25 g Kg⁻¹, apresentou redução da penetração e reprodução de *Meloidogyne exigua*, o que estaria relacionado ao teor de silício aumentado nas raízes em mais de 100%, assim como incremento na atividade de fenilalanina amônia-liase, peroxidase e polifenoloxidase, em cerca de 30%, 50% e 25%, respectivamente (SILVA et al., 2010).

Fenilalanina amônia-liase, peroxidase e polifenoloxidase são enzimas envolvidas na rota de síntese da lignina a partir de compostos fenólicos, na via dos fenilpropanóides (GOMES et al., 2005; RAHMAN; WALLIS; UDDIN, 2015). A infecção de plantas por nematoides ativa genes específicos e síntese das mesmas enzimas, que podem ser prejudiciais aos nematoides fitoparasitas (SANKAR et al., 2017). Estes recursos bioquímicos de defesa, no caso da utilização de indutores, podem ser induzidos previamente ao contato dos nematoides com as plantas, fator benéfico ao controle.

A indução de resistência por eliciadores pode ocasionar realocação da energia metabólica e recursos (HEIL; BALDWIN, 2002), resultando em perdas de produtividade. Contudo, é colocado que o Si oferece a vantagem de induzir a defesa de plantas tratadas apenas como resposta ao ataque do patógeno (CHÉRIF; ASSELIN; BÉLANGER, 1994), não apresentando efeito ativador em ambiente favorável, apenas sob estresses biótico ou abiótico (KURABACHEW; WYDRA, 2014).

Controversamente, restrição ao crescimento radicular foi observada em cafeeiros tratados com silicato de cálcio em condição hídrica e nutricional favoráveis (RIBEIRO et al., 2011), e em cafeeiro tratado com silicato de potássio em condição de estresse biótico conferido por *M. paranaensis* (ROLDI et al., 2017), o que foi relacionado à provável indução. Possivelmente tal efeito esteja relacionado a dose aplicada, visto que baixas doses de indutores geralmente colocam a planta em estado de alerta (*priming*), pela ativação de um grupo de genes, enquanto doses maiores ativam diretamente outro grupo de genes relacionados a resistência (CONRATH, 2006).

Em cana-de-açúcar, cultivar RB863129, induzida por silicato de potássio, notou-se aumento da atividade de β -1,3-glucanase 14 e 21 dias após a inoculação, com atividade superior para maiores doses, concomitantemente a redução do número de *M. incognita* por grama de raiz (GUIMARÃES et al., 2010). A aplicação de silicato de potássio em duas cultivares de cana-de-açúcar, RB867515 e RB863129, favoreceu redução do número de ovos de *M. incognita*, mas a biomassa de parte aérea não foi afetada (GUIMARÃES et al., 2008).

O silício apresenta potencial de melhorar a sinalização secundária mediada pelo cálcio. O acúmulo de nucleoporinas, importantes para sinalização hormonal relacionadas a resposta de resistência a doenças na célula, e incremento de proteínas ligantes de cálcio e transportadores uniporte de cálcio mitocondrial, foram observados anteriormente (MANIVANNAN et al., 2016). Desse modo, a aplicação de cálcio promoveria aumento na quantidade de proteínas transportadoras de cálcio, potencializando a sinalização mediada por tal nutriente.

A aplicação do Si poderia reduzir o efeito de supressão de sinalização mediado pelos íons de cálcio exercido pelos nematoides do gênero *Meloidogyne*, conforme previamente abordado. Incremento na sinalização potencializaria a reação de resistência da planta e o controle dos nematoides. Como resultado, pode haver reconhecimento do nematodo e ocorrência de reação de hipersensibilidade (RH). A menor penetração e reprodução no patossistema *M. exigua* - café tratado com Si foi atribuída ao potencial de incremento da resistência basal (SILVA et al., 2015). Na literatura consultada, não há relato de observação de RH em plantas com indução mediada pelo silício e desafiadas por nematoides. Contudo, RH e

morte celular, bem como o acúmulo de silício insolúvel, foram observadas em cevada com genes de resistência contra *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* e desafiadas pelo mesmo (KOGA et al., 1988).

Por fim, além do efeito indireto do silício para o controle dos nematoides, decorrente da indução, a atividade direta de produtos à base de silício também foi investigada em alguns estudos. Nanopartículas de carboneto de silício (SiC) não influíram sobre a eclosão ou mortalidade de juvenis de segundo estágio de *M. incognita*, entretanto, os juvenis de primeiro estágio de *Caenorhabditis elegans* tiveram sobrevivência afetada pela exposição ao SiC, sendo observado escurecimento do intestino, sendo cogitada possível ingestão de partículas (AL-BANNA et al., 2018). O desenvolvimento embrionário e eclosão de *M. javanica* foram afetados pelo uso de silicato de potássio e Rocksil[®] que inibiram tais processos, enquanto a volastonita apresentou efeito promotor da eclosão, tão maior quanto a dose aos quais os ovos foram submetidos (MATTEI; ARIEIRA, 2015).

2.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os nematoides das galhas apresentam especialização ao parasitismo, decorrente da indução do sítio de alimentação e da capacidade de suprimir mecanismos de defesa da planta. Logo, a indução de resistência pode atuar de forma contrária a ação do nematoide *Meloidogyne*, promovendo incremento da resistência. O silício gera incremento da sinalização mediada pelos íons de cálcio no tecido, mecanismos sobre o qual os nematoides da galha atuam na planta, prejudicando o reconhecimento deles mesmos, bem como de outros patógenos, incrementando a expressão de genes mediado pela produção e acúmulo de etileno. Enzimas que atuam desde a fotossíntese até a resistência vegetal apresentam incremento de atividade. As melhorias físicas no tecido decorrem da atividade superior de enzimas relacionadas a produção da lignina, havendo possibilidade de a produção de etileno influir sobre o desenvolvimento dos vasos condutores. Portanto, a soma dos fatores bioquímicos e físicos sobre os quais o silício atua, resulta em melhoria do desenvolvimento vegetal e redução dos danos decorrentes da ação de *Meloidogyne* sobre a planta, sendo uma ótima opção para o controle do nematoide das galhas.

2.6 REFERÊNCIAS

- ADAPAR. **Agrotóxicos no Paraná: faça sua pesquisa**. 2018. Disponível em: <<http://celepar07web.pr.gov.br/agrotoxicos/pesquisar.asp>>. Acesso em: 10 out. 2018.
- ADEGBITE, A. A.; ADESIYAN, S. O. Root extracts of plants to control root-knot nematode on edible soybean. **Journal of Vegetable Science**, v. 12, n. 2, p. 5–12, 2006.
- AL-BANNA, L. et al. Impact of silicon carbide nanoparticles on hatching and survival of soil nematodes *Caenorhabditis elegans* and *Meloidogyne incognita*. **Applied Ecology and Environmental Research**, v. 16, n. 3, p. 2651–2662, 2018.
- ALTIERI, M. A.; NICHOLLS, C. I. Soil fertility management and insect pests: harmonizing soil and plant health in agroecosystems. **Soil and Tillage Research**, v. 72, n. 2, p. 203–211, 2003.
- BAUR, P.; HANNOVER, U. Temperature dependence of the diffusion of organic compounds across plant cuticles. **Chemosphere**, v. 30, n. 7, p. 1331–1340, 1995.
- BAXTER, I. et al. Root suberin forms an extracellular barrier that affects water relations and mineral nutrition in *Arabidopsis*. **PLOS Genetics**, v. 5, n. 5, p. 1–12, 2009.
- BOHLMANN, H.; SOBCZAK, M. The plant cell wall in the feeding sites of cyst nematodes. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. March, p. 1–11, 2014.
- BOYNTON, D. Nutrition by foliar application. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 5, p. 31–54, 1954.
- BRITO, O. D. C. et al. Métodos de aplicação e concentrações de acibenzolar-S-metil no manejo de *Meloidogyne javanica* em soja. **Nematropica**, v. 46, n. 1, p. 106–113, 2016.
- BUCK, G. B. et al. Potassium silicate as foliar spray and rice blast control potassium silicate as foliar spray and rice. **Journal of Plant Nutrition**, v. 31, n. 2, p. 37–41, 2008.
- CAARLS, L.; PIETERSE, C. M. J.; VAN WEES, S. C. M. How salicylic acid takes transcriptional control over jasmonic acid signaling. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. March, p. 1–11, 2015.
- CARDOSO, M. R. et al. Acibenzolar-S-methyl doses and application methods to *Pratylenchus brachyurus* control in maize. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science**, v. 67, n. 1, p. 23–27, 2017.
- CHÉRIF, M.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R. R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. **Phytopathology**, v. 84, p. 236–242, 1994.
- CHINNASRI, B.; SIPES, B. S.; SCHMITT, D. P. Effects of acibenzolar-S-methyl application to *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 35, n. 1, p. 110–114, 2003.

- CONRATH, U. Systemic acquired resistance. **Plant Signaling & Behavior**, v. 1, n. 4, p. 179–184, 2006.
- DE-LA-PENA, C.; LOYOLA-VARGAS, V. M. Biotic interactions in the rhizosphere: a diverse cooperative enterprise for plant productivity. **Plant Physiology**, v. 166, n. 2, p. 701–719, 2014.
- DEBONA, D.; RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. Silicon's role in abiotic and biotic plant stresses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 55, n. 1, p. 85–107, 2017.
- DESHMUKH, R. K.; VIVANCOS, J. Identification and functional characterization of silicon transporters in soybean using comparative genomics of major intrinsic proteins in *Arabidopsis* and rice. **Plant Molecular Biology**, v. 83, p. 303–315, 2013.
- DIAS-ARIEIRA, C. R. et al. Induced resistance in the nematodes control. **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 20, p. 2312–2318, 2013.
- DIAS-ARIEIRA, C. R. et al. Effect of *Azospirillum brasilense*, Stimulate[®] and potassium phosphite to control *Pratylenchus brachyurus* in soybean and maize. **Nematropica**, v. 42, p. 170–175, 2012.
- EL-SHER, A. G.; GAD, S. B.; SAADOON, S. M. Impact of potassium silicate application on *Meloidogyne incognita* infecting cucumber plant under greenhouse conditions. **Asian Journal of Nematology**, v. 5, n. 1, p. 1–7, 2016.
- EMBRAPA. Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2014. In: **Sistemas de Produção**. v. 16; 265 p. 2013.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The future of food and agriculture – Trends and challenges**. FAO: Rome, 2017. 180 p.
- FARQUHAR, G. D.; SHARKEY, T. D. Stomatal conductance and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 33, n. 1, p. 317–345, 1982.
- FLEMING, T. R. et al. Prevalence and diversity of plant parasitic nematodes in Northern Ireland grassland and cereals, and the influence of soils and rainfall. **Plant Pathology**, v. 65, n. 9, p. 1539–1550, 2016.
- FREIRE, E. S. **Controle dos nematóides de galhas (*Meloidogyne* spp.) e do cisto (*Heterodera glycines*) com silicatos**. 2007. 90 p. (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- GAO, H. et al. *Bacillus cereus* strain S2 shows high nematicidal activity against *Meloidogyne incognita* by producing sphingosine. **Scientific Reports**, v. 6, n. June, p. 1–11, 2016.
- GOMES, F. B. et al. Resistance induction in wheat plants by silicon and aphids. **Scientia Agricola**, v. 62, n. 6, p. 547–551, 2005.
- GONZAGA, V. et al. Detecção de *Pasteuria thornei* em *Pratylenchus brachyurus* e *P. zaeae*. **Nematologia Brasileira**, v. 33, n. 1, p. 103–105, 2009.
- GOVERSE, A.; SMANT, G. The activation and suppression of plant innate immunity by parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 52, p. 1–23, 2014.

GUÉVEL, M.; MENZIES, J. G.; BÉLANGER, R. R. Effect of root and foliar applications of soluble silicon on powdery mildew control and growth of wheat plants. **European Journal of Plant Pathology**, v. 119, p. 429–436, 2007.

GUIMARÃES, L. M. P. et al. Efeito de metil jasmonato e silicato de potássio no parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zeae* em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 50–55, 2008.

GUIMARÃES, L. M. P. et al. Eficiência e atividade enzimática elicitada por metil jasmonato e silicato de potássio em cana-de-açúcar parasitada por *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 1, p. 11–15, 2010.

HEIL, M.; BALDWIN, I. T. Fitness costs of induced resistance: emerging experimental support for a slippery concept. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 2, p. 61–67, 2002.

HENRY, G.; THONART, P.; ONGENA, M. PAMPs, MAMPs, DAMPs and others: an update on the diversity of plant immunity elicitors. **Biotechnology, Agronomy, Society and Environment**, v. 16, n. 2, p. 12, 2012.

HERNANDES, I. et al. Acibenzolar-S-methyl on *Meloidogyne javanica* control in lettuce. **Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science**, v. 67, n. 7, p. 660–664, 2017.

HOLBEIN, J.; GRUNDLER, F. M. W.; SIDDIQUE, S. Plant basal resistance to nematodes: an update. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 7, p. 2049–2061, 2016.

HUSSAIN, M. A.; MUKHTAR, T.; KAYANI, M. Z. Reproduction of *Meloidogyne incognita* on resistant and susceptible okra cultivars. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 53, n. 2, p. 371–375, 2016.

JARDIM, I. C. S. F.; DE ALMEIDA ANDRADE, J.; DE QUEIROZ, S. C. D. N. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global - um enfoque às maçãs. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 996–1012, 2009.

JIAN, F. M. et al. A silicon transporter in rice. **Nature**, v. 440, n. 7084, p. 688–691, 2006.

KEEPING, M. G. Uptake of silicon by sugarcane from applied sources may not reflect plant-available soil silicon and total silicon content of sources. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. May, p. 1–14, 2017.

KENNEDY, M. W.; HARNETT, W. (EDS.). **Parasitic Nematodes: molecular biology, biochemistry and immunology**. London: CABI International, 2001.

KOGA, H. et al. Hypersensitive cell death, autofluorescence, and insoluble silicon accumulation in barley leaf epidermal cells under attack by *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 32, n. 3, p. 395–409, 1988.

KURABACHEW, H.; WYDRA, K. Induction of systemic resistance and defense-related enzymes after elicitation of resistance by rhizobacteria and silicon application against *Ralstonia solanacearum* in tomato (*Solanum lycopersicum*). **Crop Protection**, v. 57, p. 1–7, 2014.

LIANG, Y. et al. **Silicon in Agriculture**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2015. 235 p.

LIU, Q. L.; THOMAS, V. P.; WILLIAMSON, V. M. Meiotic parthenogenesis in a root-knot nematode results in rapid genomic homozygosity. **Genetics**, v. 176, n. July, p. 1483–1490, 2007.

LOPES, A. P. M. et al. Manejo de *Pratylenchus brachyurus* em soja usando tratamento de sementes e indutor de resistência. **Nematropica**, v. 47, p. 1–7, 2017.

LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (EDS.). **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. London: CABI Publishing, 2005.

MACHADO, A. C. Z. et al. Host reaction of common bean genotypes to root-knot nematodes. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, n. 60, p. 105–106, 2017.

MANIVANNAN, A. et al. Silicon mitigates salinity stress by regulating the physiology, antioxidant enzyme activities, and protein expression in *Capsicum annuum* ‘Bugwang’. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 1–14, 2016.

MANIVANNAN, A.; AHN, Y. Silicon regulates potential genes involved in major physiological processes in plants to combat stress. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. August, p. 1–13, 2017.

MANTELIN, S.; THORPE, P.; JONES, J. T. Suppression of plant defences by plant-parasitic nematodes. **Advances in Botanical Research**, v. 73, p. 1–13, 2015.

MATTEI, D. et al. Influence of Rocksil[®], Silifort[®] and wollastonite on penetration and development of *Meloidogyne javanica* in poaceae and fabaceae. **Journal of Phytopathology**, v. 165, n. 2, p. 91–97, 2017.

MATTEI, D.; ARIEIRA, C. R. D. Different sources of silicon in the embryonic development and in the hatching of *Meloidogyne javanica*. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 52, p. 4814–4819, 2015.

MAUCH-MANI, B. et al. Defense priming: an adaptive part of induced resistance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 68, n. 1, p. 485–512, 2017.

MEHARG, C.; MEHARG, A. A. Silicon, the silver bullet for mitigating biotic and abiotic stress, and improving grain quality, in rice? **Environmental and Experimental Botany**, v. 120, p. 8–17, 2015.

MELO, T. A. de et al. Produtos naturais aplicados para manejo de *Meloidogyne incognita* em tomateiros. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 3, p. 223–227, 2012.

MENGEL, K. Alternative or complementary role of foliar supply in mineral nutrition. **Acta Horticulturae**, v. 594, p. 33–47, 2002.

MIORANZA, T. M. **Respostas fisiológicas e controle de *Meloidogyne incognita* em plantas de tomateiro tratadas com soluções ultradiluídas de *Thuya occidentalis***. 2015. 60p. (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2015.

MITANI, N.; MA, J. F. Uptake system of silicon in different plant species. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 414, p. 1255–1261, 2005.

MITANI, N.; CHIBA, Y.; YAMAJI, N. Identification and characterization of maize and barley Lsi2-like silicon efflux transporters reveals a distinct silicon uptake system from that in rice. **The Plant Cell**, v. 21, p. 2133–2142, 2009.

MOLINARI, S. Systemic acquired resistance activation in solanaceous crops as a management strategy against root-knot nematodes. **Pest Management Science**, v. 72, n. 5, p. 888–896, 2016.

MOLINARI, S.; BASER, N. Induction of resistance to root-knot nematodes by SAR elicitors in tomato. **Crop Protection**, v. 29, n. 11, p. 1354–1362, 2010.

MUNAWAR, M. et al. Bio-management of tomato wilt complex caused by *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Nematology**, v. 17, n. 4, p. 479–485, 2015.

OKA, Y.; COHEN, Y. Induced resistance to cyst and root-knot nematodes in cereals by DL- β -amino- n -butyric acid. **European Journal of Plant Pathology**, v. 2, p. 219–227, 2001.

OKA, Y.; TKACHI, N.; MOR, M. Phosphite inhibits development of the nematodes *Heterodera avenae* and *Meloidogyne marylandi* in cereals. **Phytopathology**, v. 97, p. 396–404, 2007.

OLIVEIRA, R. M. et al. Efeito do silicato de cálcio e magnésio sobre a reprodução de *Meloidogyne javanica* e desenvolvimento de mudas de bananeira Prata-Anã. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 2, p. 409–415, 2012.

PERRY, R. N.; MOENS, M. (EDS.). **Plant Nematology**. London: CABI, 2006. 447 p.

PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (EDS.). **Root-knot Nematodes**. CABI International, 2009. 488 p.

PONTIGO, S. et al. Silicon in vascular plants: uptake, transport and its influence on mineral stress under acidic conditions. **Planta**, v. 242, n. 1, p. 23–37, 2015.

PUERARI, H. H. et al. Evaluation of acibenzolar-S-methyl for the control of *Meloidogyne javanica* and effects on the development of susceptible and resistant soybean. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 1, p. 44–48, 2013.

PUERARI, H. H. et al. Resistance inducers in the control of root lesion nematodes in resistant and susceptible cultivars of maize. **Phytoparasitica**, v. 43, n. 3, p. 383–389, 2015.

RAHMAN, A.; WALLIS, C. M.; UDDIN, W. Silicon-induced systemic defense responses in perennial ryegrass against infection by *Magnaporthe oryzae*. **Phytopathology**, v. 105, n. 6, p. 748–757, 2015.

RAVEN, J. A. The transport and function of silicon in plants. **Biological Reviews**, v. 58, n. 2, p. 179–207, 1983.

RIBEIRO, R. V. et al. O alto teor de silício no solo inibe o crescimento radicular de cafeeiros sem afetar as trocas gasosas foliares. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 35, n. 1, p. 939–948, 2011.

ROLDI, M. **Controle de *Meloidogyne paranaensis* em cafeeiro mediado pela aplicação de silício**. 2015. 71p. (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Maringá, 2015.

ROLDI, M. et al. Control of *Meloidogyne paranaensis* in coffee plants mediated by silicon. **Nematology**, v. 19, n. 2, p. 245–250, 2017.

SALGADO, S. M. D. L. et al. Efeito de indutores de resistência sobre *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1007–1013, 2007.

SANKAR, C. et al. Induction of resistant to *Radopholus similis* and defence related mechanism in susceptible and resistance banana hybrids infected with *Radopholus similis*. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 4, p. 1668–1684, 2017.

SANTANA-GOMES, S. D. M. et al. Mineral nutrition in the control of nematodes. **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 21, p. 2413–2420, 2013.

SCHOUTEDEN, N. et al. Direct nematicidal effects of methyl jasmonate and acibenzolar-S-methyl against *Meloidogyne incognita*. **Natural Product Research**, v. 31, n. 10, p. 1219–1222, 2017.

SILVA, R. V. et al. Effects of silicon on the penetration and reproduction events of *Meloidogyne exigua* on coffee roots. **Bragantia**, v. 74, n. 2, p. 196–199, 2015.

SILVA, R. V. et al. Biochemical responses of coffee resistance against *Meloidogyne exigua* mediated by silicon. **Plant Pathology**, v. 59, n. 3, p. 586–593, 2010.

SORCE, C. et al. Hormonal signals involved in the regulation of cambial activity, xylogenesis and vessel patterning in trees. **Plant Cell Reports**, v. 32, n. 6, p. 885–898, 2013.

STANGARLIN, J. R. et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18–46, 2011.

STAPLETON, J. J. Soil solarization in various agricultural production systems. **Crop Protection**, v. 19, p. 837–841, 2000.

TUBANA, B. S.; BABU, T.; DATNOFF, L. E. A review of silicon in soils and plants and its role in us agriculture. **Soil Science**, v. 181, n. 9–10, p. 1, 2016.

VACULÍK, M. et al. Silicon modifies root anatomy, and uptake and subcellular distribution of cadmium in young maize plants. **Annals of Botany**, v. 110, n. 2, p. 433–443, 2012.

VASANTHI, N.; SALEENA, L. M.; ANTHONI RAJ, S. Silicon in crop production and crop protection -a review. **Agricultural Reviews**, v. 35, n. 1, p. 14–23, 2014.

VERMA, J. P. et al. Effect of indigenous *Mesorhizobium* spp. and plant growth promoting rhizobacteria on yields and nutrients uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under sustainable agriculture. **Ecological Engineering**, v. 51, p. 282–286, 2013.

WALLACE, H. R. The influence of root knot nematode *Meloidogyne javanica*, on photosynthesis and on nutrient demand by roots of tomato plants. **Nematologica**, v. 20, p. 27–33, 1974.

WILLIAMSON, V. M.; HUSSEY, R. S. Nematode pathogenesis and resistance in plants. **The Plant Cell**, 8, n. 10, p. 1735, 1996.

WITTWER, S. H.; TEUBNER, F. G. Foliar absorption of mineral nutrients. **Annual Review of Physiology**, v. 10, p. 13–30, 1959.

YUAN, P. et al. Calcium signatures and signaling events orchestrate plant–microbe interactions. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 38, p. 173–183, 2017.

ZHAN, L. et al. Priming effect of root-applied silicon on the enhancement of induced resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* in rice. **BioMed Central Plant Biology**, v. 18, n. 50, p. 1–12, 2018.

ZIPFEL, C. Plant pattern-recognition receptors. **Trends in Immunology**, v. 35, n. 7, p. 345–351, 2014.

3 CAPÍTULO 2: SILICATO DE POTÁSSIO PARA CONTROLE DE *Meloidogyne incognita* EM PLANTAS DE SOJA

Resumo: Os nematoides das galhas se destacam entre aqueles de maior importância para a agricultura mundial. Visando manejo ambientalmente correto, busca-se a redução da aplicação de nematicidas e recorre-se a técnicas de manejo integrado, envolvendo métodos de controle menos tóxicos, como a indução de resistência mediada pelo silício. Este mineral é considerado um indutor de amplo espectro, promovendo indução contra estresses biótico e abiótico. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de doses de silicato de potássio como indutor no patossistema soja – *Meloidogyne incognita*. Plantas de soja, cv. Syn. 1059, transplantadas para vasos contendo substrato estéril, foram induzidas após dois dias pela pulverização na parte aérea de silicato de potássio (Silifort[®]) à 0%, 0,25%, 0,5%, 1%, 2% e 4%. Cloreto de potássio à 0,04% de K₂O, ASM (Bion[®], 200 mg L⁻¹) e plantas não tratadas e não inoculadas foram utilizados como testemunhas. Dez dias após os tratamentos foi realizada a inoculação com 3 mil ovos e eventuais juvenis de *M. incognita*. Aos 60 dias foi realizada avaliação dos parâmetros vegetativos (massa fresca de raízes e massa seca de parte aérea) e nematológicos (número de massas de ovos, população final, fator de reprodução, nematoides por grama de raiz e ovos por massa). Os dados foram submetidos a análise de variância e quando significativa para diferença entre testemunhas e doses, as medias foram comparadas segundo teste de Dunnett (5% de probabilidade de erro). Análises de regressão linear, quadrática e cúbica foram realizadas para doses. ASM apresentou os valores mais baixos para população final e fator de reprodução de *M. incognita*, sendo 0,5% de silicato similar ao mesmo, ambos com valores abaixo de 50% daquele apresentado pela dose 0%. Regressão cúbica das doses de silicato de potássio para população final, fator de reprodução, nematoides por grama de raiz e ovos por massa, apontou menores valores para aplicação de dose em torno de 0,8% do silicato de potássio, confirmando seu potencial para o controle de *M. incognita* em soja.

Palavras-chave: Nematóide das galhas. Indução de resistência. Silício.

3.1 INTRODUÇÃO

A produção agrícola é foco de inúmeras discussões, onde se destaca o aumento de produção e a melhoria da qualidade dos produtos, através da produção agrícola sustentável (BRIAT; DUBOS; GAYMARD, 2015). Esta é influenciada por diversos fatores, inclusive pela interação de plantas com microrganismos benéficos e maléficos (DE-LA-PENA; LOYOLA-VARGAS, 2014), estes últimos, responsáveis por desencadear a ocorrência de doenças.

Atualmente, os investimentos na agricultura e em inovações tecnológicas tem sido insuficientes para manutenção do aumento da produtividade, o qual é desfavorecido pela degradação de recursos naturais e biodiversidade, bem como pela disseminação de pragas e doenças, sendo demandados métodos de produção inovadores e ambientalmente corretos, que tornem a agricultura mais resiliente as mudanças climáticas (FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, 2017).

Áreas agrícolas onde se pratica monocultura e aplicação excessiva de produtos fitossanitários tendem a apresentar redução da microfauna no solo, favorecendo incremento de população de fitonematoídeos, dentre os quais se destacam os gêneros *Heterodera*, *Pratylenchus* e *Meloidogyne*, que podem levar a redução de produtividade de até 90%, ocasionando perdas anuais em torno de US\$ 141 bilhões em todo o mundo (FLEMING et al., 2016). Em função disso, muito se fala a respeito de manejo de fitonematoídeos, onde se buscam produtos de baixa toxicidade ao ambiente e ao homem, como biológicos, adubos verdes e indutores de resistência, para serem adotados no manejo integrado, visto que medidas de controle isoladas geralmente não apresentam bons resultados (DIAS-ARIEIRA et al., 2013, 2015).

A indução de resistência utiliza produtos que atuam sobre a planta, apresentando reduzida pressão de seleção à patógenos resistentes, se comparada ao uso de nematicidas ou plantas resistentes (MOLINARI; BASER, 2010). Os indutores ou ativadores constituem uma classe de produtos químicos que ativam na planta mecanismos de resistência. Tal processo pode ocorrer através da resistência sistêmica adquirida (RSA) ou induzida (RSI), a primeira é induzida por agentes patogênicos necrotróficos e sinalizada pelo acúmulo de ácido salicílico, enquanto a segunda é induzida por agentes não patogênicos, como rizobactérias promotoras de crescimento, e mediada pelo acúmulo de ácido jasmônico e etileno, mas dependem de um mesmo regulador transcricional, NPR1 (CAARLS; PIETERSE; VAN WEES, 2015; HENRY; THONART; ONGENA, 2012).

A indução voltada ao controle de nematoides é algo recente, de modo que pouco se sabe a respeito da resposta de diferentes indutores e de como atuam nesse processo. Entretanto, sabe-se que no controle de *Meloidogyne* podem afetar a penetração de juvenis nas raízes, seu desenvolvimento, formação de galhas ou fecundidade de fêmeas (MATTEI et al., 2017; MOLINARI, 2016), podendo até mesmo apresentar atividade direta sobre desenvolvimento embrionário, eclosão e mortalidade (MATTEI; ARIEIRA, 2015; MOLINARI, 2016; SCHOUTEDEN et al., 2017). Além disso, é possível que seja uma alternativa no controle de populações que “quebraram” a resistência de cultivares, desde que hajam custos metabólicos reduzidos, o que interdepende de diversos fatores, sendo necessário estabelecer a confiabilidade da estratégia para cada patossistema (MOLINARI, 2016).

O silício (Si) é tido como promotor de resistência contra estresses abiótico e biótico, reduzindo ataque de pragas, incidência e severidade de doenças, fatos atribuídos ao aumento da eficiência de uso da água, maior rigidez do tecido pela polimerização de dióxido de silício nas paredes celulares e acúmulo de lignina, produção de moléculas relacionadas à defesa da planta, como flavonoides, antocianinas, lactonas e fenóis, que apresentam atividade antioxidante e antifúngica, e da atividade de enzimas, como catalase, peroxidases, polifenoloxidasas, fenilalanina amônia-liase e superóxido dismutase (DEBONA; RODRIGUES; DATNOFF, 2017).

A atividade do Si no controle de nematoides pode ser influenciada pela cultura estudada, que podem apresentar maior ou menor capacidade de acumular silício. Espécies acumuladoras apresentam tendência de maior acúmulo de silício em arte aérea, já as não acumuladoras tendem a maior acúmulo do nutriente nas raízes (LIANG et al., 2015), o que permite inferir que possivelmente estas últimas apresentem melhores resultados de controle de patógenos de solo mediado pela aplicação de silicatos.

Potencial do Si no controle de nematoides das galhas foi comprovado em alguns patossistemas como *Meloidogyne* spp. em pepino, alface e tomateiro (FREIRE, 2007; MELO et al., 2012), *M. exigua* Goeldi em café (SILVA et al., 2015), *M. incognita* (Kofoid e White) em cana-de-açúcar (GUIMARÃES et al., 2008, 2010) e tomateiro (MELO et al., 2012), *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood em bananeira (OLIVEIRA et al., 2012), soja, feijão e arroz (MATTEI et al., 2017) e *M. paranaensis* Carneiro et al. em café (ROLDI et al., 2017). Destas, apenas café e arroz se classificam como acumuladoras.

Contudo, diferentes culturas podem apresentar respostas distintas a aplicação de silício, bem como a fonte utilizada (MATTEI et al., 2017), pois podem apresentar teores do

nutriente e solubilidade diferentes (KEEPING, 2017), dose do indutor e épocas de aplicação, conforme observado para outros produtos como ASM (BRITO et al., 2016).

Assim, o presente estudo objetivou avaliar o efeito indutor de resistência da aplicação de doses de silicato de potássio em plantas de soja visando controle de *M. incognita*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido no Complexo de Controle Biológico e Cultivo Protegido Prof. Dr. Mário César Lopes, pertencente à Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE, *campus* de Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil, localizado a 24° 33' Sul e 54° 04' Oeste, a altitude média de 420 metros, sob casa de vegetação com temperatura e umidade relativa máxima de 31,5 °C e 94% e mínima de 19,5°C e 61%, respectivamente. Utilizou-se delineamento em blocos casualizados, com seis doses de silicato de potássio e três testemunhas adicionais [controle (plantas não tratadas e não inoculadas), acibenzolar-S-metil (ASM) e cloreto de potássio (KCl)], com cinco repetições. A condução do experimento foi realizada de 25 de outubro de 2016 à 22 de janeiro de 2017.

Plantas de soja cultivar Syn. 1059 foram produzidas em bandejas de poliestireno expansível de 128 células, preenchidas com substrato comercial Bioplant[®]. No estádio V1, com as folhas unifolioladas totalmente expandidas, foi realizado o transplante para vasos preenchidos com 2,0 L de substrato (solo:areia, 2:1, v:v) previamente autoclavado a 120 °C por 2 horas. Foi realizada análise de fertilidade do substrato (Tabela 1), e realizada adubação de base segundo necessidade da cultura da soja, pela disponibilização de 180 Kg de P₂O₅ e 50 Kg K₂O, por hectare (EMBRAPA, 2013), aplicando o equivalente à 1200 Kg de superfosfato simples e 83,33 Kg de cloreto de potássio, por hectare (0,6 g e 0,042 g por litro de substrato, respectivamente). Cada vaso recebeu uma única planta e passou a constituir uma unidade experimental.

Tabela 1 - Teores de nutrientes apresentados pelo substrato utilizado para o cultivo experimental de plantas de soja, segundo análise de solo realizada no Laboratório de Química Ambiental e Instrumental do Centro de Ciências Agrárias da Unioeste, no campus de Marechal Cândido Rondon.

P	MO	pH CaCl2	H+Al	Al ³⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	SB	CTC	V
--mg dm ⁻³ --	--g dm ⁻³ --	--0,01mol L ⁻¹ --	-----cmol _c dm ⁻³ -----							--%--
2,07	5,47	6,02	3,12	0,00	0,10	2,97	0,74	3,81	6,93	57,95

Teores de P (fósforo) e K (potássio) obtidos por extrator Mehlich; Al (alumínio), Ca (cálcio) e Mg (magnésio) obtidos por extrator KCl 1 mol L⁻¹; H+Al (hidrogênio + alumínio): pH SMP (7,5); MO: matéria orgânica; SB: soma de bases; CTC: capacidade de troca de cátions; V: saturação de bases.

Para os tratamentos foram utilizados silicato de potássio [Silifort[®] (10% de Si e 10% de K₂O)], sob dose de 0; 0,25%; 0,50%; 1,0%; 2,0% e 4,0% do produto comercial, equivalentes a 0; 0,025%; 0,05%; 0,1%; 0,2% e 0,4% de Si, respectivamente. Quanto às testemunhas adicionais, acibenzolar-S-metil (Bion[®]) foi aplicado sob dose de 200 mg L⁻¹ de água, e o cloreto de potássio (KCl), foi primeiramente diluído em água, produzindo uma solução de 10% de K₂O, equivalente ao teor presente no Silifort[®], diluindo 16,67 g de cloreto de potássio (K₂O 60%) em água destilada, para obtenção de 100 mL de solução. Esta foi utilizada à 4%, diluída em água, para obtenção de solução à 0,4% de K₂O, similar àquele presente na maior dose testada de silicato de potássio. Para o tratamento controle foi utilizada água destilada, constituindo este o controle não tratado e não inoculado.

A aplicação dos produtos foi realizada dois dias após o transplante, mediante pulverização das plantas, utilizando borrifador de pressão acumulada. Os produtos foram aplicados em parte aérea até molhamento foliar, sem escorrimento, sendo as pulverizações repetidas a cada 21 dias, totalizando 3 aplicações até a amostragem para avaliação.

A população pura do nematoide utilizada no presente ensaio é proveniente de área comercial, localizada no município de Marechal Cândido Rondon, a partir da qual foram obtidas plantas de soja sintomáticas das quais foram extraídas fêmeas adultas e maduras de forma direta. Estas fêmeas foram identificadas pela análise do padrão perineal, o qual revelou características típicas de *M. incognita* (Figura 1A), como presença de linhas laterais ausentes, arco dorsal alto, quadrado, geralmente apresentando marcação na porção terminal da cauda, possuindo estrias lisas, onduladas, às vezes em um padrão de ziguezague (EISENBACK, 1985). As massas de cada uma das fêmeas identificadas foram submetidas à multiplicação em tomateiros cv. Santa Clara mantidas sob casa de vegetação e a população resultante foi submetida à identificação via eletroforese da isoenzima esterase (CARNEIRO; ALMEIDA,

2001), confirmando sua pureza pela presença de fenótipo de esterase com uma única banda eletroforética localizada à 47% (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1990) (Figura 1B).

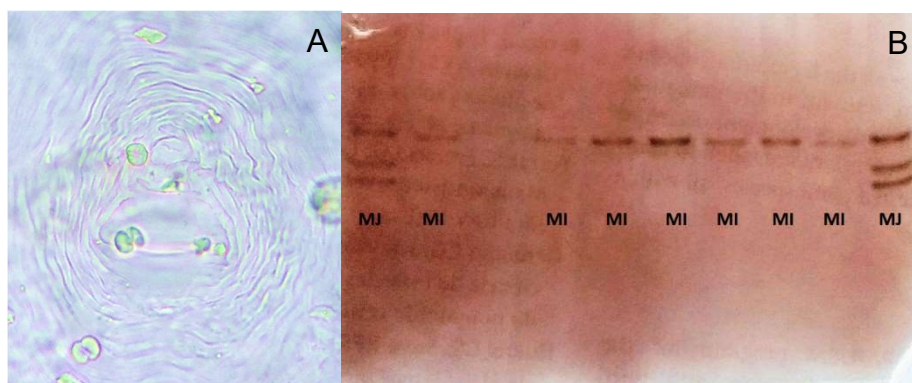


Figura 1 - A. Padrão perineal característico de *Meloidogyne incognita* proveniente de fêmeas retiradas de plantas de soja advindas de área comercial no município de Marechal Cândido Rondon (Fonte: Mattei, Danielle). B. Padrão de bandas característico de *Meloidogyne incognita* (MI), proveniente de população pura multiplicada a partir de massas de ovos obtidas a partir das fêmeas identificadas, comparados ao padrão *Meloidogyne javanica* (MJ) (Foto: Mioranza, Thaísa Muriel).

Doze dias após o transplante foi realizada extração da população pura de *M. incognita* a partir das raízes de tomateiro (BONETI; FERRAZ, 1981; HUSSEY; BARKER, 1973). A suspensão obtida foi contada em câmara de Peters sob microscópio óptico e calibrada para 750 ovos e eventuais juvenis de segundo estágio (J_2) por mililitro. Foram perfurados no solo quatro orifícios de 4 cm de profundidade, de lados opostos da planta, nos quais foi distribuído 1 mL por orifício, totalizando população inicial inoculada de 3000 ovos e eventuais J_2 de *M. incognita* por planta.

A avaliação do ensaio foi realizada 60 dias após a inoculação. As plantas foram coletadas, avaliando-se massa fresca de raiz (MFR) e massa seca de parte aérea (MSPA) obtida após secagem a 65 °C, em estufa com circulação de ar forçada, até peso constante.

A avaliação dos parâmetros nematológicos iniciou com a realização da coloração de massas de ovos utilizando solução à base de floxina B 15 mg L⁻¹ de água (TAYLOR; SASSER, 1978), para contagem do número de massas de ovos (MO). Na sequência foi realizada extração de nematoides a partir das raízes conforme metodologia previamente citada, avaliando-se a população final (PF) de *M. incognita*. A partir desse dado foi obtido o número de nematoides por grama de raiz (NGR), pela divisão da população final de nematoides pela massa fresca de raízes. O número de ovos por massa de ovos (NOM) foi obtido pela razão entre o total de

nematoides e número de massas de ovos. O cálculo do fator de reprodução [FR = população final/população inoculada (OOSTENBRINK, 1966)] também foi realizado.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, considerando como fontes de variação as doses de silicato de potássio, as testemunhas e a interação destes. Quando observada significância para as doses procedeu-se análise de regressão linear, quadrática e cúbica, utilizando o software estatístico Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2011). Para significância da interação entre testemunhas e doses de silicato de potássio, procedeu-se a comparação de médias através do teste de Dunnett à 5% de probabilidade de erro. Para a avaliação dos parâmetros nematológicos foi desconsiderada a testemunha controle (não tratada e não inoculada).

3.3 RESULTADOS

A análise de variância - ANAVA (Tabela 2) apresentou diferença significativa entre as testemunhas para as variáveis massa fresca de raiz, população final de nematoides e fator de reprodução. Significância para as mesmas variáveis também foi observada para a interação entre as testemunhas e as doses de silício. No que se refere as doses de silício, considerou-se apenas a análise de regressão, que demonstrou significância para as variáveis massa fresca de raiz, população final de nematoides, fator de reprodução, nematoides por grama de raiz e número de ovos por massa, com melhores ajustes para a regressão cúbica em todos os casos.

Dentre as variáveis vegetativas, a massa fresca de raízes foi significativamente influenciada pelos tratamentos, tendo sido observada diferença significativa entre as testemunhas, onde o controle não inoculado e não tratado (20,43 g) apresentou massa mais elevada quando comparada aquela observada em plantas submetidas a pulverização com KCl (15,39 g) ou ASM (8,72 g). A aplicação de silicato de potássio à 0,5%, reduziu a massa fresca de raízes em relação ao controle não inoculado e não tratado, mas não em relação ao KCl ou ASM. Comparados ao cloreto de potássio, nenhuma dose de silício afetou o acúmulo de massa fresca de raiz, enquanto que, se comparados à testemunha ASM, todas as doses de silicato de potássio aplicadas favoreceram melhor acúmulo de massa (Figura 1). Menor acúmulo de massa nas raízes foi constatado para 0,6% de silicato de potássio e maior para 3,0% ($y = -0,8071x^3 + 4,3626x^2 - 4,5268x + 18,1300$; $R^2 = 47,22\%$; Figura 1A). Em contrapartida, a massa seca de parte aérea não apresentou diferença entre os tratamentos (Tabela 2), o que se pode observar

pela análise da Figura 1B onde é passível de ser notada similaridade entre os tratamentos aos quais as plantas de soja foram submetidas, independente de terem sido inoculadas ou tratadas.

Tabela 2 - Análise de variância segundo valores de quadrado médio para os fatores de variação (FV) doses de silicato de potássio – KSi (0%, 0,25%, 0,5%, 1,0%, 2,0% e 4,0%), testemunhas – T [controle (não inoculado e não tratado), cloreto de potássio – KCl (0,4% de K₂O) e acibenzolar-S-metil – ASM (200 mg L⁻¹)], interação dos referidos grupos e blocos para as variáveis massa fresca de raízes (MFR), massa seca de parte aérea (MSPA), população final (PF), fator de reprodução (FR), nematoides por grama de raízes (NGR), massas de ovos (MO) e número de ovos por massa de ovos (NOM), apresentados por plantas de soja inoculadas com *Meloidogyne incognita*, aos 70 dias após a indução, 60 dias após a inoculação.

FV (GL)	MFR ^V	MSPA ^V	PF ^N	FR ^N	NGR ^N	MO ^N	NOM ^N
KSi (5)	13,42*	2,01 ^{ns}	165458994*	18,38*	367667,97*	325,65 ^{ns}	28923,40*
T (2 ^V ; 1 ^N)	172,50*	1,67 ^{ns}	375544267*	41,73*	291830,50 ^{ns}	840,28 ^{ns}	6581,50 ^{ns}
KSi x T (1)	100,77*	1,24 ^{ns}	233289628*	25,92*	81856,34 ^{ns}	2088,89*	5797,26 ^{ns}
Blocos (4)	3,66 ^{ns}	0,17 ^{ns}	36184719 ^{ns}	1,01 ^{ns}	23351,97 ^{ns}	60,23 ^{ns}	2658,06 ^{ns}
Erro	3,57	2,12	22448284	2,49	93737,69	472,08	10634,32
Médias	16,91	5,14	19600,96	6,53	1186,31	68,08	305,31
CV(%)	22,51	26,97	37,17	37,17	29,98	31,61	35,73

GL: graus de liberdade; ^V e ^N: graus de liberdade para as variáveis vegetativas (três testemunhas: controle, KCl e ASM) e nematológicas (duas testemunhas: KCl e ASM). *e ^{ns}: significativo e não significativo segundo teste de F à 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variância.

Dentre os parâmetros nematológicos, o acibenzolar-S-metil apresentou população final de *M. incognita* 57% menor que aquela apresentada pelo KCl (21628; Figura 2A). De modo geral, as doses de silicato de potássio não diferiram do KCl, com exceção da dose 0,5% (10607), que apresentou população final similar ao ASM (9372), do qual as demais doses, incluindo 0% de silicato de potássio (25990), diferiram. Considerando o comportamento da população final de acordo com a dose de silicato aplicada, a regressão cúbica ($y = -3717,9x^3 + 21984x^2 - 29154x + 25860$; $R^2=67,43$) indicou ponto de mínima e máxima populações finais para 0,8% e 3,1% de silicato de potássio, respectivamente.

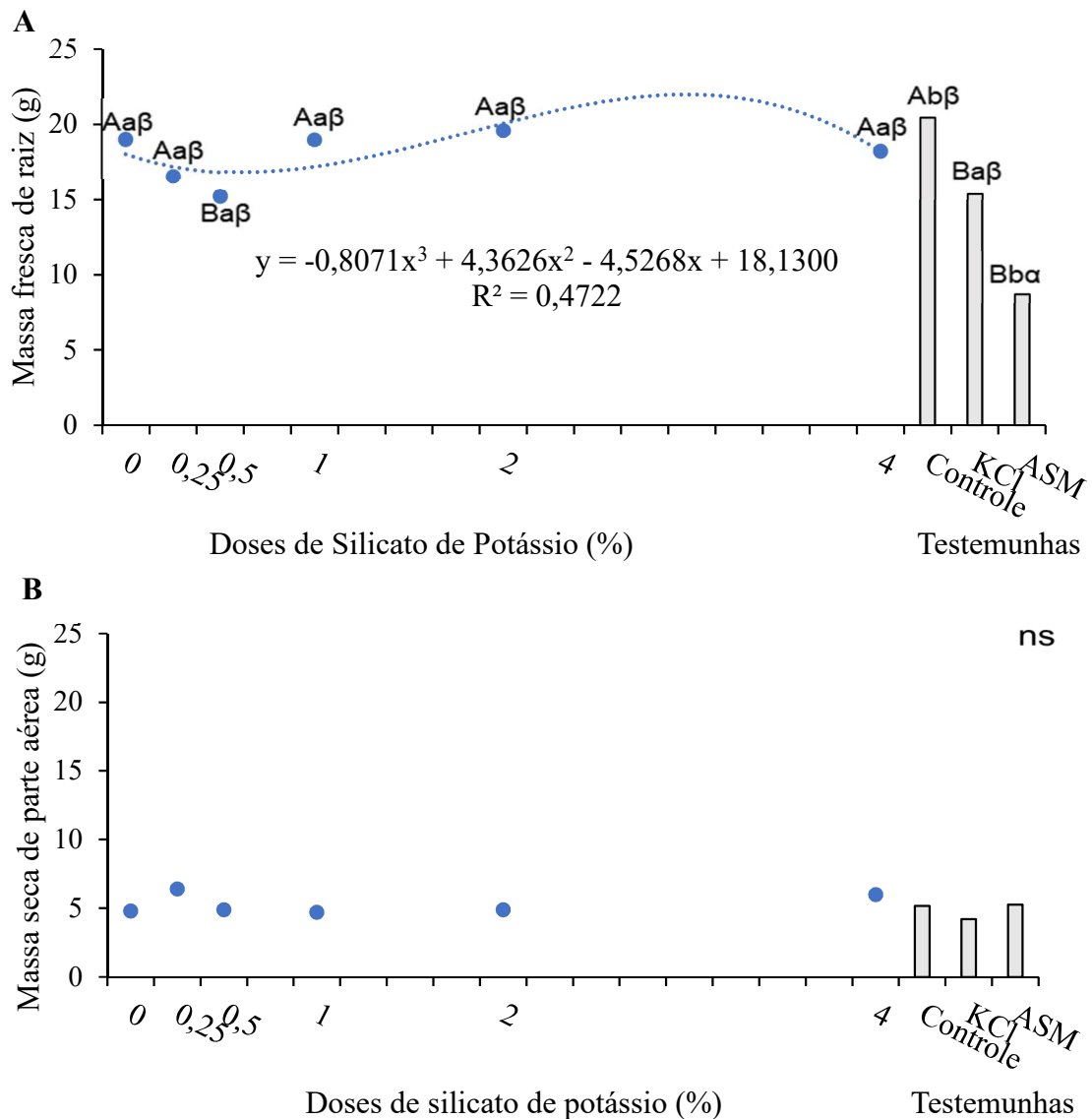


Figura 1 - Massa fresca de raiz (A) e massa seca de parte aérea (B) de plantas de soja inoculadas com *Meloidogyne incognita* previamente tratadas com diferentes doses de silicato de potássio e testemunhas [controle absoluto, cloreto de potássio – KCl (0,4% K₂O) e acibenzolar-S-metil – ASM (200mg L⁻¹)], 70 dias após a indução e 60 dias após a inoculação. A: doses de silicato de potássio e testemunhas representados por letras similares não diferem entre si segundo o teste de Dunnett à 5% de probabilidade de erro, onde controle, KCl e ASM são representadas por A, a e α, respectivamente. Coeficiente de variação: 22,51%. B: ns: não significativo segundo teste de F e análise de regressão à 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação: 26,97.

O comportamento do fator de reprodução do *M. incognita* (Figura 2B) demonstrou diferença entre as testemunhas KCl (7,21) e ASM (3,12), sendo similar ao primeiro e distinto do segundo o FR das dose de silicato de potássio, exceto 0,5% este apresentou comportamento inverso, com FR médio de 3,63. A regressão das doses do silicato para o FR ($y = -1,2483x^3 +$

$7,3261x^2 - 9,4871x + 8,2991$; $R^2 = 74,18\%$), apresentou comportamento similar àquela obtida para a população final de *M. incognita*, com menor e maior fator de reprodução para 0,8% e 3,1% de silicato de potássio. Tal comportamento se repetiu, de modo bastante similar, para a regressão do número de nematoides por grama de raiz ($y = -155,76x^3 + 955,68x^2 - 1338,98x + 1345,60$; $R^2 = 81,63$; Figura 2C), com maior valor pico para dose de 3,2% (1743 nematoides por grama de raiz), enquanto doses mais baixas resultaram em menor número de nematoides por grama de raízes, com menor valor para 0,9% (801 nematoides por grama de raiz).

O número de massas de ovos (Figura 3A) e o número de ovos por massa (Figura 3B) não apresentaram diferença significativa entre testemunhas ou estas e as doses de silício estudadas. Contudo, o número de ovos por massa de ovos produzida por *M. incognita* apresentou regressão ($y = -52,9893x^3 + 311,4359x^2 - 396,0881x + 349,23$; $R^2 = 91,91\%$) com comportamento condizente ao apresentado pela demais variáveis nematológicas, segundo a qual menor número de ovos por massa de ovos seria produzido por fêmeas que parasitassem plantas pulverizadas com silicato de potássio sob dose de 0,8% (204 ovos), e valores mais elevados para aquelas tratadas com 3,1% (535 ovos), enquanto plantas não tratadas apresentaram valor intermediário (349 ovos).

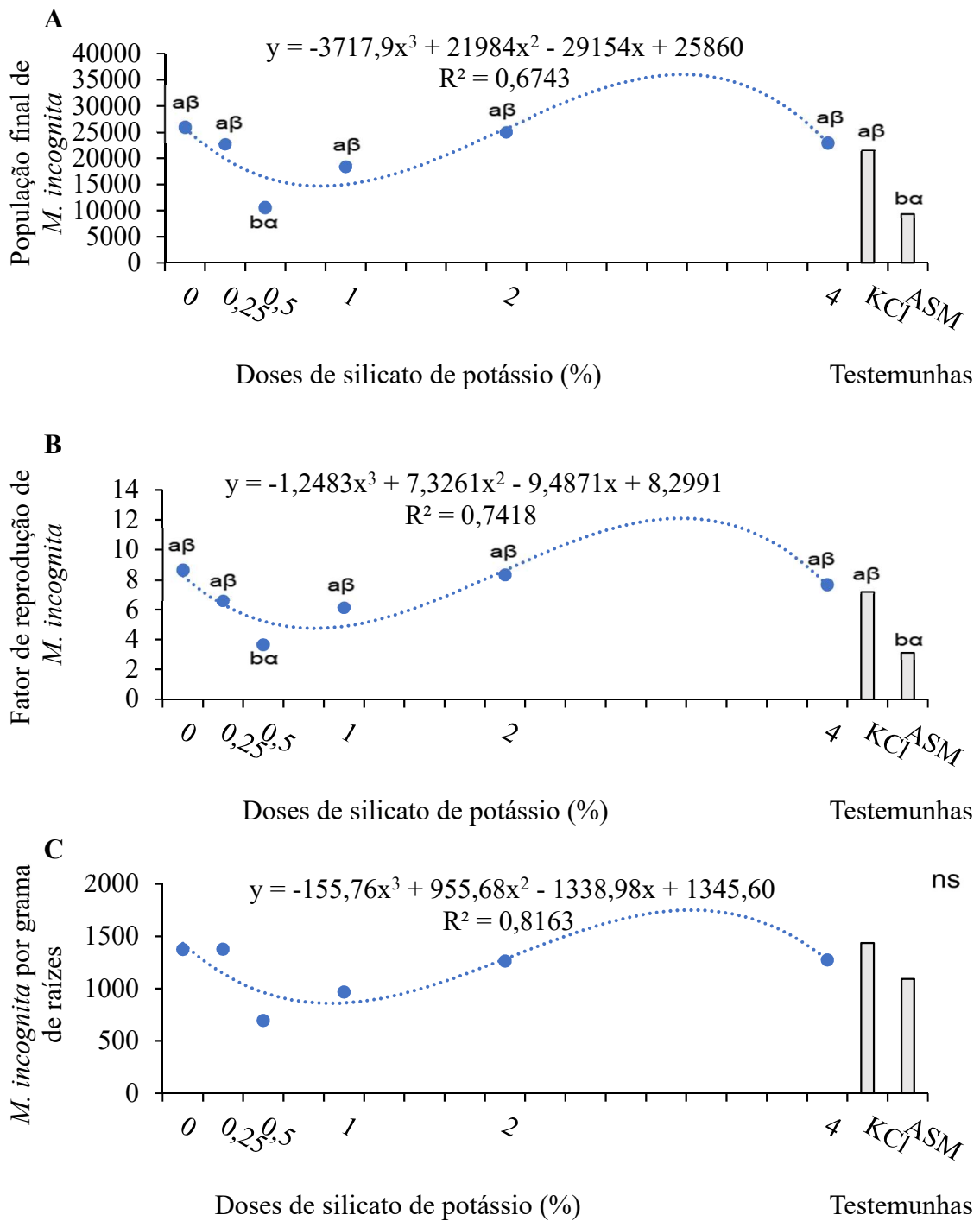


Figura 2 - População final (A), fator de reprodução (B) número de nematoides por grama de raiz em plantas de soja inoculadas com *Meloidogyne incognita* previamente tratadas com diferentes doses de silicato de potássio e testemunhas [cloreto de potássio – KCl (0,4% de K_2O) e acibenzolar-S-metil – ASM (200 mg L^{-1})], 70 dias após a indução e 60 dias após a inoculação. Doses de silicato de potássio e testemunhas representados por letras similares não diferem entre si segundo o teste de Dunnett à 5% de probabilidade de erro, onde as testemunhas KCl e ASM são representadas por a e α , respectivamente. ns: não significativo segundo teste de F à 5% de probabilidade. Coeficiente de variação: 37,17%, 35,70% e 28,66% para A, B e C, respectivamente.

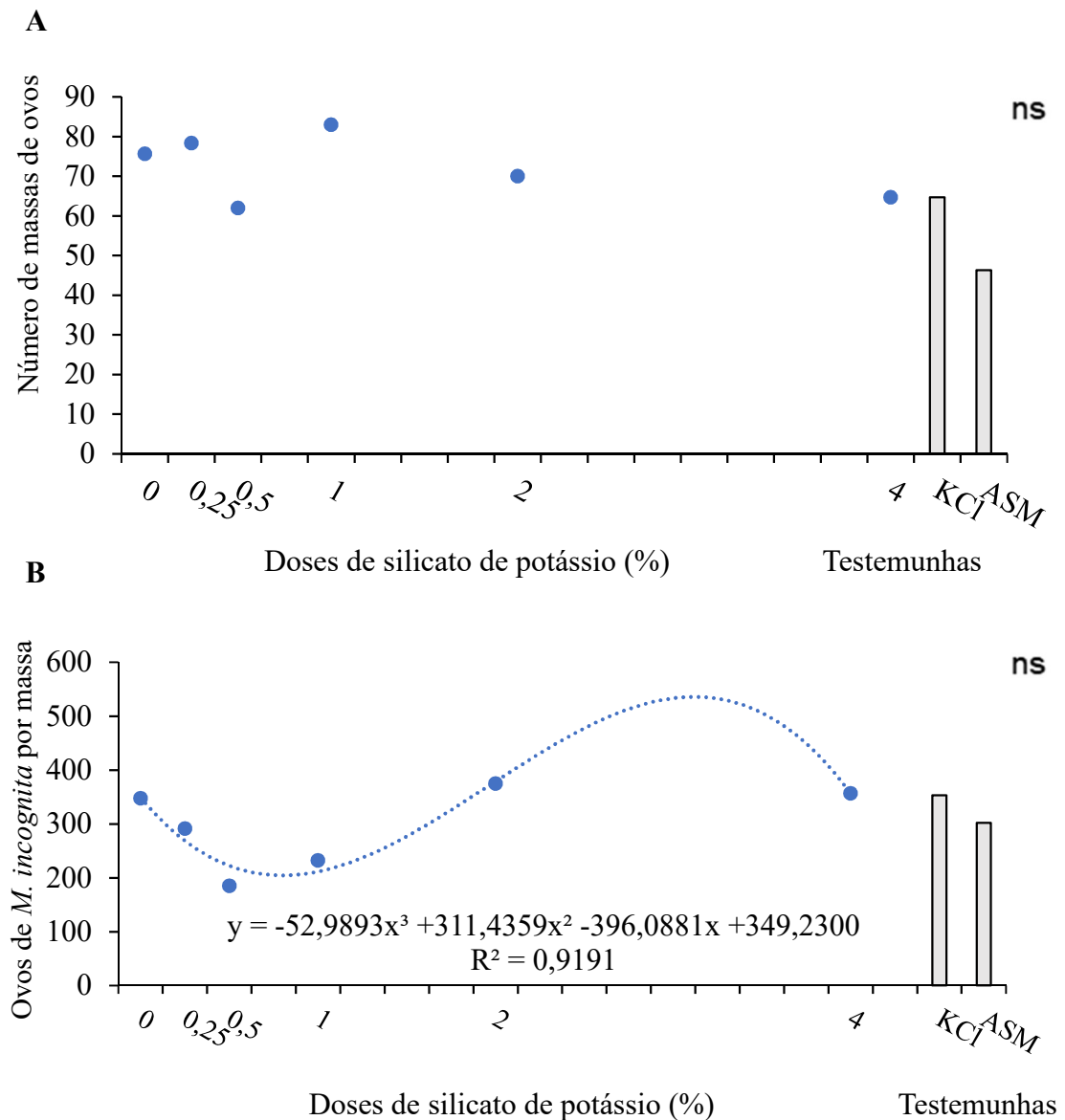


Figura 3 - Número de massas de ovos (A) e número de ovos por massa de ovos (B) presentes em plantas de soja inoculadas com *Meloidogyne incognita* previamente tratadas com diferentes doses de silicato de potássio, e colunas de valores apresentados pelas testemunhas [cloreto de potássio – KCl (0,4% K₂O) e acibenzolar-S-metil – ASM (200 mg L⁻¹)], 70 dias após a indução e 60 dias após a inoculação. A: ns: não significativo segundo teste de F e análise de regressão, à 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação: 31,61%. B: não significativo segundo teste de F à 5% de probabilidade de erro. Coeficiente de variação: 35,73%.

3.4 DISCUSSÃO

A indução de resistência pode favorecer o controle de patógenos e, por consequência, favorecer a produção, pela redução da população de patógenos no solo. No caso do silício sabe-se que o mesmo pode favorecer que as plantas fiquem mais eretas, apresentem melhor eficiência de uso da água e captem maior luminosidade, podendo favorecer a produção. As variáveis vegetativas no presente ensaio demonstraram redução de massa fresca de raízes decorrente da aplicação de ASM, KCl e silicato de potássio à 0,5%, em relação ao controle não tratado e não inoculado, em valores equivalentes a 25%, 57% e 26%, respectivamente. Apesar disso, o silicato de potássio à 0,5% não diferiu do ASM ou KCL. A redução da massa fresca de raízes pode ser decorrente do processo de indução, pois a modificação do metabolismo mediante a ativação de rotas metabólicas que levem a produção de compostos de defesa vegetal pode resultar na redução do desenvolvimento vegetal (CARDOSO et al., 2017). Contudo, deve-se considerar que a massa seca da parte aérea das plantas não foi afetada, independente do tratamento, sendo o mesmo relatado em ensaio de indução em tomateiros inoculados com *M. incognita* mediada por benzothiadazole (BTH), como também é denominado o ASM, onde diferentes doses não afetaram o desenvolvimento da planta, mas reduziram a massa de raiz (MOLINARI, 2016). É possível ainda que a redução de massa fresca de raiz seja decorrente da interação entre infecção pelos nematoides e eficiência dos tratamentos.

A indução em patossistemas envolvendo nematoides apresenta respostas variadas, desde a ausência de influência nos parâmetros vegetativos, até o incremento ou redução dos mesmos. Tais comportamentos são descritos mediante uso de ASM visando controle de *M. javanica* em soja e alface e *Pratylenchus brachyurus* em milho (BRITO et al., 2016; HERNANDES et al., 2017; PUERARI et al., 2013, 2015), bem como o silício no controle de *M. exigua* e *M. paranaensis* em café, *M. incognita* e *Pratylenchus zea* em cana-de-açúcar, e *M. incognita* em pepino (EL-SHER; GAD; SAADOON, 2016; GUIMARÃES et al., 2008; MANSOURABAD; BIDEH; ABDOLLAHI, 2016; ROLDI et al., 2017; SILVA et al., 2015). Essa inconsistência de resultados pode ser decorrente de diversos fatores, como a natureza do indutor, dose utilizada, método de aplicação, nível de infestação das plantas, planta induzida e características genéticas da mesma. Entretanto, como a massa seca de parte aérea não foi afetada no presente ensaio, acredita-se que o indutor não venha a afetar sua produção. Isso reforça a ideia que, a redução da massa fresca de raiz possivelmente decorreu da infestação do sistema

radicular pelos nematoides, fazendo crer que tal redução não seria decorrente apenas do custo metabólico que o processo de indução representa para a planta.

Dentre os parâmetros nematológicos, o número de massas de ovos e o número de ovos por massa não apresentaram diferença significativa entre testemunhas ou estas e as doses de silício estudadas. Por outro lado, e em se tratando de manejo, as variáveis que mais se destacam como população final e fator de reprodução apresentaram diferença entre testemunhas, com menores valores para ASM (9372 e 3,12). Valores similares à essa foram observados para a dose 0,5% de silicato de potássio, e diferentes para 0% (25990 e 8,66) e demais. Em outras palavras, a pulverização do ASM foi capaz de diminuir em mais de 60% a reprodução de *M. incognita* em relação as plantas não tratadas, sendo observado resultado similar para plantas tratadas com 0,5% de silicato de potássio. De forma análoga, comportou-se o número de ovos por massa. Tais variáveis, bem como o número de nematoides por grama de raiz, apresentaram regressão apontando menor fertilidade de fêmeas para aquelas parasitando plantas tratadas com 0,8% de silicato de potássio, o que nos permite inferir que a menor população e fator de reprodução pode ser decorrente de menor capacidade reprodutiva das fêmeas que estabeleceram relação parasitária com plantas induzidas sob tal dose.

Apesar de a aplicação de KCl não ter influenciado negativamente os parâmetros nematológicos no presente ensaio, foi observada eficiência do mesmo na redução da população de *M. paranaensis* em café, o que foi atribuído ao fornecimento adequado de potássio e sua capacidade de conferir resistência à penetração e desenvolvimento de patógenos, reduzindo a quantidade de doenças (ROLDI et al., 2017). Entretanto, no presente ensaio, KCl foi utilizado em dose de K₂O 0,4%, equivalente ao presente na maior dose de silicato de potássio testada, visando confirmar se o efeito observado para aplicação deste último não seria decorrente do aumento do teor de K₂O disponibilizado. Como efeito de redução da população de *M. incognita* não foi observado, acredita-se que ao menos sob a dose testada, o potássio não teve influência sob o nematoide ou indução de resistência.

Em diversos ensaios utilizando o ASM para indução, o número de galhas não foi afetado, sendo reduzido apenas a reprodução dos nematoides, o que é atribuído a redução da fecundidade dos nematoides das galhas, sendo indicada inatividade do produto diretamente sobre a eclosão, sobrevivência ou penetração dos nematoides e efeito de controle mediado pela aplicação foliar, sugerindo que seja decorrente de RSA (CHINNASRI; SIPES; SCHMITT, 2003; MOLINARI; BASER, 2010; PUERARI et al., 2013; SALGADO et al., 2007).

Apesar de a atividade nematicida e nematostática direta do ASM (0,5 mM) sobre juvenis de *M. incognita* (30% de mortalidade) (MOLINARI, 2016), e inibição da eclosão

(100%, após 48 h de incubação em ASM de 0,625 à 2,5 mM) (SCHOUTEDEN et al., 2017) terem sido relatadas, quando se trabalha com a aplicação em parte aérea esse efeito não é o que prevalece. Em tomateiros inoculados com *M. incognita* a reprodução foi reduzida tanto mediante aplicação no sistema radicular (180 e 360 mg L⁻¹), como pela pulverização em parte aérea, porém, esta demandou dose mais elevada (5200 mg L⁻¹) (MOLINARI; BASER, 2010), possivelmente por não apresentar efeito direto sobre os nematoides como também pela necessidade de transmitir os sinais de indução da parte aérea para as raízes, como colocam os autores.

Em soja, a aplicação de ASM (0,5 g L⁻¹) sete dias antes da inoculação das plantas com *M. javanica*, promoveu redução do número de ovos por grama de raízes, tanto em cultivar resistente como suscetível, contudo, tal resultado ocorreu apenas em um dos dois ensaios realizados (PUERARI et al., 2013). No mesmo patossistema, a utilização de doses mais elevadas aumentou a capacidade de controle, também influenciado pela forma de aplicação do produto, onde o tratamento de semente e parte aérea sob maior dose reduziu em quase 90% o número de ovos por grama de raiz, enquanto a pulverização da parte aérea de forma isolada, sob mesma dose, reduziu apenas 55,1% (BRITO et al., 2016).

Quanto a ação do silício na indução, é defendido que regiões mais velhas das raízes apresentam maior teor do nutriente e que são responsáveis por sua absorção a partir do solo. A partir daí o silício pode se acumular no apoplasto junto as paredes celulares sob forma de sílica amorfa (fitólitos), ou complexar-se à hemicelulose, aumentando a rigidez do tecido e a retenção de água, reduzindo transpiração e estresse osmótico (LIANG et al., 2015). Entretanto, apesar do acúmulo do silício nas raízes, sabe-se que os nematoides das galhas penetram as raízes em sua região de alongamento - porção não lignificada, próxima do ápice, que por consequência apresenta baixos teores de silício - e migram até a região central da raiz e daí para a região de diferenciação, mais acima, movendo-se intercelularmente (WILLIAMSON; HUSSEY, 1996). Desse modo, *Meloidogyne* não atravessa qualquer barreira lignificada, como as estrias de Caspari, de modo que possivelmente essa não seja a principal estratégia que exerça controle sobre nematoides desse gênero. Além disso, como penetram e se movimentam utilizando-se da força física de seu estilete somada à atividade de enzimas, estas seriam suficientes para auxiliar no processo de invasão das raízes mesmo se fosse observado acúmulo de silício junto as paredes celulares (ROLDI, 2015).

Contudo, uma pequena porção do silício permanece solúvel, sendo colocado como hipótese que este é capaz de regular a expressão de genes responsáveis pela síntese de enzimas relacionadas a defesa vegetal e hormônios (LIANG et al., 2015). Em plantas de café a aplicação

de silício favoreceu aumento nos teores de micronutrientes como ferro (Fe) e cobre (Cu), cofatores que atuam sobre a síntese de enzimas de defesa vegetal (ROLDI et al., 2017). Tal fato pode estar relacionado ao aumento da produção e/ou atividade de enzimas como fenilalanina amônia-liase, peroxidase e polifenoloxidase. Este foi comprovado em cafeeiros induzidos com silicato de cálcio (1,25 g de volastonita por kg de solo), inoculados com *M. exigua*, os quais apresentaram teor de silício das raízes aumentado em mais de 100% e a atividade das referidas enzimas aumentou em mais de 30%, 50% e 25%, respectivamente, o que teria reduzido a capacidade reprodutiva do nematoide (SILVA et al., 2010). Em cana-de-açúcar induzida com silicato de potássio houve incremento da atividade de β -1,3-glucanase, 21 dias após a indução, em plantas inoculadas com *M. incognita*, sendo observado também incremento na atividade dessa e da catalase conforme incremento da dose do indutor (GUIMARÃES et al., 2010). Estes salientaram que a aplicação do silício não afetou a penetração de juvenis nas raízes e que o mais provável mecanismo envolvido no referido patossistema envolveria mecanismos de defesa desencadeados após a infecção.

Outros estudos relatam redução no desenvolvimento de *M. javanica* no sistema radicular de soja pulverizada com silicato de potássio à 0,5%, bem como de penetração em plantas de arroz e feijão (MATTEI et al., 2017). Também é relatada atividade direta de produtos à base de silício sobre desenvolvimento embrionário e eclosão de *M. javanica* (MATTEI; ARIEIRA, 2015), onde o silicato de potássio, assim como o Rocksil® inibiram tais processos. A resistência induzida pode reduzir ou alongar o ciclo dos nematoides, ter ação direta ou não sobre eclosão e capacidade de localização e penetração no sistema radicular, pode afetar indução e manutenção do sítio de alimentação, o qual se torna incapaz de suprir a necessidade nutricional do parasita ou pode apresentar inibidores que afetem seu desenvolvimento, e, por consequência, sua reprodução (GUIMARÃES et al., 2010; OKA; COHEN, 2001; PUERARI et al., 2015). Portanto, os resultados encontrados no presente ensaio podem ser decorrentes de uma somatória de fatores, envolvendo desde a atividade direta dos produtos sobre a eclosão e mortalidade de nematoides até a redução da fertilidade de fêmeas pelos fatores anteriormente discutidos.

Apesar de a indução de resistência demandar um período entre a aplicação do indutor e a ativação dos mecanismos de defesa, diversos trabalhos demonstram que a indução pode ser uma ferramenta efetiva tanto em culturas perenes como anuais visando controle de nematoides (DIAS-ARIEIRA et al., 2013). Apesar dos resultados positivos obtidos no presente trabalho, para uso do ASM (200 mg L⁻¹) e silicato de potássio (0,5%), são demandadas maiores informações a respeito do uso silício no processo de indução de resistência para o controle de

nematoides a fim esclarecer sua forma de atuação nas plantas, bem como eficiência nos mais distintos patossistemas, de forma a tornar sua recomendação melhor embasada e mais confiável.

3.5 CONCLUSÕES

A massa seca de parte aérea não foi afetada por nenhum dos tratamentos avaliados. Entretanto, ASM, KCl e silicato de potássio à 0,5% reduziram a massa fresca de raiz em relação ao controle não tratado e não inoculado. A aplicação de ASM reduziu a população final e o fator de reprodução de *M. incognita*. O silicato de potássio, aplicado sob doses entre 0,5% e 0,9% levou a redução de parâmetros nematológicos, como população final, fator de reprodução, número de ovos por massa e nematoides por grama de raízes, sendo portanto, eficiente para o controle de *M. incognita*.

3.6 REFERÊNCIAS

- BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, p. 553, 1981.
- BRIAT, J. F.; DUBOS, C.; GAYMARD, F. Iron nutrition, biomass production, and plant product quality. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 1, p. 33–40, 2015.
- BRITO, O. D. C. et al. Métodos de aplicação e concentrações de acibenzolar-S-metil no manejo de *Meloidogyne javanica* em soja. **Nematropica**, v. 46, n. 1, p. 106–113, 2016.
- CAARLS, L.; PIETERSE, C. M. J.; VAN WEES, S. C. M. How salicylic acid takes transcriptional control over jasmonic acid signaling. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. March, p. 1–11, 2015.
- CARDOSO, M. R. et al. Acibenzolar-S-methyl doses and application methods to *Pratylenchus brachyurus* control in maize. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science**, v. 67, n. 1, p. 23–27, 2017.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. a. Técnica de eletroforese usada no estudo de enzimas de nematoides de galhas para identificação de espécies. **Nematologia Brasileira**, v. 25, n. 1, p. 35–44, 2001.
- CHINNASRI, B.; SIPES, B. S.; SCHMITT, D. P. Effects of acibenzolar-S-methyl application to *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 35, n. 1, p. 110–114, 2003.

- DE-LA-PENA, C.; LOYOLA-VARGAS, V. M. Biotic interactions in the rhizosphere: a diverse cooperative enterprise for plant productivity. **Plant Physiology**, v. 166, n. 2, p. 701–719, 2014.
- DEBONA, D.; RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. Silicon's role in abiotic and biotic plant stresses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 55, n. 1, p. 85–107, 2017.
- DIAS-ARIEIRA, C. R. et al. Induced resistance in the nematodes control. **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 20, p. 2312–2318, 2013.
- DIAS-ARIEIRA, C. R. et al. Use of organic amendments in the management of root-knot nematode in lettuce. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 4, 2015.
- EISENBACK, J. D. Diagnostic characters useful in the identification of the four most common species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). In: SASSER, J. N.; CARTER, C. C. (Eds.). **An advanced treatise on Meloidogyne, 1 Biology and control**. Raleigh: North Carolina State University Graphics, 1985. p. 95–112.
- EL-SHER, A. G.; GAD, S. B.; SAADOON, S. M. Impact of potassium silicate application on *Meloidogyne incognita* infecting cucumber plant under greenhouse conditions. **Asian Journal of Nematology**, v. 5, n. 1, p. 1–7, 2016.
- EMBRAPA. Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2014. In: **Sistemas de Produção**. v. 16; 265 p. 2013.
- ESBENSHADE, P. R.; TRIANTAPHYLLOU, A. C. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, v. 22, n. 1, p. 10–15, 1990.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The future of food and agriculture – Trends and challenges**. FAO: Rome, 2017. 180 p.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039–1042, 2011.
- FLEMING, T. R. et al. Prevalence and diversity of plant parasitic nematodes in Northern Ireland grassland and cereals, and the influence of soils and rainfall. **Plant Pathology**, v. 65, n. 9, p. 1539–1550, 2016.
- FREIRE, E. S. **Controle dos nematóides de galhas (*Meloidogyne* spp.) e do cisto (*Heterodera glycines*) com silicatos**. 2007. 90 p. (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- GUIMARÃES, L. M. P. et al. Efeito de metil jasmonato e silicato de potássio no parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zeae* em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 50–55, 2008.
- GUIMARÃES, L. M. P. et al. Eficiência e atividade enzimática elicitada por metil jasmonato e silicato de potássio em cana-de-açúcar parasitada por *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 1, p. 11–15, 2010.
- HENRY, G.; THONART, P.; ONGENA, M. PAMPs, MAMPs, DAMPs and others: an update on the diversity of plant immunity elicitors. **Biotechnology, Agronomy, Society and Environment**, v. 16, n. 2, p. 12, 2012.

HERNANDES, I. et al. Acibenzolar-S-methyl on *Meloidogyne javanica* control in lettuce. **Acta Agriculturae Scandinavica Section B: Soil and Plant Science**, v. 67, n. 7, p. 660–664, 2017.

HUSSEY, S. R.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Report**, v. 57, p. 1025–1028, 1973.

KEEPING, M. G. Uptake of silicon by sugarcane from applied sources may not reflect plant-available soil silicon and total silicon content of sources. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. May, p. 1–14, 2017.

LIANG, Y. et al. **Silicon in Agriculture**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2015. 235 p.

MANSOURABAD, M. A.; BIDEH, A. K.; ABDOLLAHI, M. Effects of some micronutrients and macronutrients on the root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, in greenhouse cucumber (*Cucumis sativus* cv. Negin). **Journal of Crop Protection**, v. 5, n. 4, p. 507–517, 2016.

MATTEI, D. et al. Influence of Rocksil[®], Silifort[®] and wollastonite on penetration and development of *Meloidogyne javanica* in poaceae and fabaceae. **Journal of Phytopathology**, v. 165, n. 2, p. 91–97, 2017

MATTEI, D.; ARIEIRA, C. R. D. Different sources of silicon in the embryonic development and in the hatching of *Meloidogyne javanica*. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 52, p. 4814–4819, 2015.

MELO, T. A. de et al. Produtos naturais aplicados para manejo de *Meloidogyne incognita* em tomateiros. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 3, p. 223–227, 2012.

MOLINARI, S. Systemic acquired resistance activation in solanaceous crops as a management strategy against root-knot nematodes. **Pest Management Science**, v. 72, n. 5, p. 888–896, 2016.

MOLINARI, S.; BASER, N. Induction of resistance to root-knot nematodes by SAR elicitors in tomato. **Crop Protection**, v. 29, n. 11, p. 1354–1362, 2010.

OKA, Y.; COHEN, Y. Induced resistance to cyst and root-knot nematodes in cereals by DL- β -amino-n-butyrac acid. **European Journal of Plant Pathology**, v. 2, p. 219–227, 2001.

OLIVEIRA, R. M. et al. Efeito do silicato de cálcio e magnésio sobre a reprodução de *Meloidogyne javanica* e desenvolvimento de mudas de bananeira Prata-Anã. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 2, p. 409–415, 2012.

OOSTENBRINK, M. Mejor characteristics of the relation between nematodes and plants. **Mededlingen voor Landbouwhogeschool**, Wageningen, v. 66, p. 3–46, 1966.

PUERARI, H. H. et al. Evaluation of acibenzolar-S-methyl for the control of *Meloidogyne javanica* and effects on the development of susceptible and resistant soybean. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 1, p. 44–48, 2013.

PUERARI, H. H. et al. Resistance inducers in the control of root lesion nematodes in resistant and susceptible cultivars of maize. **Phytoparasitica**, v. 43, n. 3, p. 383–389, 2015.

ROLDI, M. **Controle de *Meloidogyne paranaensis* em cafeeiro mediado pela aplicação de silício**. 2015. 71p. (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Maringá, 2015.

ROLDI, M. et al. Control of *Meloidogyne paranaensis* in coffee plants mediated by silicon. **Nematology**, v. 19, n. 2, p. 245–250, 2017.

SALGADO, S. M. D. L. et al. Efeito de indutores de resistência sobre *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1007–1013, 2007.

SCHOUTEDEN, N. et al. Direct nematicidal effects of methyl jasmonate and acibenzolar-S-methyl against *Meloidogyne incognita*. **Natural Product Research**, v. 31, n. 10, p. 1219–1222, 2017.

SILVA, R. V. et al. Effects of silicon on the penetration and reproduction events of *Meloidogyne exigua* on coffee roots. **Bragantia**, v. 74, n. 2, p. 196–199, 2015.

SILVA, R. V. et al. Biochemical responses of coffee resistance against *Meloidogyne exigua* mediated by silicon. **Plant Pathology**, v. 59, n. 3, p. 586–593, 2010.

TAYLOR, A. L.; SASSER, J. N. Biology, identification and control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* sp.). **Raleigh**, p. 111, 1978.

WILLIAMSON, V. M.; HUSSEY, R. S. Nematode pathogenesis and resistance in plants. **The Plant Cell**, 8, n. 10, p. 1735, 1996.

4 CAPÍTULO 3: INCREMENTO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA MEDIADA PELO SILICATO DE POTÁSSIO EM SOJA DESAFIADA COM *Meloidogyne incognita*

Resumo: Indutores de resistência, como o silício, tem sido pesquisados para controle de nematoides, por serem facilmente empregáveis e induzirem resistência inespecífica, tanto para fatores bióticos como abióticos. O objetivo deste trabalho foi avaliar as atividades de peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase em soja induzida com doses de silicato de potássio e desafiada com *Meloidogyne incognita*. Soja cv. Syn. 1059, transplantadas para vasos contendo substrato estéril, foram induzidas após dois dias pela pulverização de silicato de potássio (Silifort®) à 0%, 0,25%, 0,5%, 1%, 2% e 4%. Cloreto de potássio à 0,04% de K₂O, ASM (Bion®, 200 mg L⁻¹) e plantas não tratadas e não inoculadas foram utilizados como testemunhas. Oito dias após, foi realizada a inoculação com 3 mil ovos e eventuais juvenis de *M. incognita*. Amostragens visando análise da atividade enzimática foram realizadas aos 0, 4, 8, 12, 16 e 20 dias após a indução. Os dados foram submetidos a análise de variância e quando significativa, foram submetidas ao teste de Dunnett (5% de probabilidade de erro). As doses foram submetidas à análise de regressão linear, quadrática e cúbica (5% de probabilidade de erro). A polifenoloxidase apresentou comportamento linear crescente de atividade, com incremento de 47% para a maior dose de silicato aos 4 dias após indução. A fenilalanina-amônia-liase apresentou para a dose 2% de silicato, aos 12 dias após indução, atividade 72% superior ao controle. A peroxidase, 12 dias após a indução, apresentou-se incremento linear de atividade, sendo maior para 4% de silicato de potássio, superior em 55% a atividade enzimática apresentada pelo controle absoluto, e inferior aos controles tratados (ASM e KCl), em aproximadamente 22%. Já aos 16 dias, a atividade de peroxidase para 2% de silicato foi 40% superior a dose 0. Ou seja, ocorreu incremento da atividade enzimática em plantas inoculadas e induzidas, em geral crescente conforme aumento da dose do silicato, em relação aquelas apenas inoculadas, indicando a ativação dos mecanismos de resistência e promoção de *priming* mediado pelo silicato de potássio aplicado à soja.

Palavras-chave: Nematóide das galhas. Indução de resistência. Silício.

4.1 INTRODUÇÃO

A produção agrícola é foco de inúmeros estudos que visam desde o aumento de produção, através do melhoramento genético, até novas tecnologias de manejo de solos, adubação, controle de pragas e doenças. Dentro desse último quesito, muito se discute a respeito do potencial da utilização de produtos como indutores de resistência (DIAS-ARIEIRA et al., 2013; MAUCH-MANI et al., 2017; STANGARLIN et al., 2011), principalmente quando se visa o controle de fitonematoides, importantes vermes parasitas de raízes cujo manejo com variedades resistentes ou com nematicidas é limitado (MACHADO et al., 2017; MOLINARI; BASER, 2010).

Os nematoides, são patógenos favorecidos pelo monocultivo, que prejudicam a produção e qualidade dos alimentos. Danos decorrentes de tais parasitos variam com a suscetibilidade da cultura, espécie, nível populacional presente, condição ambiental e tipo de solo (PERRY; MOENS; STARR, 2009). No Brasil há relato de mais de 100 espécies de nematoides na cultura da soja, estando o *Meloidogyne incognita* entre as mais danosas (LIMA et al., 2016).

Indutores atuam como ativadores da resistência sistêmica inespecífica, processo ainda não totalmente elucidado, mas que pode revolucionar o manejo de doenças. Tais produtos são reconhecidos como um eliciadores, de forma similar aos padrões moleculares associados a microrganismos e patógenos (MAMPs e PAMPs, respectivamente) (HENRY; THONART; ONGENA, 2012), como a quitina presente em fungos (MALINOVSKY; FANGEL; WILLATS, 2014), por exemplo. Após percebidas por receptores da membrana plasmática, é ativado um estado de alerta ou *priming*, pela produção e acúmulo de aminoácidos, açúcares, cálcio citosólico, espécies reativas de oxigênio (EROs), ácidos tricarbóxicos, despolarização da membrana, modificação pós-transcricional e ativação de genes relacionados a resistência (MAUCH-MANI et al., 2017).

A resistência das plantas pelo uso de microrganismos não patogênicos, como rizobactérias promotoras de crescimento vegetal, é mediada pela produção de ácido jasmônico (JA) e etileno (ET) e denominada resistência sistêmica induzida (RSI) (SALGADO et al., 2007). Por outro lado, quando decorrente da ação de patógenos necrotróficos, ou produtos químicos como o acibenzolar-S-metil (ASM), é denominado resistência sistêmica adquirida (RSA), a qual é mediada pelo sinalizador ácido salicílico (AS) (MOLINARI; BASER, 2010).

Dentre outros indutores químicos estão produtos como o cloreto férrico, fosfato de potássio dibásico e monobásico, e o silício (Si) (STANGARLIN et al., 2011).

Após o *priming*, o patógeno é percebido de forma mais eficiente e a resistência ao mesmo é superior, devido ao incremento na produção de fitoalexinas, glucosinolatos, compostos fenólicos, hormônios e proteínas relacionadas à patogênese (MAUCH-MANI et al., 2017). Dentre estas, destacam-se quitinases, glucanases e peroxidases, entre outras (JANNOEY et al., 2017).

Na indução de resistência contra o nematoide das galhas, é proposto que indução de resistência seja decorrente da redução da penetração, e desenvolvimento das células do sítio de alimentação, culminando em menor nutrição e desenvolvimento, acúmulo de proteínas PR, e aumento da atividade de enzimas relacionadas a resistência da planta e lignificação (OKA; COHEN, 2001).

O uso do silício como um indutor de resistência visando o manejo de doenças vem demonstrando diversos resultados positivos para o controle de patógenos fúngicos (PEREIRA et al., 2009; RAHMAN; WALLIS; UDDIN, 2015), bacterianos (KIIRIKA; STAHL; WYDRA, 2013; MBURU et al., 2016), virais (ELSHARKAWY; MOUSA, 2015) e nematódeos (GUIMARÃES et al., 2010; MATTEI et al., 2017b; ROLDI et al., 2017). É proposto que sua ação seja decorrente da polimerização e acúmulo de silício nas paredes celulares, promovendo maior rigidez dos tecidos, além de induzir produção de moléculas relacionadas à defesa, como compostos fenólicos e lignina, cuja síntese é dependente da atividade de enzimas como peroxidases, polifenoloxidasas e fenilalanina amônia-liase (GOMES et al., 2005; RAHMAN; WALLIS; UDDIN, 2015).

A mensuração da atividade enzimática é importante para confirmação da resistência de plantas. A infecção de plantas por nematoides ativa genes específicos, e síntese de enzimas como fenilalanina amônia-liase (PAL), polifenoloxidase (PPO) e peroxidase (POX) envolvidas na síntese de fitoalexinas, fenóis e lignina, e que podem apresentar efeito prejudicial aos nematoides fitoparasitas (SANKAR et al., 2017). Desse modo, a mensuração da indução da atividade dessas enzimas, perante a aplicação de indutores, torna-se importante na confirmação da eficácia desses na promoção da resistência das plantas aos patógenos.

A fenilalanina amônia-liase é uma enzima primordial da rota dos fenilpropanóides. A FAL é responsável pela desaminação da L-fenilalanina convertendo-a em compostos fenólicos, que podem ser utilizados na produção de ésteres, cumarinas, flavonoides e ligninas (STANGARLIN et al., 2011). A peroxidase também atua sobre a formação da lignina, reforçando a rigidez das paredes celulares, utilizando peróxido de hidrogênio como agente

oxidante de monolignóis (CESARINO et al., 2012; STANGARLIN et al., 2011). Os compostos fenólicos são substratos da polifenoloxidase, que atua na hidroxilação de monofenóis a *o*-difenois e destes a *o*-quinonas (compostos antimicrobianos), bem como no acoplamento oxidativo de radicais monolignóis, para produção da lignina (JUKANTI, 2017; RAHMAN; WALLIS; UDDIN, 2015).

Atualmente, existem poucos estudos investigando a resposta enzimática, ou genes relacionados, em plantas elicitadas e desafiadas por nematoides. Alguns estudos foram desenvolvidos nesse contexto nos patossistemas *Meloidogyne incognita* – cana-de-açúcar (GUIMARÃES et al., 2010), *Rotylenchulus reniformis* – abacaxi (CHINNASRI et al., 2016) e *Meloidogyne graminicola* – arroz (JI et al., 2015; ZHAN et al., 2018). Entretanto, sabe-se que a resposta à indução varia de acordo com o indutor utilizado, a planta induzida e o patógeno em questão.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase em plantas de soja induzidas com doses de silicato de potássio e desafiadas com *Meloidogyne incognita*.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Nematologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, no Campus Marechal Cândido Rondon, Brasil, localizado a 24° 33' Sul e 54° 04' Oeste, a altitude média de 420 metros, em câmara de crescimento (200 lumens, 28 °C ± 4 °C). Foi utilizado delineamento em blocos casualizados, com seis doses de silicato de potássio e três testemunhas adicionais [acibenzolar-S-metil (ASM), cloreto de potássio (KCl) e controle (não tratado e não inoculado)] (6 + 3), com três repetições e seis datas de coleta, totalizando 162 parcelas experimentais. A condução do experimento foi realizada de 11/10/2016 a 16/11/2016.

Foram produzidas plantas de soja, cultivar Syn. 1059, produzidas em bandejas de poliestireno expansível com substrato comercial Bioplant[®], 128 células. No estágio V1 foi realizado o transplante para vasos com 2,0 L de substrato (solo:areia, 2:1, v:v) estéril (autoclavado à 120 °C, 2 h). A análise de fertilidade do substrato revelou a necessidade de realização de adubação de base para a cultura da soja, pela disponibilização do equivalente à 180 Kg de P₂O₅ e 50 Kg K₂O, por hectare (EMBRAPA, 2013), realizada através da aplicação

de superfosfato simples e cloreto de potássio previamente ao transplante. Cada vaso recebeu três plantas, cada constituiu uma unidade experimental.

As plantas foram pulverizadas até ponto de molhamento foliar utilizando borrifador de pressão acumulada, dois dias após o transplante. Os tratamentos incluíram o uso de silicato de potássio [Silifort[®] (10% de Si e 10% de K₂O)], nas doses de 0%; 0,25%; 0,50%; 1,0%; 2,0% e 4,0% (equivalentes à aplicação de 0%; 0,025%; 0,05%; 0,1%; 0,2% e 0,4% de Si, respectivamente). Acibenzolar-S-metil (Bion[®]) à 200 mg L⁻¹ e cloreto de potássio (KCl) em solução aquosa à 10% de K₂O, à 4% (0,4% de K₂O) foram utilizados como testemunhas adicionais, similar àquele presente na maior dose testada de silicato de potássio. Para o tratamento controle foi utilizada água destilada, constituindo este o controle não tratado e não inoculado.

A população pura de *M. incognita* foi inoculada 10 dias após o transplante, oito dias após a indução, sendo obtida por extração à partir de raízes de tomateiro mantidos sob casa de vegetação, conforme metodologia descrita por Boneti e Ferraz (1981), adaptada a partir da metodologia de Hussey e Barker (1973). A suspensão obtida foi contada em câmara de Peters em microscópio óptico e calibrada para 750 ovos e eventuais juvenis de segundo estágio (J₂) de *M. incognita* mL⁻¹. Visando a distribuição homogênea do inóculo, foram perfurados quatro orifícios (0,5 cm de diâmetro) equidistantes, em torno de cada plantas, distribuindo 1 mL da suspensão em cada um dos mesmos, totalizando inóculo inicial de 3000 ovos e eventuais J₂ de *M. incognita* por planta.

A amostragem visando a avaliação do ensaio foi realizada aos 0, 4, 8, 12, 16 e 20 dias após a indução. Em cada avaliação um grupo distinto de plantas foi amostrado, por se tratar de amostragem destrutiva. As coletas foram realizadas pela retirada total das plantas e lavagem cuidadosa de seu sistema radicular, seguida de pesagem da massa fresca, embalagem em papel alumínio e acondicionamento em gelo. Posteriormente as amostras foram armazenadas à -20 °C.

4.2.1 Análises Bioquímicas

4.2.1.1 Obtenção Dos Extratos

As amostras de raiz foram trituradas em almofariz, utilizando nitrogênio líquido, adicionando na sequência 5 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,0) contendo 1% (p/p) de PVP (polivinilpirrolidona). Este macerado foi submetido a centrifugação (4000 x g à 4 °C, 20 min). O sobrenadante, extrato enzimático, foi recolhido com auxílio de pipeta automática e transferido para microtubos, sendo armazenados a -80 °C em ultrafreezer, sendo utilizado posteriormente na determinação do conteúdo protéico e atividade enzimática de peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase (BROETTO, 2014).

4.2.1.2 Quantificação De Proteínas Totais

A quantificação de proteínas totais foi realizada utilizando 30 µL de extrato enzimático, 750 µL de tampão fosfato 0,01 M (pH 6,0) e 200 µL do reagente de Bradford, homogeneizados em agitador de tubos, e submetido a leitura à 595 nm de absorbância em espectrofotômetro após 5 min de reação (BRADFORD, 1976). Cada amostra foi submetida a análise em triplicata. Os valores de absorbância foram plotados em curva padrão de concentrações de albumina de soro bovino (ASB) e a concentração de proteínas expressa em mg de proteína g⁻¹ de massa fresca de raízes.

4.2.1.3 Atividade De Peroxidase (POX; E.C. 1.11.1.7)

A atividade da peroxidase de guaiacol foi determinada através da conversão do guaiacol em tetraguaiacol, à 30 °C, através de método espectrofotométrico direto (HAMMERSCHMIDT; NUCKLES; KUC, 1982). Para a reação foi preparado substrato utilizando 100 mL de tampão fosfato 0,01 M (pH 6,0), suplementado com 250 µL de guaiacol e 306 µL de peróxido de hidrogênio. Por sua vez, a mistura da solução consistiu de 100 µL do extrato enzimático e 1400 µL de substrato. A reação foi realizada em espectrofotometro à 470 nm durante 2 min. Para determinação da atividade da peroxidase foi utilizada a diferença

entre o momento final e inicial da leitura, considerando coeficiente de extinção molar (ϵ) de $26,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Os resultados foram expressos em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

4.2.1.4 Atividade De Polifenoloxidase (PPO; E.C. 1.10.3.1)

A atividade da polifenol oxidase foi determinada usando a metodologia de Duangmal e Owusu Apenten, (1999). Realizando mistura de leitura utilizando $100 \mu\text{L}$ de extrato enzimático e $900 \mu\text{L}$ de substrato para enzima, preparado utilizando tampão fosfato de sódio $0,1 \text{ M}$ (pH 6,8) suplementado com catecol à $0,02 \text{ M}$. O ensaio consistiu-se na mensuração da oxidação do catecol convertido em quinona, reação mediada pela enzima. A leitura foi realizada em espectrofotômetro à 420 nm . Os resultados de atividade da polifenol oxidase consideraram coeficiente de extinção molar (ϵ) de $26,9 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e foram expressos em $\mu\text{mol catecol min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

4.2.1.5 Atividade De Fenilalanina Amônia-Liase (PAL; E.C. 4.3.1.5)

A atividade foi quantificada segundo colorimetria do ácido *trans*-cinâmico liberado do substrato fenilalanina (UMESHA, 2006). Para a reação foram utilizados $100 \mu\text{L}$ de extrato proteico, $400 \mu\text{L}$ de tampão Tris-HCl (pH 8,8) e $500 \mu\text{L}$ de L-fenilalanina diluída sob tampão Tris-HCl até concentração de $0,05 \text{ M}$, mantidos à $40 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 h. A reação foi paralisada pela adição de $60 \mu\text{L}$ de HCl (5 M). Para cada amostra foi preparado um controle utilizando $100 \mu\text{L}$ de extrato proteico e $900 \mu\text{L}$ de tampão Tris-HCl. A leitura das amostras foi realizada em 290 nm de absorbância em espectrofotômetro. A atividade da PAL foi determinada segundo diferença de leitura entre a amostra e o controle. Os valores resultantes foram aplicados a curva padrão de ácido *trans*-cinâmico e os resultados expressos em $\mu\text{g de ácido } trans\text{-cinâmico min}^{-1} \text{ g}^{-1}$ proteína.

4.2.2 Análises Estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e quando observada diferença significativa para o teste de F de Fisher, as médias foram submetidas ao teste Dunnett, ambos à 5% de probabilidade. As doses de silicato de potássio foram submetidas à análise de regressão, sob ajustes linear, quadrático e cúbico, a 5% de probabilidade, utilizando o software estatístico Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2011). Os dados obtidos para fenilalanina-amônia-liase foram submetidos a transformação por raiz de $(x+1)$ previamente a análise.

4.3 RESULTADOS

A análise de variância - Anava (Tabela 1) não demonstrou diferença significativa para o teor de proteínas totais, independentemente da fonte de variação analisada (doses de silicato de potássio, testemunhas e interação desses). A atividade de POX apresentou diferença significativa entre as testemunhas nos dias 4, 8, 12 e 20, bem como entre as testemunhas e as doses de silicato de potássio no dia 12, e para as doses de silicato de potássio aos 16 dias após a indução de resistência segundo teste de F (5% de probabilidade). A atividade da PPO não apresentou diferença significativa para as testemunhas e doses de silicato, de forma isolada ou em interação. A atividade da PAL apresentou significância no dia 12 para as doses de silicato e testemunhas de forma isoladas, no dia 16 para testemunhas e no dia 20 apenas para a interação entre as doses de silicato de potássio e as testemunhas.

Os dados referentes a análise de regressão das doses de silicato de potássio (não apresentados), independentemente do resultado da Anava, observou-se significância no dia 8 e 20 para o teor total de proteínas. Atividade de POX apresentou significância nos dias 12 e 16, enquanto PPO e PAL apenas para o dia 12 (dados não apresentados).

O teor de proteínas (Figura 1) apresentou no dia 8 melhor ajuste para a regressão quadrática ($y = 0,1305x^2 - 0,5503x + 2,0784$; $R^2 = 95,41\%$) demonstrando que menores teores de proteínas totais, equivalentes a $1,4983 \text{ mg g}^{-1}$ de massa fresca de raízes, aproximadamente 72% daquele observado na dose 0, seriam observados para a dose de 2,1% de silicato de potássio aplicado. Aos 20 dias resultado similar foi observado ($y = 0,1460x^2 - 0,6843x + 2,4970$; $R^2 = 80,29\%$), onde menor produção ocorreria para mesma dose ($1,7038 \text{ mg g}^{-1}$ de massa fresca de raízes, equivalente a 68% do teor presente em plantas submetidas a dose 0).

Tabela 1 - Análise de variância (Anava) segundo valores de quadrado médio para os fatores de variação (FV) doses de silicato de potássio – KSi (0%, 0,25%, 0,5%, 1,0%, 2,0% e 4,0%), testemunhas – T [controle (não inoculado e não tratado), cloreto de potássio – KCl (0,4% de K₂O) e acibenzolar-S-metil – ASM (200 mg L⁻¹)], interação dos referidos grupos e blocos para teor de proteínas totais (PT; mg g⁻¹ de massa fresca), atividade de peroxidase (POX), polifenoloxidase (PPO) e fenilalanina-amônia-liase (PAL) apresentadas por plantas de soja aos dias 0, 4, 8, 12, 16 e 20 após a indução, sendo inoculadas com *Meloidogyne incognita*, 8 dias após a indução.

FV (GL)	PT	POX	PPO	PAL
Dia 0				
Médias	2,4696	1,998	9,509	1,370
Dia 4				
KSi (5)	0,661 ^{ns}	55,189 ^{ns}	21,578 ^{ns}	0,3990 ^{ns}
T (2)	0,736 ^{ns}	124,269 [*]	21,197 ^{ns}	0,282 ^{ns}
KSi x T (1)	0,006 ^{ns}	6,735 ^{ns}	15,372 ^{ns}	0,246 ^{ns}
Blocos (2)	1,862 [*]	64,993 ^{ns}	419,477 [*]	0,679 [*]
Erro	0,313	33,296	30,614	0,1995
Médias	2,159	10,590	15,764	2,177
CV(%)	29,953	63,991	48,094	24,244
Dia 8				
KSi (5)	0,145 ^{ns}	5,603 ^{ns}	26,143 ^{ns}	0,134 ^{ns}
T (2)	0,046 ^{ns}	49,933 [*]	13,851 ^{ns}	0,010 ^{ns}
KSi x T (1)	0,259 ^{ns}	8,644 ^{ns}	25,613 ^{ns}	0,123 ^{ns}
Blocos (2)	1,050 [*]	8,834 ^{ns}	589,066 [*]	1,192 [*]
Erro	0,088	7,014	18,515	0,234
Médias	1,901	13,132	22,527	2,230
CV(%)	22,085	24,375	35,453	23,174
Dia 12				
KSi (5)	0,275 ^{ns}	49,706 ^{ns}	150,324 ^{ns}	1,320 [*]
T (2)	0,205 ^{ns}	269,899 [*]	106,549 ^{ns}	2,442 [*]
KSi x T (1)	0,100 ^{ns}	352,401 [*]	23,950 ^{ns}	1,654 ^{ns}
Blocos (2)	0,042 ^{ns}	72,516 ^{ns}	456,304 [*]	2,856 [*]
Erro	0,132	23,976	63,781	0,481
Médias	1,590	22,090	33,564	2,576
CV(%)	24,934	36,253	31,583	39,225
Dia 16				
KSi (5)	0,121 ^{ns}	50,659 [*]	61,221 ^{ns}	0,735 ^{ns}
T (2)	0,198 ^{ns}	12,621 ^{ns}	405,143 ^{ns}	2,094 [*]
KSi x T (1)	0,005 ^{ns}	6,606 ^{ns}	8,445 ^{ns}	0,040 ^{ns}
Blocos (2)	0,069 ^{ns}	4,535 ^{ns}	191,076 ^{ns}	0,327 ^{ns}
Erro	0,129	9,085	124,836	0,542
Médias	1,734	23,374	28,696	2,632
CV(%)	20,268	17,591	40,458	30,930
Dia 20				
KSi (5)	0,286 ^{ns}	13,753 ^{ns}	81,857 ^{ns}	0,166 ^{ns}
T (2)	0,536 ^{ns}	71,737 [*]	58,358 ^{ns}	0,175 ^{ns}
KSi x T (1)	0,219 ^{ns}	5,273 ^{ns}	142,310 ^{ns}	1,958 [*]
Blocos (2)	0,615 ^{ns}	56,354 [*]	130,540 ^{ns}	0,329 ^{ns}
Erro	0,205	12,094	46,430	0,254
Médias	2,196	13,604	29,298	2,304
CV(%)	24,031	32,999	27,374	23,861

GL: graus de liberdade; *e^{ns}: significativo e não significativo segundo teste de F à 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variância.

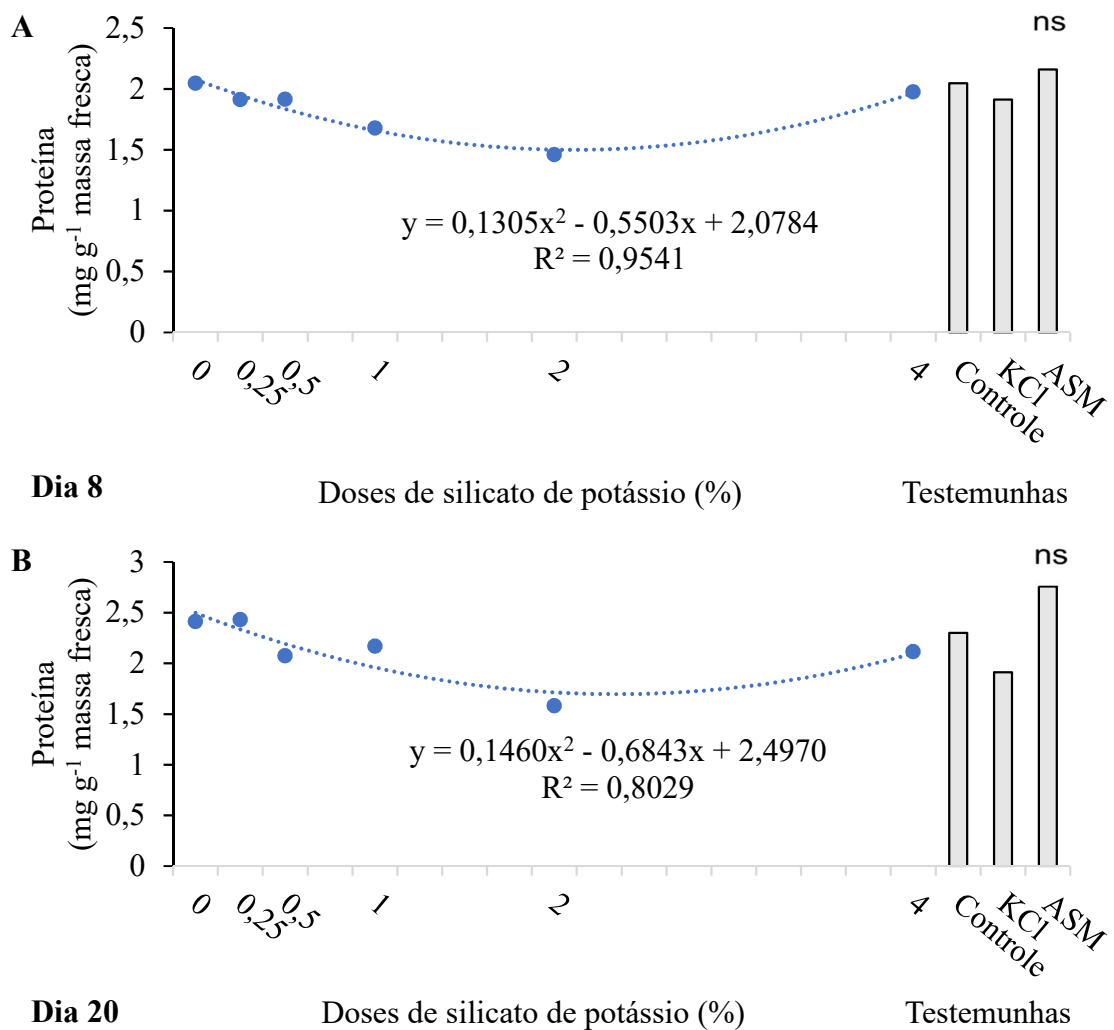


Figura 1 - Teor de proteínas totais (mg g⁻¹ massa fresca) em raízes nos dias 8 e 20, após tratamento visando indução de resistência, em plantas de soja inoculadas com *Meloidogyne incognita* e tratadas com doses de silicato de potássio e testemunhas [controle absoluto, cloreto de potássio – KCl (0,4% K₂O) e acibenzolar-S-metil – ASM (200mg L⁻¹)]. A inoculação ocorreu no 8º dia após a indução. Controle absoluto: plantas não tratadas e não inoculadas. ns: diferença não significativa entre doses de silicato de potássio e testemunhas (DMS Dia 8: 0,70; DMS Dia 20: 1,07), e testemunhas entre si (DMS Dia 8: 1,90; DMS Dia 20: 0,90), segundo teste de Dunnet à 5% de probabilidade de erro. A análise de regressão das doses de silicato de potássio apresentou significância para equação quadrática, à 5% de probabilidade de erro.

A atividade da peroxidase (Figura 2 e 3) no dia 4 demonstrou diferença significativa segundo teste de Dunnet, à 5% de probabilidade de erro, entre as testemunhas, onde ASM (6,19) e o controle absoluto (18,53) diferiram significativamente entre si. ASM apresentou atividade equivalente a 50% do controle absoluto. No dia 8 entretanto, KCl (10,07) e ASM (18,20) diferiram entre si, mas não diferiram do controle absoluto (13,53). Entretanto, no dia 12, as

atividades observadas para o KCl (33,39) e ASM (31,91) foram similares e superiores àquela do controle absoluto (16,30). Foram similares a este a atividade da peroxidase das doses de 0%, 0,25%, 0,5% e 1% (atividade média 17,19), enquanto 2% e 4% (atividade média de 24,23), apresentaram atividade intermediária a das testemunhas, não diferindo de ASM, KCl ou controle absoluto. A regressão das doses de silicato, ainda no dia 12, para a atividade de peroxidase dentro de cada dia, foi significativa e apresentou melhor ajuste para a regressão linear, a qual apresentou aumento da atividade da enzima conforme aumento da dose de silicato aplicada às plantas, tendo aumentado de 16,76 para 25,36 da dose 0 para a dose 4%. Contudo, a atividade da peroxidase aos 16 dias não apresentou diferença significativa segundo teste de F, apenas segundo a análise de regressão, segundo a qual, maior atividade foi apresentada por plantas tratadas com 2% de silicato, o qual favoreceu o incremento da atividade da enzima de 19,63 (dose 0) para 28,07, equivalente a aproximadamente 143% a atividade observada para dose 0. Por fim, no dia 20, KCl e ASM apresentaram atividade superior ao controle absoluto (Figura 3).

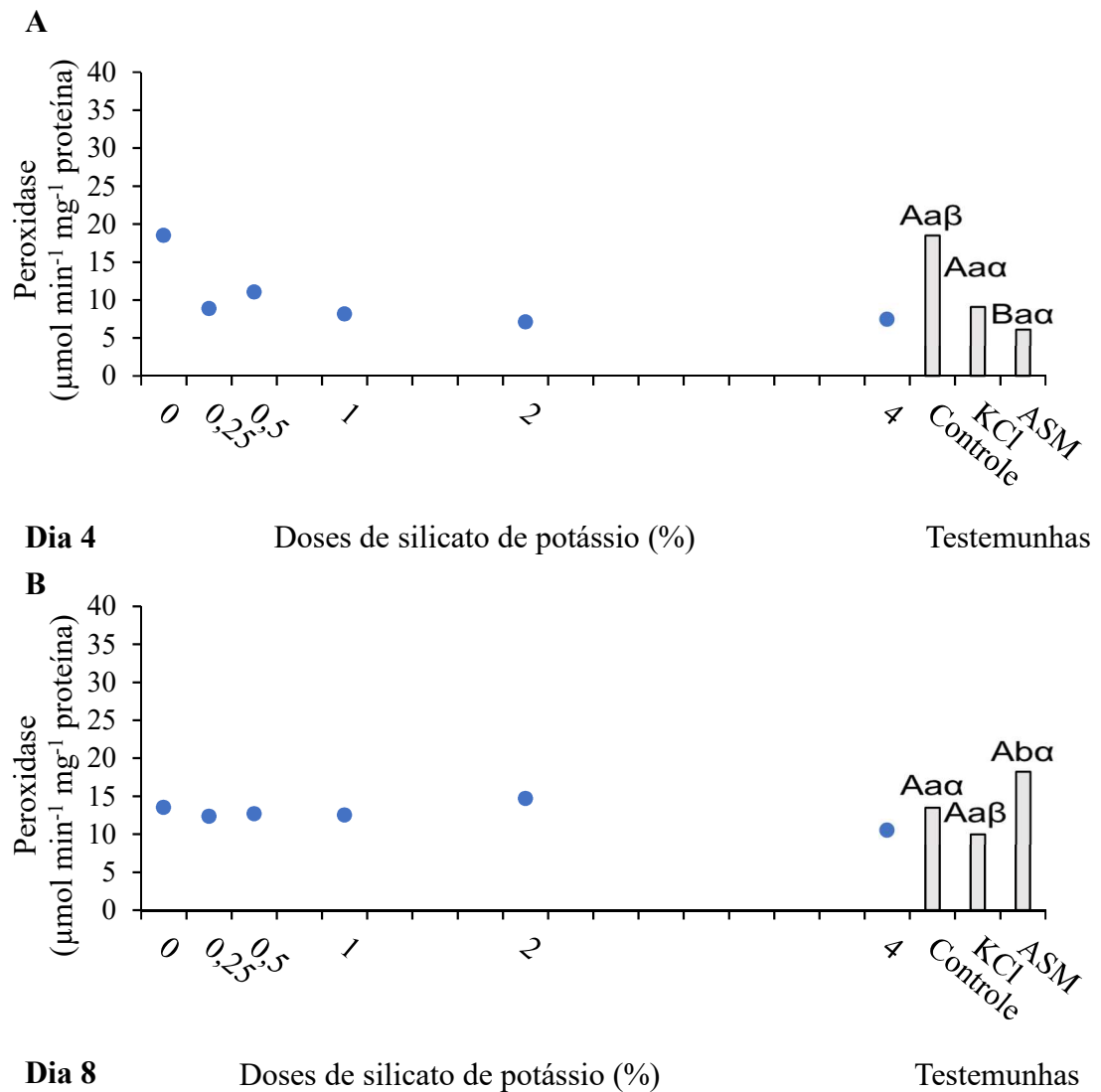


Figura 2 - Atividade da enzima peroxidase ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{proteína}$) nos dias 4 e 8 após tratamento visando indução de resistência, em plantas de soja tratadas com doses de silicato de potássio e testemunhas [controle absoluto, cloreto de potássio – KCl (0,4% K_2O) e acibenzolar-S-metil – ASM (200mg L^{-1})]. Controle absoluto: plantas não tratadas e não inoculadas. Testemunhas representadas por letras distintas diferem entre si (DMS Dia 4: 11,40; DMS Dia 8:5,23;), segundo teste de Dunnet à 5% de probabilidade de erro, onde as testemunhas controle absoluto, KCl e ASM são representadas por A, a e α , respectivamente. ns: não significativo.

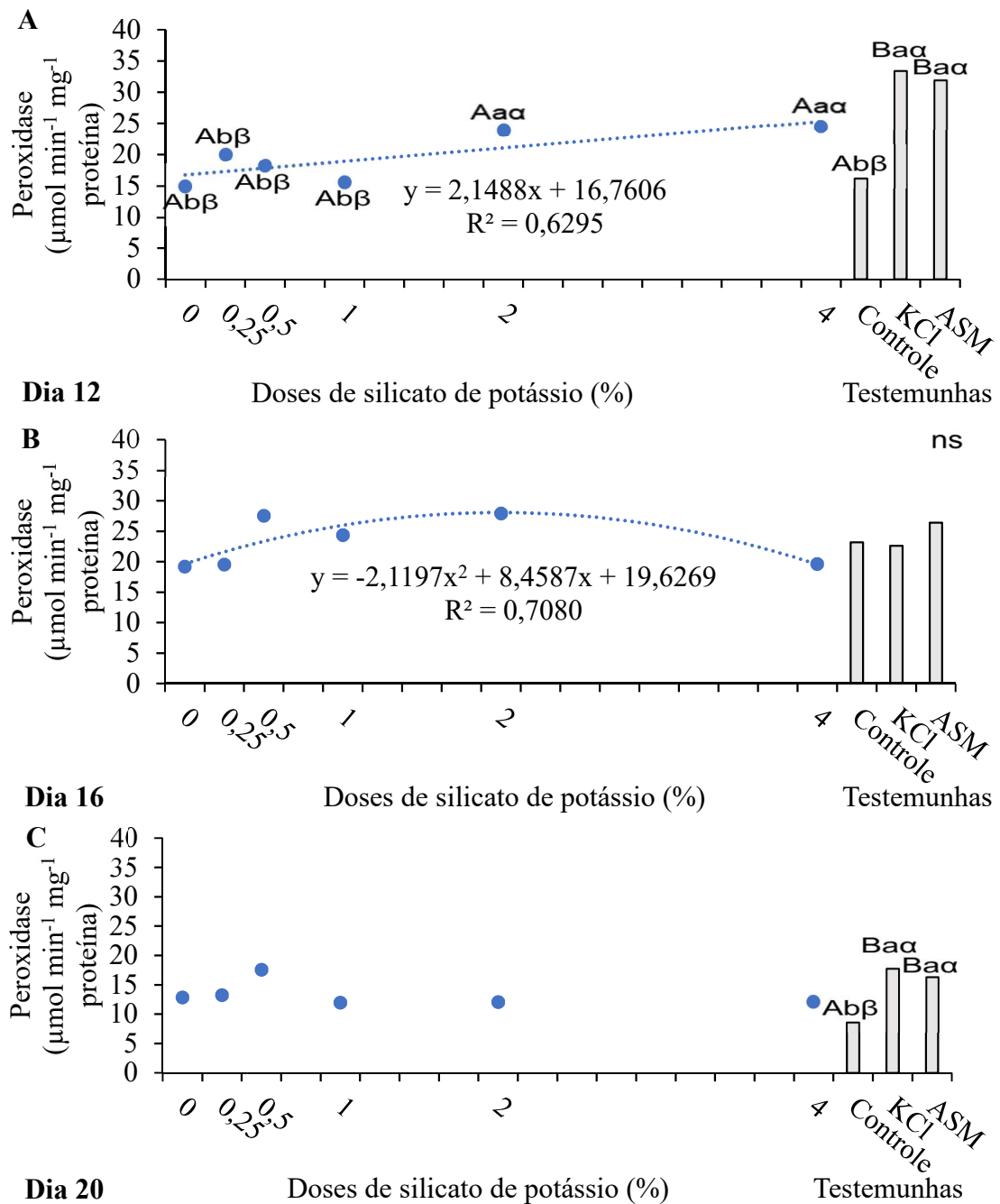


Figura 3 - Atividade da enzima peroxidase ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ proteína) nos dias 12, 16 e 20, após indução de resistência com doses de silicato de potássio e testemunhas [controle absoluto, cloreto de potássio – KCl (0,4% K_2O) e acibenzolar-S-metil – ASM (200mg L^{-1})], em soja inoculada com *Meloidogyne incognita*, no 8º dia após a indução. Controle absoluto: plantas não tratadas e não inoculadas. Doses de silicato de potássio e testemunhas representadas por letras distintas diferem entre si (DMS Dia 12: 6,23), e testemunhas representadas por letras distintas diferem entre si (DMS Dia 12: 9,68; DMS Dia 20: 6,87), segundo teste de Dunnett à 5% de probabilidade de erro, onde as testemunhas controle absoluto, KCl e ASM são representadas por A, a e α , respectivamente. ns: não significativo segundo teste de F à 5% de probabilidade. A análise de regressão das doses de silicato de potássio apresentou significância para equação quadrática no dia 16, e para equação linear no dia 12, à 5% de probabilidade de erro.

A atividade da polifenoloxidase (Figura 4) apresentou significância apenas para a regressão linear no 12º dia após a indução, 4 dias após a inoculação. Pode-se observar comportamento linear crescente, apontando aumento da atividade da peroxidase conforme incremento da dose de silicato aplicada. O incremento observado foi superior a 47% para as plantas tratadas com 4% de KSi, em relação aquele observado para as plantas inoculadas tratadas com a dose 0.

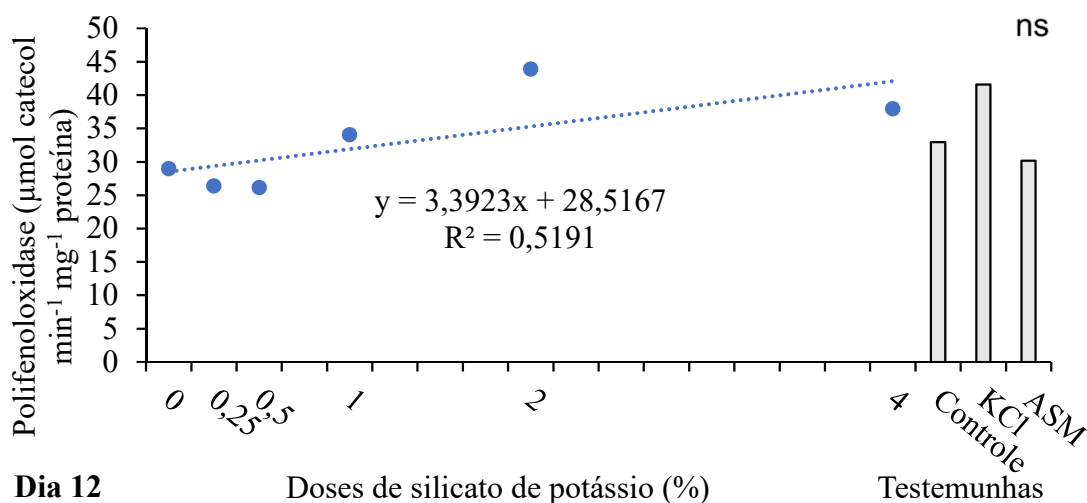


Figura 4 - Atividade da enzima polifenoloxidase ($\mu\text{mol catecol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{proteína}$) no 12º dia após tratamento visando indução de resistência em plantas de soja inoculadas com *Meloidogyne incognita* e tratadas com doses de silicato de potássio e testemunhas [controle absoluto, cloreto de potássio – KCl (0,4% K_2O) e acibenzolar-S-metil – ASM (200mg L^{-1})]. A inoculação ocorreu no 8º dia após a indução. Controle absoluto: plantas não tratadas e não inoculadas. ns: não significativo segundo teste de F à 5% de probabilidade. A análise de regressão das doses de silicato de potássio apresentou significância para equação linear, à 5% de probabilidade de erro.

A atividade da PAL (Figura 5) apresentou diferença apenas para as testemunhas nos dias 12 e 16. No dia 12, KCl e ASM apresentaram atividade similar, superior àquela apresentada pelo controle absoluto. A regressão quadrática para doses de silicato foi significativa no dia 12, sendo observado pico da atividade enzimática para a dose 2% (2,4246, mais de 72% superior àquela observada para a dose 0 = 1,4034). Entretanto, no dia 16, observou-se o uma inversão, o controle absoluto apresentou atividade superior ao KCl e ASM, diferindo do primeiro, contudo ASM apresentou similaridade a ambos. No dia 20, as testemunhas apresentaram atividade similar entre si e com relação as doses de silicato apenas a dose 0,25% diferiu da testemunha controle absoluto.

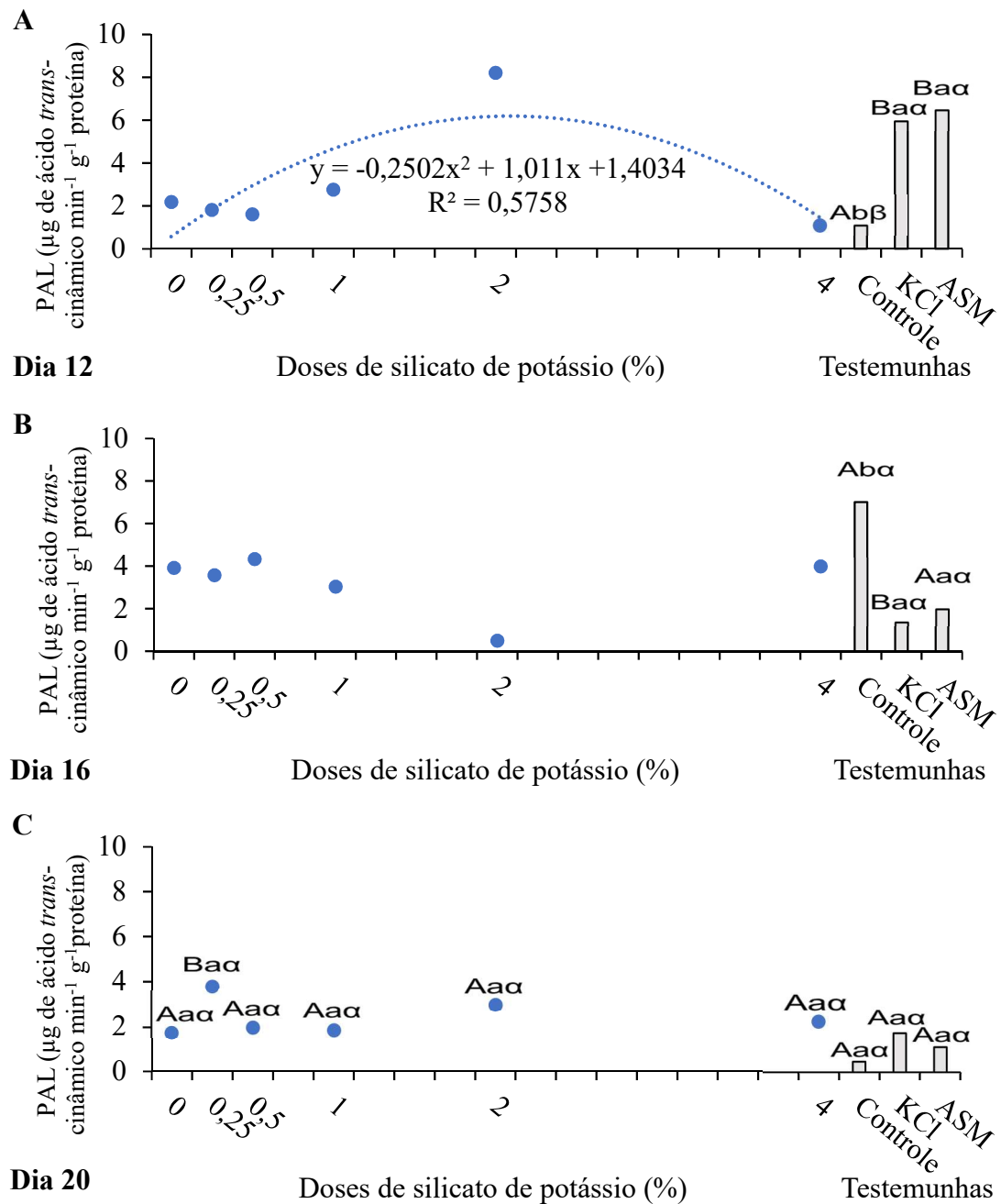


Figura 5 - Atividade da enzima fenilalanina-amônia-liase – PAL (μg de ácido *trans*-cinâmico min^{-1} proteína g^{-1}) nos dias 12, 16 e 20 após tratamento visando indução de resistência, em plantas de soja inoculadas com *Meloidogyne incognita* e tratadas com doses de silicato de potássio e testemunhas [controle absoluto, cloreto de potássio – KCl (0,4% K_2O) e acibenzolar-S-metil – ASM (200 mg L^{-1})]. A inoculação ocorreu no 8º dia após a indução. Controle absoluto: plantas não tratadas e não inoculadas. Doses de silicato de potássio e testemunhas representadas por letras distintas diferem entre si (DMS Dia 20: 1,19), e testemunhas representadas por letras distintas diferem entre si (DMS Dia 12: 1,37; DMS Dia 16: 1,46; DMS Dia 20: 1,00), segundo teste de Dunnett à 5% de probabilidade de erro, onde as testemunhas Controle, KCl e ASM são representadas por A, a e α , respectivamente. A análise de regressão das doses de silicato de potássio no dia 12 apresentou significância para equação quadrática, à 5% de probabilidade de erro.

4.4 DISCUSSÃO

A ausência de diferença significativa para o teor de proteínas totais apontada pelo teste F à 5% de probabilidade de erro, independentemente do indutor ou dose, pode indicar que o incremento na atividade de determinada enzima seja independente do teor proteico presente no tecido. Entretanto, a análise de regressão foi significativa aos 8 e 20 dias, apontando que menor teor de proteína seria acumulado no tecido radicular de plantas de soja induzidas pela aplicação de 2,1% de silicato de potássio, que apresentariam redução em torno de 30% no teor de proteínas totais em seus tecidos. Entretanto, a atividade enzimática, independentemente da enzima, aos 8 a 20 dias, não apresentou comportamento equivalente. Além do mais, a avaliação do teor de proteínas não se baseia apenas na mensuração das proteínas que atuam como enzimas, podendo mensurar concomitantemente proteínas estruturais de membrana (KRUGER, 2002).

Anteriormente à inoculação das plantas induzidas (dias 4 e 8 após a indução), a atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase, apresentada pelas testemunhas induzidas (KCl e ASM), não diferiu daquela apresentada pelo controle absoluto (plantas não tratadas e não inoculadas), assim como as doses de silício também não apresentaram diferença em relação às testemunhas. Logo, como a atividade das enzimas não apresentou diferença significativa em relação ao controle absoluto previamente à inoculação, tal resultado pode ser de grande valia, visto ser colocado que a indução de resistência por eliciadores, anteriormente à infecção por patógenos, pode ocasionar realocação da energia metabólica e recursos (HEIL; BALDWIN, 2002), resultando em perdas de produtividade. Nesse caso, tal processo não ocorre, confirmando hipótese anterior de que a indução mediada pelo silício oferece a vantagem de induzir a defesa de plantas tratadas apenas como resposta ao ataque do patógeno (CHÉRIF; ASSELIN; BÉLANGER, 1994). Isto indica que o silício aparentemente não apresenta efeito ativador de resistência em plantas sob ambiente favorável, sendo a ativação de mecanismos de defesa observada quando a planta é submetida a um fator de estresse, seja este biótico ou abiótico (KURABACHEW; WYDRA, 2014).

Aos 4 dias após a inoculação, dia 12 após a indução, as atividades da peroxidase e da fenilalanina amônia-liase foram superiores para as testemunhas KCl e ASM, em relação ao controle absoluto. As doses de 2% e 4% de silicato de potássio apresentaram atividade intermediária de peroxidase, em relação à das testemunhas, não diferindo das mesmas. O comportamento observado para KCl, ASM e controle absoluto se repetiu no dia 20, ou seja, 12

dias após a inoculação, tanto para peroxidase, quanto para fenilalanina amônia-liase. Para esta, observou-se ainda atividade similar à do KCl e ASM para silicato de potássio à 0,25%. Tais resultados demonstram o potencial desses indutores para o controle do nematoide das galhas. Estudos anteriores comprovaram a eficácia do ASM (KUBO; CRISTINA; MACHADO, 2009; PUERARI et al., 2013; SALGADO et al., 2007; SCHOUTEDEN et al., 2017) e de silicatos (GUIMARÃES et al., 2008; MATTEI et al., 2017; MELO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2012) no controle de nematoides do gênero *Meloidogyne*.

O ASM pulverizado à 50 mg L⁻¹ em feijão caupi e soja diminuiu a produção de ovos de *Rotylenchulus reniformis* e *M. javanica* em 50%, 30 dias após a inoculação (CHINNASRI; SIPES; SCHMITT, 2003). Os autores relatam que a movimentação e penetração dos nematoides em feijão caupi não foi afetada, mas o desenvolvimento e a fecundidade das fêmeas foram reduzidos em 50%. Para o silicato, estudos prévios indicam que a aplicação de diferentes fontes de silício foi capaz de reduzir a penetração de *M. javanica* nas raízes de feijão e soja, bem como o desenvolvimento dos juvenis do nematoide após a penetração e indução do sítio de alimentação (MATTEI et al., 2017b). Em ambos estudos, é colocado que tais resultados podem ser decorrentes da ação dos indutores sobre a redução da atividade e formação de sítios de alimentação, afetando o desenvolvimento e reprodução de nematoides dependentes de sítios de alimentação, processos esses decorrentes possivelmente da indução.

No caso do ASM o controle de nematoides mediado pela ativação de resistência foi confirmado pela indução de plantas de abacaxi inoculadas com *R. reniformis* e tratadas com este composto, onde se observou regulação positiva do gene PR-1, marcador da RSA, desde 1 dia após a indução até 3 semanas após a mesma, sendo esse o possível fator que levou a redução de 55% da população dos nematoides nas plantas tratadas com ASM à 100 ou 200 mg L⁻¹ (CHINNASRI et al., 2016). Com relação ao silício, a regulação da atividade de enzimas relacionadas a defesa vegetal é relatada em diferentes patossistemas, apresentando-se como forma eficiente de controle, incluindo doenças fúngicas como ferrugem asiática em soja (CRUZ et al., 2013), e nematoides de galhas em cana-de-açúcar (GUIMARÃES et al., 2010).

A análise do comportamento das doses de silicato de potássio mediante as análises de regressão permitiu observar incremento linear das atividades de peroxidase e polifenoloxidase, no dia 12 após indução, ou seja, 4 dias após a inoculação. Plantas tratadas com silicato de potássio à 4% apresentaram incremento da atividade de tais enzimas em torno de 50% se comparadas àquelas inoculadas mas tratadas com 0% de KSi. A fenilalanina amônia-liase, em mesma data, apresentou pico de atividade para a dose 2% de silicato de potássio, que quase quadruplicou a atividade em relação as plantas inoculadas e tratadas com silicato de potássio à

0%. Aos 16 dias após os tratamentos, ou 8 dias após inoculação, a atividade da peroxidase foi maior para plantas tratadas com silicato de potássio a 2%, o qual favoreceu o incremento da atividade da enzima em 43%, em relação à dose 0. Esses resultados apontam para maior atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase em plantas induzidas e inoculadas, em relação àquelas apenas inoculadas, indicando a ativação dos mecanismos de resistência mediada pelo silicato. A observação de maior atividade enzimática, em geral observada pela aplicação de maiores doses, pode ser explicada pela existência de duas famílias de genes distintas que atuam na RSA, neste caso, baixas doses de indutores colocam a planta em estado de alerta (*priming*), pela ativação de um grupo de genes, enquanto doses maiores ativam diretamente outro grupo de genes relacionados a resistência (CONRATH, 2006).

A utilização do silício, como indutor de resistência para controle do nematoide das galha, além de demonstrar resultados positivos no controle de tais parasitas em diferentes patossistemas - *Meloidogyne* spp. em pepino, alface e tomateiro (FREIRE, 2007; MELO et al., 2012), *M. exigua* Goeldi em café (SILVA et al., 2015), *M. incognita* (Kofoid e White) em cana-de-açúcar (GUIMARÃES et al., 2008, 2010) e tomateiro (MELO et al., 2012), *M. javanica* (Treb) Chitwood em bananeira (OLIVEIRA et al., 2012), soja, feijão e arroz (MATTEI et al., 2017) e *M. paranaensis* Carneiro et al. em café (ROLDI et al., 2017) – demonstra potencial como indutor de estresse abiótico, atribuído, entre outros fatores, ao aumento da eficiência de uso da água (DEBONA; RODRIGUES; DATNOFF, 2017). Esta, em plantas parasitadas por nematoides, pode reduzir o efeito negativo dos mesmos, pois nematoides das galhas (*Meloidogyne*) são capazes de ocasionar murchas (MUNAWAR et al., 2015), decorrentes da redução do desenvolvimento do sistema radicular e da capacidade de absorção e transporte de água das raízes para a parte aérea, podendo o silício amenizar esses efeitos.

O uso de indutores de resistência pode ser importante ferramenta a ser adotada dentro do manejo integrado de nematoides, por poderem ser utilizados conjuntamente com outros métodos de controle. Além disso, podem ser favoráveis para o manejo da quebra de resistência genética de cultivares resistentes (MOLINARI, 2016). O referido autor coloca ainda que a chance de um indutor apresentar custos metabólicos mínimos varia com a espécie da planta. Entretanto, também varia com o indutor. No presente ensaio, as massas fresca de raízes e parte aérea, e seca de parte aérea não foram afetadas, apontando para ausência ou custos metabólicos mínimos decorrentes da indução (dados não apresentados).

4.5 CONCLUSÕES

Com relação as testemunhas, comparado ao controle, ASM apresentou atividade superior ao controle aos 8 e 12 dias após a indução para peroxidase e aos 12 dias após a indução para fenilalanina-amônia-liase. KCl, por sua vez, apresentou atividade de peroxidase superior aquela do controle aos 12 e 20 dias após a indução para peroxidase e aos 12 dias após a indução para a fenilalanina-amônia-liase.

A aplicação de silicato de potássio apresentou aos 12 dias após a indução de resistência aumento crescente da atividade de peroxidase e polifenoloxidase, atingindo atividades máximas para 4% de silicato de potássio. Fenilalanina-amônia-liase apresentou atividade superior aos 12 dias após a indução para 2% de silicato de potássio. Esta mesma dose, levou a máxima atividade de peroxidase aos 16 dias após a indução. Por fim, aos 20 dias após a indução, a aplicação de 0,25% diferiu do controle apresentando valor superior ao controle.

Portanto, de modo geral, anteriormente à inoculação das plantas de soja induzidas com silicato de potássio as atividades das enzimas peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina-amônia-liase não foram afetadas. Incremento na atividade das referidas enzimas, em geral para doses superiores de silicato de potássio, foi observado após a inoculação do *M. incognita*. Tais resultados indicam a ocorrência de *priming*. Portanto, a aplicação de silicato de potássio visando a indução de resistência para o controle de *M. incognita* pode ser favorável, por não levar ao incremento da atividade enzimática previamente a inoculação, evitando gasto metabólico caso a planta não seja desafiada pelo nematoide.

4.6 REFERÊNCIAS

BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, p. 553, 1981.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 1976. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0003269776905273>>

BROETTO, F. **Métodos de trabalho em bioquímica vegetal e tecnologia de enzimas**. Botucatu: IBB, Cultura Acadêmica, 2014. 92p.

CESARINO, I. et al. An overview of lignin metabolism and its effect on biomass recalcitrance. **Brazilian Journal of Botany**, v. 35, n. 4, p. 303–311, 2012.

CHÉRIF, M.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R. R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. **Phytopathology**, v. 84, p. 236–242, 1994.

CHINNASRI, B. et al. Induction of pathogenesis-related gene 1 (PR-1) by acibenzolar-S-methyl application in pineapple and its effect on reniform nematodes (*Rotylenchulus reniformis*). **Agriculture and Natural Resources**, v. 50, n. 5, p. 368–373, 2016.

CHINNASRI, B.; SIPES, B. S.; SCHMITT, D. P. Effects of acibenzolar-S-methyl application to *Rotylenchulus reniformis* and *Meloidogyne javanica*. **Journal of Nematology**, v. 35, n. 1, p. 110–114, 2003.

CONRATH, U. Systemic acquired resistance. **Plant Signaling & Behavior**, v. 1, n. 4, p. 179–184, 2006.

CRUZ, M. F. A. Da et al. Inducers of resistance and silicon on the activity of defense enzymes in the soybean-*Phakopsora pachyrhizi* interaction. **Bragantia**, v. 72, p. 162–172, 2013.

DEBONA, D.; RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. Silicon's role in abiotic and biotic plant stresses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 55, n. 1, p. 85–107, 2017.

DIAS-ARIEIRA, C. R. et al. Induced resistance in the nematodes control. **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 20, p. 2312–2318, 2013.

DUANGMAL, K.; OWUSU APENTEN, R. K. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, v. 64, n. 3, p. 351–359, 1999.

ELSHARKAWY, M. M.; MOUSA, K. M. Induction of systemic resistance against *Papaya ring spot virus* (PRSV) and its vector *Myzus persicae* by *Penicillium simplicissimum* GP17-2 and silica (SiO₂) nanopowder. **International Journal of Pest Management**, v. 61, n. 4, p. 353–358, 2015.

EMBRAPA. Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2014. In: **Sistemas de Produção**. v. 16; 265 p. 2013.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039–1042, 2011.

FREIRE, E. S. **Controle dos nematóides de galhas (*Meloidogyne* spp.) e do cisto (*Heterodera glycines*) com silicatos**. 2007. 90 p. (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.

GOMES, F. B. et al. Resistance induction in wheat plants by silicon and aphids. **Scientia Agricola**, v. 62, n. 6, p. 547–551, 2005.

GUIMARÃES, L. M. P. et al. Efeito de metil jasmonato e silicato de potássio no parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zae* em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 50–55, 2008.

GUIMARÃES, L. M. P. et al. Eficiência e atividade enzimática elicitada por metil jasmonato e silicato de potássio em cana-de-açúcar parasitada por *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 1, p. 11–15, 2010

HAMMERSCHMIDT, R.; NUCKLES, E. M.; KUĆ, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**, v. 20, n. 1, p. 73–82, 1982.

HEIL, M.; BALDWIN, I. T. Fitness costs of induced resistance: emerging experimental support for a slippery concept. **Trends in Plant Science**, v. 7, n. 2, p. 61–67, 2002.

HENRY, G.; THONART, P.; ONGENA, M. PAMPs, MAMPs, DAMPs and others: an update on the diversity of plant immunity elicitors. **Biotechnology, Agronomy, Society and Environment**, v. 16, n. 2, p. 12, 2012.

HUSSEY, S. R.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Report**, v. 57, p. 1025–1028, 1973.

JANNOEY, P. et al. Expression analysis of genes related to rice resistance against brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. **Rice Science**, v. 24, n. 3, p. 163–172, 2017.

JI, H. et al. B-aminobutyric acid – induced resistance against root-knot nematodes in rice is based on increased basal defense. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 28, n. 5, p. 519–533, 2015.

JUKANTI, A. Polyphenol oxidases (PPOs) in plants. In: **Polyphenol Oxidases (PPOs) in Plants**. Singapore: Springer Singapore, 2017. p. 93–106.

KIIRIKA, L. M.; STAHL, F.; WYDRA, K. Phenotypic and molecular characterization of resistance induction by single and combined application of chitosan and silicon in tomato against *Ralstonia solanacearum*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 81, p. 1–12, 2013.

KRUGER, N. J. The Bradford method for protein quantitation. In: WALKER, J. M. (Ed.). **The Protein Protocols Handbook**. [s.l.] : Humana Press, 2002. p. 15–21.

KUBO, R. K.; CRISTINA, A.; MACHADO, Z. Efeito do tratamento de sementes no controle de *Rotylenchulus reniformis* em duas cultivares de algodão. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 7, p. 1716–1724, 2009.

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

KURABACHEW, H.; WYDRA, K. Induction of systemic resistance and defense-related enzymes after elicitation of resistance by rhizobacteria and silicon application against *Ralstonia solanacearum* in tomato (*Solanum lycopersicum*). **Crop Protection**, v. 57, p. 1–7, 2014.

LIMA, F. S. O. et al. Nematodes affecting soybean and sustainable practices for affecting their management nematodes soybean and sustainable practices for their management. In: KASAI,

M. (Ed.). **Soybean: The Basis of Yield, Biomass and Productivity**. 1. ed. Rijeka, Croatia: InTech Open, 2016. p. 95–110.

MALINOVSKY, F. G.; FANGEL, J. U.; WILLATS, W. G. T. The role of the cell wall in plant immunity. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. May, p. 1–12, 2014.

MATTEI, D. et al. Influence of Rocksil[®], Silifort[®] and wollastonite on penetration and development of *Meloidogyne javanica* in poaceae and fabaceae. **Journal of Phytopathology**, v. 165, n. 2, p. 91–97, 2017.

MAUCH-MANI, B. et al. Defense priming: an adaptive part of induced resistance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 68, n. 1, p. 485–512, 2017.

MELO, T. A. de et al. Produtos naturais aplicados para manejo de *Meloidogyne incognita* em tomateiros. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 3, p. 223–227, 2012.

MOLINARI, S. Systemic acquired resistance activation in solanaceous crops as a management strategy against root-knot nematodes. **Pest Management Science**, v. 72, n. 5, p. 888–896, 2016.

MOLINARI, S.; BASER, N. Induction of resistance to root-knot nematodes by SAR elicitors in tomato. **Crop Protection**, v. 29, n. 11, p. 1354–1362, 2010.

MUNAWAR, M. et al. Bio-management of tomato wilt complex caused by *Meloidogyne incognita* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Nematology**, v. 17, n. 4, p. 479–485, 2015.

OKA, Y.; COHEN, Y. Induced resistance to cyst and root-knot nematodes in cereals by DL- β -amino-n-butiric acid. **European Journal of Plant Pathology**, v. 2, p. 219–227, 2001.

OLIVEIRA, R. M. et al. Efeito do silicato de cálcio e magnésio sobre a reprodução de *Meloidogyne javanica* e desenvolvimento de mudas de bananeira Prata-Anã. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 2, p. 409–415, 2012.

PEREIRA, S. C. et al. Efeito da aplicação foliar de silício na resistência à ferrugem e na potencialização da atividade de enzimas de defesa em cafeeiro. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. August, p. 223–230, 2009.

PERRY, R. N.; MOENS, M. (EDS.). **Plant Nematology**. London: CABI, 2006. 447 p.

PUERARI, H. H. et al. Evaluation of acibenzolar-S-methyl for the control of *Meloidogyne javanica* and effects on the development of susceptible and resistant soybean. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 1, p. 44–48, 2013.

RAHMAN, A.; WALLIS, C. M.; UDDIN, W. Silicon-induced systemic defense responses in perennial ryegrass against infection by *Magnaporthe oryzae*. **Phytopathology**, v. 105, n. 6, p. 748–757, 2015.

ROLDI, M. et al. Control of *Meloidogyne paranaensis* in coffee plants mediated by silicon. **Nematology**, v. 19, n. 2, p. 245–250, 2017.

SALGADO, S. M. D. L. et al. Efeito de indutores de resistência sobre *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1007–1013, 2007.

SANKAR, C. et al. Induction of resistant to *Radopholus similis* and defence related mechanism in susceptible and resistance banana hybrids infected with *Radopholus similis*. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 4, p. 1668–1684, 2017.

SCHOUTEDEN, N. et al. Direct nematicidal effects of methyl jasmonate and acibenzolar-S-methyl against *Meloidogyne incognita*. **Natural Product Research**, v. 31, n. 10, p. 1219–1222, 2017.

SILVA, R. V. et al. Effects of silicon on the penetration and reproduction events of *Meloidogyne exigua* on coffee roots. **Bragantia**, v. 74, n. 2, p. 196–199, 2015.

STANGARLIN, J. R. et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18–46, 2011.

UMESHA, S. Note: Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, v. 34, n. 1, p. 68–71, 2006.

ZHAN, L. et al. Priming effect of root-applied silicon on the enhancement of induced resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* in rice. **BioMed Central Plant Biology**, v. 18, n. 50, p. 1–12, 2018.

5 CAPÍTULO 4: ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS E CONTEÚDO DE FENÓIS TOTAIS EM RAÍZES DE SOJA INOCULADA COM *Meloidogyne incognita* E INDUZIDA COM SILICATO DE POTÁSSIO

Resumo: A aplicação de silício às plantas pode reduzir estresses abiótico e biótico, pelo fortalecimento das paredes celulares e enrijecimento de tecidos, bem como pela produção de compostos antimicrobianos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o teor de compostos fenólicos e de lignina e alterações anatômicas em soja induzida com diferentes doses de silicato de potássio e desafiadas com *Meloidogyne incognita*. Soja, cv. Syn. 1059, foi induzida pela pulverização de silicato de potássio - KSi (Silifort[®]) à 0%, 0,25%, 0,5%, 1%, 2% e 4%. Cloreto de potássio 0,04% de K₂O, ASM (Bion[®], 200 mg L⁻¹) e plantas não tratadas e não inoculadas foram utilizados como testemunhas. Oito dias após os tratamentos foi realizada a inoculação com 3 mil ovos e eventuais juvenis de *M. incognita*. Vinte dias após a indução foram coletadas amostras radiculares para análise de fenóis e lignina e realização de cortes à fresco, coloração e análise dos tecidos. Os dados foram submetidos à análise de variância e quando significativa, foi procedido teste de Dunnett (5% de probabilidade de erro). As doses foram submetidas à análise de regressão linear, quadrática e cúbica (5% de probabilidade de erro). O incremento nas doses de KSi favoreceu o acúmulo de fenóis e decréscimo de lignina. Compostos fenólicos apresentaram média inferior ao controle para plantas tratadas com KSi, mas superior ao KCl e ASM, contudo, o teor de lignina, em geral, não diferiu do controle. O diâmetro da raiz e de vasos do xilema não foi afetado pelo KSi. O diâmetro do floema foi menor para KSi 1% e maior para a concentração calculada de 3,3%, enquanto o diâmetro das células deste foi mínimo para a concentração 0,6%, e máximo para 4% de KSi, assemelhando-se ao verificado para o diâmetro das células do xilema, com valores mínimos para 1,3% de KSi e máximo para 3,8% de KSi. A espessura da parede celular (PC) das células do xilema foi menor para a concentração calculada de 2,9% de KSi e maior para KSi 0,8%, comportamento inverso aquele apresentado para espessura da PC das células do floema e da estria de Caspary. Portanto, a aplicação de KSi pode influenciar os teores de compostos fenólicos e lignina, além de alterar características anatômicas em soja submetida a aplicação de doses de silicato de potássio.

Palavras-chave: Nematóide das galhas. Indução de resistência. Silício. Parede celular. Lignina.

5.1 INTRODUÇÃO

A adequada nutrição das plantas favorece o equilíbrio metabólico, visto que os nutrientes exercem funções diversas no vegetal e apresentam requerimentos distintos. Nesse contexto, o fornecimento adequado de nutrientes torna as plantas menos suscetíveis ao ataque de pragas e desenvolvimento de doenças, podendo a nutrição mineral reduzir a necessidade de adoção de outros métodos de controle (SANTANA-GOMES et al., 2013). Além disso, alguns nutrientes vem sendo estudados quanto ao seu potencial de indução de resistência, apresentando resultados positivos para o controle de doenças em plantas, destacando-se os nutrientes potássio (K) e silício (Si) (VASANTHI; SALEENA; ANTHONI RAJ, 2014; ZÖRB; SENBAYRAM; PEITER, 2013).

O K é um macronutriente demandado em elevada quantidade pelas plantas, encontrado sob forma de íon monoatômico no solo, sendo neste meio um nutriente bastante dinâmico e cuja absorção ocorre de forma direta (RANADE-MALVI, 2011). É considerado o cátion mais abundante nas plantas, apresentando diversas funções como osmorregulação, manutenção do potencial de membranas, influência sobre a fotossíntese, ativação de diversas enzimas e síntese de ATP e proteínas (HAFSI; DEBEZ; ABDELLY, 2014).

O Si compõe em média 28% da crosta terrestre, sendo a maior porção no solo presente sob forma de silicatos e sílica, à partir dos quais ocorre a liberação para solução, influenciada pelo pH, de modo que em solos agricultáveis os teores variam de 0,1 a 0,6 mM de H_4SiO_4 , forma passível de absorção pelas plantas (TUBANA; BABU; DATNOFF, 2016). Nas plantas o Si favorece a redução da severidade e/ou incidência de doenças, decorrente da polimerização deste nas paredes celulares, incrementando rigidez aos tecidos, podendo atuar induzindo a produção de moléculas relacionadas à defesa, como compostos fenólicos e lignina (GOMES et al., 2005; RAHMAN; WALLIS; UDDIN, 2015). Quanto a sua polimerização nos tecidos vegetais, estudos indicam que o incremento de rigidez confere porte mais ereto as plantas, minimizando autossombreamento, além de fornecer incremento nos teores de massa seca acumulados (OLIVEIRA et al., 2012), o que pode ser consequência da melhoria nas condições para o processo fotossintético.

A indução de resistência em plantas resulta na ativação de mecanismos de defesa latentes, decorrente da aplicação de agentes químicos ou ação de patógenos e da ação de microrganismos benéficos, processos nominados de resistência sistêmica adquirida (RSA) e

resistência sistêmica induzida (RSI), respectivamente, e que apesar de distintos apresentam fenótipos semelhantes e potencial para o controle de nematoides (KATH et al., 2017). A infecção de plantas por nematoides ativa genes específicos, e síntese de enzimas como fenilalanina amônia-liase, polifenol oxidase e peroxidase, envolvidas na síntese de fenóis e lignina, e que podem apresentar efeito prejudicial à ação de nematoides fitoparasitas (SANKAR et al., 2017). Logo, a aplicação de indutores previamente a infecção pelos nematoides pode antecipar a produção de tais compostos, culminando em resposta de controle eficiente.

Atualmente, existem poucos estudos sobre a atividade de K e Si aplicados conjuntamente, sob forma de silicato de potássio, entretanto, os resultados demonstram efetividade na indução de resistência contra *M. incognita* (Kofoid e White) em cana-de-açúcar, alface e pepino (FREIRE, 2007; GUIMARÃES et al., 2008, 2010), *M. javanica* em arroz, feijão e soja (MATTEI et al., 2017b), *M. paranaensis* Carneiro et al. em café (ROLDI et al., 2017) e *Heterodera glycines* em soja (FREIRE, 2007).

Outros estudos comprovam a eficiência do uso de potássio, através da aplicação de cloreto de potássio, para controle de *M. paranaensis* em café (ROLDI et al., 2017), e por fosfito de potássio para o controle de *Pratylenchus brachyurus* em milho (DIAS-ARIERIA et al., 2012), e *Heterodera avenae* em trigo e *M. marylandi* em trigo e aveia (OKA; TKACHI; MOR, 2007), e de silício, através do silicato de cálcio, para o controle de *M. incognita* em tomateiro e pepineiro, *M. javanica* em pepineiros (FREIRE, 2007) e *M. exigua* Goeldi em café (SILVA et al., 2015), silicato de cálcio e magnésio para o controle de *M. javanica* em bananeira (OLIVEIRA et al., 2012), e outras fontes para *M. incognita* (Kofoid e White) em tomate (MELO et al., 2012), *M. javanica* em arroz, feijão, e soja (MATTEI et al., 2017b) e *M. graminicola* em arroz (ZHAN et al., 2018).

Apesar de estudos demonstrando controle pela aplicação de silicato de potássio, bem como por outras fontes de Si e/ou K, quando se busca saber a respeito das alterações estruturais, os estudos são ainda mais escassos. Avaliando cortes histológicos de raízes de café submetidas a aplicação de silicato de potássio e desafiadas com *M. paranaensis* (ROLDI, 2015) não se observou espessamento da parede celular, entretanto, melhora na organização celular e maior intensidade de fluorescência na segunda camada de células da exoderme foram notadas. Em arroz tratado com silício, observou-se incremento na resposta de resistência contra *M. graminicola* em função de maior deposição de calose nas galhas, bem como o acúmulo de peróxido de hidrogênio e compostos fenólicos (ZHAN et al., 2018).

Contudo, o comportamento das plantas não segue um padrão generalista, podendo diferir em função da interação indutor-planta-patógeno. A interação planta-indutor, no caso do

silício, pode ser influenciada pelo modo de absorção deste, o qual pode ocorrer de forma ativa, passiva ou por mecanismos de rejeição, o que faz com que plantas apresentem capacidade distinta de absorção e acúmulo de Si (TUBANA; BABU; DATNOFF, 2016). Considerando este, são ditas acumuladoras culturas com concentração maior que 4% de Si, intermediárias aquelas com teores entre 2% e 4%, e não acumuladoras as que apresentam percentagem de Si menor que 2%, sendo observado nesse grupo as leguminosas (VASANTHI; SALEENA; ANTHONI RAJ, 2014).

O comportamento de plantas submetidas a condições de estresse abiótico e tratadas com silício é algo bastante estudado. É denotado que plantas submetidas a aplicações de silício se tornam mais resistentes a diversas estresses abióticos, sejam eles decorrentes de salinidade, temperaturas muito baixas ou altas, seca e até mesmo desbalanços nutricionais (MA; YAMAJI, 2015). Plantas de milho, submetidas a estresse abiótico em função da presença de cádmio no meio de crescimento, quando tratadas com silício apresentaram melhor desenvolvimento, sendo notada influência na formação das estrias de Caspary e tecidos vasculares (VACULÍK et al., 2012). Por sua vez, plantas de arroz conduzidas sob deficiência de silício apresentam níveis de celulose e lignina superiores, possivelmente para compensar a falta de Si na estruturação dos tecidos, sendo notado ainda que quando presente interfere na expressão de genes que regulam lignificação e suberização (MEHARG; MEHARG, 2015). Portanto, possivelmente a redução dos estresses bióticos e abióticos nas plantas pode ser decorrente de melhoria na estruturação dos tecidos vegetais durante o processo de formação, em função da disponibilidade do referido nutriente.

Diante do exposto, cogita-se que a resposta das plantas de soja à aplicação do silício possa resultar em incremento de resistência ao nematoide das galhas decorrente de acúmulo de lignina, compostos fenólicos e espessamento de parede celular, além de favorecer melhor arranjo das células no tecido vegetal. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o teor de compostos fenólicos, lignina e alterações estruturais em soja induzida com doses de silicato de potássio e desafiadas com *Meloidogyne incognita*.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Preparação E Condução Do Ensaio Experimental

O ensaio experimental foi realizado no laboratório de Nematologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, no Campus Marechal Cândido Rondon, Brasil, localizado a 24° 33' Sul e 54° 04' Oeste, a altitude média de 420 metros, sob câmara de crescimento (200 lumens, 28 °C ± 4 °C), regulada para prover 12 horas de luz. Foi utilizado delineamento em blocos casualizados, com seis doses de silicato de potássio e três testemunhas adicionais [acibenzolar-S-metil (ASM), cloreto de potássio (KCl) e controle (não tratado e não inoculado)] (6 + 3), com três repetições. A condução do experimento foi realizada de 11/10/2016 a 16/11/2016.

Foram produzidas plantas de soja, cultivar Syn. 1059, em bandejas de poliestireno expansível com substrato comercial Bioplant[®], 128 células. No estágio fenológico V1 foi realizado o transplante para vasos com 2,0 L de substrato (solo:areia, 2:1, v:v) estéril (autoclavado à 120 °C, 2 h). A análise de fertilidade do substrato revelou a necessidade de realização de adubação de base para a cultura da soja, pela disponibilização do equivalente à 180 Kg de P₂O₅ e 50 Kg K₂O, por hectare (EMBRAPA, 2013), realizada através da aplicação de superfosfato simples e cloreto de potássio previamente ao transplante. Cada vaso recebeu três plantas e cada uma passou a constituir uma unidade experimental.

Durante a condução do ensaio a irrigação dos vasos foi realizada observando demanda hídrica das plantas e disponibilizando água para cada unidade experimental em iguais teores, utilizando béquer.

5.2.2 Aplicação Dos Tratamentos

As plantas foram pulverizadas até ponto de molhamento foliar utilizando borrifador de pressão acumulada, dois dias após o transplante. Os tratamentos incluíram o uso de silicato de potássio [Silifort[®] (10% de Si e 10% de K₂O)] nas doses 0%; 0,25%; 0,50%; 1,0%; 2,0% e 4,0% (equivalentes à aplicação de 0%; 0,025%; 0,05%; 0,1%; 0,2% e 0,4% de Si e K, respectivamente). Acibenzolar-S-metil (Bion[®]) 200 mg L⁻¹ e cloreto de potássio (KCl) em solução aquosa à 0,4% de K₂O foram utilizados como testemunhas adicionais, similar àquele

presente na maior dose testada de silicato de potássio. Para o tratamento controle foi utilizada água destilada, constituindo este o controle não tratado e não inoculado.

5.2.3 Obtenção Do Inóculo E Inoculação

A inoculação foi procedida 10 dias após o transplante, oito dias após a indução. A população pura de *M. incognita* foi obtida à partir de raízes de tomateiro mantido em casa de vegetação. Para extração de ovos e eventuais juvenis de segundo estágio (J_2) foi utilizada a metodologia de flotação centrífuga (BONETI; FERRAZ, 1981; HUSSEY; BARKER, 1973). A suspensão obtida foi contada em câmara de Peters em microscópio óptico e calibrada para 750 ovos e J_2 de *M. incognita* mL⁻¹. Visando a distribuição homogênea do inóculo, foram perfurados quatro orifícios equidistantes, em torno de cada plantas, distribuindo 1 mL da suspensão em cada um dos mesmos, totalizando inóculo inicial de 3000 ovos e eventuais J_2 de *M. incognita* por planta.

5.2.4 Realização Da Amostragem

A amostragem visando a avaliação do ensaio foi realizada aos 20 dias após a indução. A retirada das plantas e lavagem das raízes foi realizada cuidadosamente, seguida de pesagem da massa fresca. A amostra visando análise de fenóis e de lignina, equivalente à aproximadamente 0,3 g, foi embalada em papel alumínio e acondicionada em gelo, sendo posteriormente armazenadas à -20 °C. A amostra radicular visando realização de cortes histológicos, aproximadamente 0,5 g, foi obtida a partir da porção mediana de raízes secundárias de maior diâmetro apresentadas pelas plantas. Estas foram lavadas cuidadosamente em água destilada e acondicionadas em coletor universal plástico contendo solução fixadora FAA (1:1:18; v:v:v; formol:ácido acético glacial:álcool atílico 50%) por 72 horas. Posteriormente, as amostras foram transferidas para coletores contendo álcool etílico (70%) e armazenadas em geladeira a ± 4 °C.

5.2.5 Compostos Fenólicos Totais

As amostras coletadas foram submetidas à extração e mensuração do teor de compostos fenólicos totais, similar à metodologia descrita por Kuhn (2007). Inicialmente, foi realizada trituração utilizando nitrogênio líquido e homogeneização em 1,5 mL de metanol 80%, acondicionado a amostra em microtubo para centrífuga de 2 mL. Estes foram submetidos à agitação em agitador rotativo por 15 horas em *overnight*. Procedeu-se então a centrifugação à 12.000 g durante 5 minutos. O sobrenadante obtido passou a constituir o extrato metanólico, que foi transferido para outro microtubo, enquanto o pellet foi separado para determinação do teor de lignina. A reação para determinação do teor de fenóis totais foi procedida utilizando 150 µL de extrato metanólico misturados à 150 µL de reagente Folin-Ciocalteu (0,25N), aguardando 5 min. Na sequência, 150 µL de Na₂CO₃ (1 M), foram adicionados e homogeneizados. Após 10 minutos, foi acrescido 1 mL de água destilada e deionizada à mistura, que permaneceu por mais 1 hora em reação. Todos os processos de reação foram conduzidos à temperatura ambiente de 25 °C ± 2 °C. Como branco utilizou-se metanol à 80% para proceder todo processo de reação.

A leitura da absorbância da reação foi realizada em espectrofotômetro à 725 nm, utilizando cubeta de vidro. Os valores de absorbância obtidos foram utilizados para o cálculo do teor de compostos fenólicos totais, baseados em curva de catecol, expressando em equivalência a mg de catecol por grama de tecido (RODRIGUES et al., 2005).

5.2.6 Lignina

O pellet obtido após retirada do extrato metanólico, conforme o processo anteriormente descrito para realização da avaliação do teor de compostos fenólicos, foi utilizado para mensuração do teor de lignina presente no tecido. Para este, o resíduo retido no microtubo para centrífuga foi submetido à lavagem utilizando 1,5 mL de água destilada e centrifugando a 10.000 g por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e o resíduo submetido à secagem em estufa com circulação de ar forçada a 65 °C durante 24 horas.

O resíduo seco insolúvel em álcool contendo lignina e ácidos fenólicos esterificados da parede celular foi utilizado para determinação de lignina, segundo metodologia de Barber e Ride (1988). A partir do resíduo seco foram pesados 20 mg em balança analítica de precisão,

sendo adicionados a esse 1,5 mL de solução de ácido tioglicólico em HCl 2 M (1:10, v:v), submetidos à homogeneização e ao banho maria a 100°C por 4 horas. Posteriormente, para refrigeração rápida dos tubos, os mesmos foram imersos em gelo. Foi realizada centrifugação à 12.000 g durante 10 minutos, seguida de descarte do sobrenadante e lavagem do precipitado, utilizando 1,5 mL de água destilada, seguida de nova centrifugação (10.000 g por 10 minutos) e descarte do sobrenadante. O precipitado lavado foi ressuspensão em 1,5 mL em NaOH 0,5 M para agitação em agitador rotativo (15 horas). Na sequência foi realizada centrifugação por 10 minutos a 10.000 g, sendo o sobrenadante transferido para novo microtubo, ao qual foram adicionados 200 µL de HCl concentrado. Este foi armazenado por 4 horas a ± 4 °C, em refrigerador, visando a precipitação da lignina ligada ao ácido tioglicólico, seguida de centrifugação a 10.000 g durante 10 minutos, e descarte do sobrenadante. O precipitado foi ressuspensão em 2 mL de NaOH 0,5 M. Foram utilizados 100 µL desta solução e 2,9 mL de NaOH 0,5 M para leitura do teor de lignina em espectrofotômetro a 280 nm. Os valores foram calculados com base em curva de lignina construída com base em lignina alcalina, 2-hidroxiopropil éter (RODRIGUES et al., 2005) sendo expresso em mg de lignina por grama de tecido seco.

5.2.7 Cortes Histológicos

As amostras de raízes foram retiradas da solução de álcool etílico 70% e transferidas para água destilada e deionizada por 5 minutos previamente a realização dos cortes. Os cortes foram realizados à mão sob microscópio estereoscópio utilizando lâmina de bisturi. Para a coloração os cortes foram imersos em solução aquosa de corante azul de *o*-toluidina (0,05%) durante 1 minuto. Com este corante é conferida coloração azul-esverdeada às porções lignificadas do tecido (O'BRIEN; FEDER; MCCULLY, 1964). Posteriormente à coloração os cortes foram transferidos para álcool etílico 50% por 1 minuto, visando a retirada do excesso de corante aderido à amostra. Por fim, foi realizada imersão dos cortes em água destilada por 1 minuto para eliminação do resíduo de álcool.

A montagem de lâminas foi realizada transferindo cortes coloridos para cada lâmina de microscopia, contendo solução aquosa de glicerina (50%), sobrepostas por lamínula e seladas com esmalte incolor. Para cada parcela experimental foram montadas três lâminas, cada uma contendo cinco cortes.

5.2.8 Obtenção De Micrografias E Mensurações

As lâminas produzidas foram analisadas em microscópio óptico trinocular, acoplado a câmera fotográfica Tucsen ISH500, operada utilizando o software ISCapture 4.1.3. Para cada parcela foram obtidas cinco micrografias, a partir de cortes distintos, selecionados dentre os 15 inicialmente disponíveis.

A mensuração de cada variável foi realizada em cada um dos cinco cortes (Figura 1). O diâmetro de raízes foi obtido por média de duas medidas perpendiculares, assim como para mensuração do tamanho dos vasos do xilema. Para o tamanho do floema, seguiu-se mesmo procedimento, fazendo média entre o diâmetro dos grupos de vasos apresentados em cada amostra, em geral quatro grupos. Os diâmetros médios das células do xilema e do floema foram obtidos pela mensuração de 16 células de cada vaso, das quais foram retiradas duas medidas perpendiculares. A espessura média da parede celular resultou de 16 medidas distintas, sendo realizada para células do xilema, floema e estrias de Caspary. As medidas médias obtidas para cada um dos cinco cortes foram utilizadas para obtenção da média da parcela experimental.

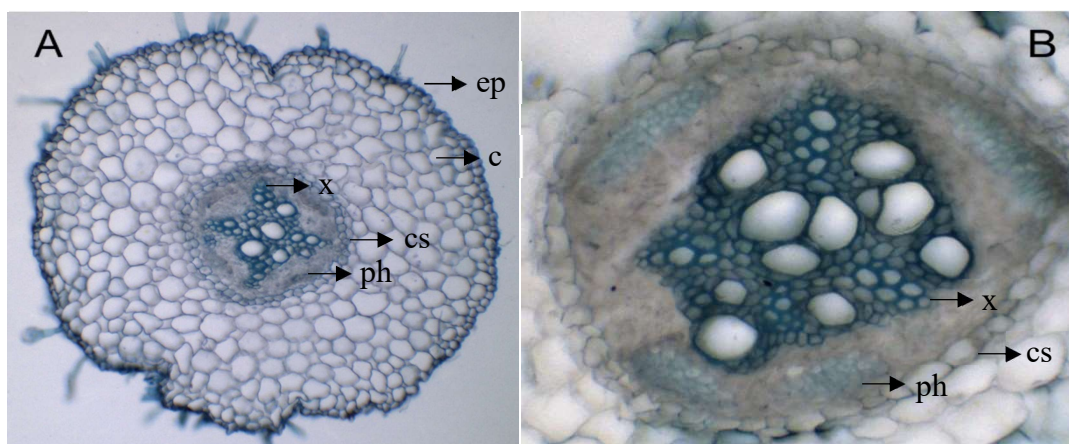


Figura 1 - A. Corte da raiz de soja mostrando seu diâmetro total. As setas indicam epiderme (ep), córtex (c), estria de Caspary (cs), floema (ph) e xilema (x). B. Porção central da raiz da raiz de soja.

5.2.9 Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de normalidade dos erros pelo teste de Shapiro-Wilk a 5% de probabilidade de erro. Na presença de normalidade, os dados foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e quando observada diferença significativa para o teste F de Fisher, as médias foram submetidas ao teste Dunnet, ambos à 5% de probabilidade. As doses

de silicato de potássio foram submetidas à análise de regressão, sob ajustes linear, quadrático e cúbico, a 5% de probabilidade, utilizando para esta análise o software estatístico Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2011).

5.3 RESULTADOS

A análise de variância - ANAVA (Tabela 1) realizada para os componentes estruturais apontou significância para os fatores doses de silicato de potássio e testemunhas isoladamente e em interação, para as variáveis compostos fenólicos e lignina. Os componentes anatômicos apresentaram significância às fontes de variação isoladas ou em interação para todas as variáveis analisadas, exceto diâmetro do xilema para as doses de silício analisadas isoladamente. O fator bloco, não apresentou significância.

Tabela 1 - Análise de variância segundo valores de quadrado médio para os fatores de variação (FV) doses de silicato de potássio – KSi (0%, 0,25%, 0,5%, 1,0%, 2,0% e 4,0%), testemunhas – T [controle (não inoculado e não tratado), cloreto de potássio – KCl (0,4% de K₂O) e acibenzolar-S-metil – ASM (200 mg L⁻¹)], interação dos referidos grupos e blocos para os componentes estruturais: teor de compostos fenólicos totais (mg g⁻¹ de massa fresca) e lignina; e para os componentes anatômicos: diâmetro da raiz, do xilema e do floema (DR, DX e DF, respectivamente), diâmetro das células do xilema e floema (DCX e DCF, respectivamente) e espessura da parede celular de células do xilema, floema e estias de Caspary (PCX, PCF e PCE, respectivamente), apresentadas por plantas de soja aos dias 0, 4, 8, 12, 16 e 20 após a indução, inoculadas com *Meloidogyne incognita*, 8 dias após a indução.

Componentes estruturais								
FV (GL)	Compostos fenólicos totais		Lignina					
KSi (5)	1,602*		153,892*					
T (2)	19,381*		127,607*					
KSixT (1)	0,918*		292,267*					
Blocos (2)	0,020 ^{ns}		0,693 ^{ns}					
Erro	0,085		110835					
Médias	12,574		78,695					
CV(%)	10,928		9,677					
Componentes Anatômicos								
FV (GL)	DR	DX	DF	DCX	DCF	PCX	PCF	PCE
KSi (5)	15253,289*	1492,022 ^{ns}	306,040*	2,403*	1,282*	0,963*	0,176*	0,180*
T (2)	19216,729*	5642,788*	235,519*	4,083*	0,413*	0,080*	0,075*	0,379*
KSixT (1)	116388,733*	8639,770*	1006,850*	29,59*	1,670*	0,014*	1,348*	3,016*
Blocos (2)	275,113 ^{ns}	30,560 ^{ns}	5,308 ^{ns}	0,004 ^{ns}	0,019 ^{ns}	0,003 ^{ns}	0,010 ^{ns}	0,00004 ^{ns}
Erro	3610,160	720,174	3,772	0,002	0,038	0,003	0,006	0,002
Médias	705,345	201,160	66,772	11,892	6,785	4,431	1,701	2,105
CV(%)	14,958	19,246	16,298	11,640	8,934	9,936	18,206	20,221

GL: graus de liberdade; *e ^{ns}: significativo e não significativo segundo teste de F à 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variância.

Observando a Figura 2A pode-se notar que o teor de compostos fenólicos, segundo diferentes doses de silicato de potássio aplicadas, apresentou ajuste a regressão cúbica, atingindo mínimo teor de compostos fenólicos para 0,5% e máximo para a dose calculada 3,3%. Tal comportamento foi inverso ao apresentado pela lignina (Figura 2B), que apresentou melhor ajuste para a regressão linear, com decréscimo conforme aumento da dose aplicada.

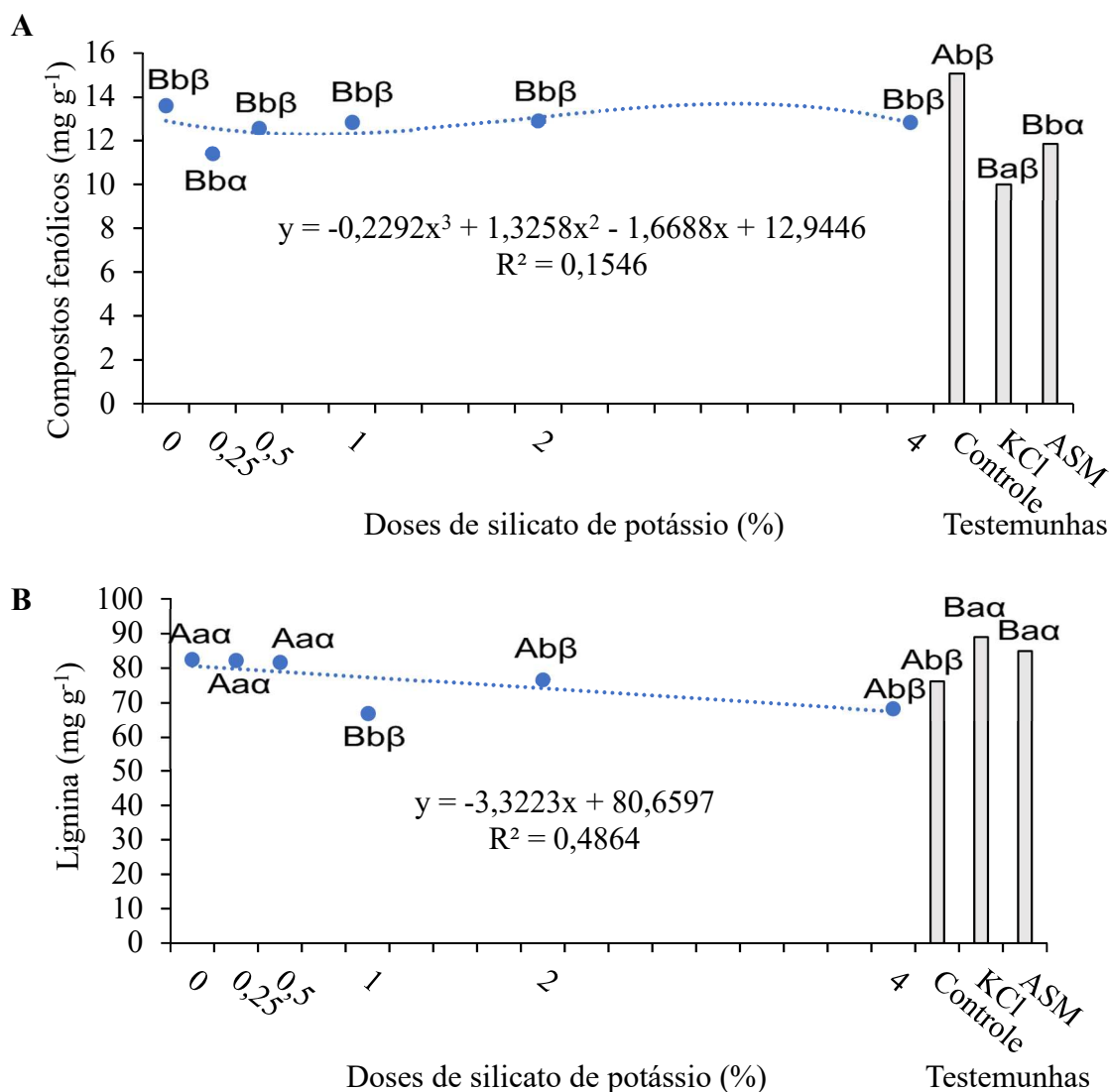


Figura 2 - Teor de compostos fenólicos (equivalência a mg de catecol g⁻¹ tecido fresco) (A) e lignina (mg g⁻¹ tecido seco) (B) em raízes de plantas de soja inoculadas com *Meloidogyne incognita* no 8º dia após a indução com doses de silicato de potássio e testemunhas [controle absoluto, cloreto de potássio – KCl (0,4% K₂O) e acibenzolar-S-metil – ASM (200mg L⁻¹)]. Doses de silicato de potássio e testemunhas (DMS compostos fenólicos: 0,6847; DMS lignina: 8,0897), e testemunhas entre si (DMS compostos fenólicos: 0,5754; DMS lignina: 6,7976), representadas por letras diferentes, diferem entre si segundo teste de Dunnet à 5% de probabilidade de erro, onde as testemunhas Controle, KCl e ASM são representadas por A, a e α, respectivamente. A análise de regressão das doses de silicato de potássio apresentou significância e melhor ajuste para equação cúbica, à 5% de probabilidade de erro.

Compostos fenólicos (Figura 2A), apresentaram para todas doses de silicato (média de $12,70 \text{ g mg}^{-1}$) diferença do controle negativo ($15,06 \text{ mg g}^{-1}$), redução em torno de 15%. Por sua vez, o ASM com teor intermediário ($11,86 \text{ mg g}^{-1}$), apenas a dose 0,25% de silicato de potássio apresentou similaridade, apresentando as demais doses valores cerca de 10% superiores ao apresentado pelo ASM. A testemunha cloreto de potássio foi aquela para qual houve menor teor de compostos fenólicos ($10,02 \text{ mg g}^{-1}$ de tecido fresco), sendo observado para todas as doses de silicato de potássio teores em média 26,69% superiores a esta.

Quanto ao teor de lignina (Figura 2B), considerando as testemunhas, o controle negativo apresentou $76,18 \text{ mg g}^{-1}$ de tecido seco. O ASM e KCl diferiram do controle, apresentando teor de lignina em média 14,11% superior. As doses de silicato de potássio 0%, 0,25% e 0,5% não diferiram de nenhuma das testemunhas. As doses de 2% e 4% foram similares ao controle e diferiram do KCl e ASM, enquanto a dose de 1% de silicato, com $66,95 \text{ mg g}^{-1}$ de tecido seco de teor de lignina diferiu de todas as testemunhas, apresentando o menor valor.

O diâmetro da raiz apresentou melhor ajuste para a regressão quadrática, sendo o valor mínimo observado na dose 2% de silicato de potássio (Figura 3A). Observando as testemunhas, maior diâmetro de raiz foi apresentado pelo ASM ($889,80 \text{ }\mu\text{m}$), se comparado ao KCl ($762,96 \text{ }\mu\text{m}$) e controle ($741,83 \text{ }\mu\text{m}$). Quando comparadas ao controle e ao KCl, o silicato de potássio apresentou diâmetro de raiz inferior para as doses de 0,5% e 2%, não diferindo as demais doses das referidas testemunhas. Por outro lado, quando comparadas ao ASM, as doses de silicato de potássio apresentaram diâmetro de raiz inferior, com média de $658,92 \text{ }\mu\text{m}$.

Com relação ao diâmetro dos vasos do xilema (Figura 3B), controle e KCl apresentaram valores similares ($214,67 \text{ }\mu\text{m}$ e $190,20 \text{ }\mu\text{m}$, respectivamente) e inferiores aquele apresentado pelo ASM ($274,50 \text{ }\mu\text{m}$). Com relação as doses de silicato, observou-se diâmetro médio dos vasos do xilema igual a $188,51 \text{ }\mu\text{m}$, sendo para todas as doses similar ao controle e KCl, e distintas do ASM, exceto para a 4% ($214,85 \text{ }\mu\text{m}$) similar ao ASM.

O diâmetro do floema (Figura 3C) apresentou, segundo as doses de silicato de potássio, significância para a regressão cúbica, sendo menor diâmetro observado para soja tratada com 1% de silicato de potássio, e o maior para aquelas tratadas com 3,3% de silicato. Dentre as testemunhas, o controle ($65,18 \text{ }\mu\text{m}$) apresentou diâmetro de floema em torno de 19% menor que aquele apresentado por KCl ($80,46 \text{ }\mu\text{m}$) e ASM ($80,59 \text{ }\mu\text{m}$), diferindo destes. Diâmetro do floema, apresentado por plantas tratadas com 0,5% ($52,81 \text{ }\mu\text{m}$) e 1% ($49,99 \text{ }\mu\text{m}$), de silicato, apresentaram valores em torno de 21% inferiores ao controle, enquanto 0,25% diferiu do controle por apresentar diâmetro de floema 19,44% superior. A dose 0,25% ($77,85 \text{ }\mu\text{m}$) apresentou valores similares aqueles apresentados por KCl e ASM.

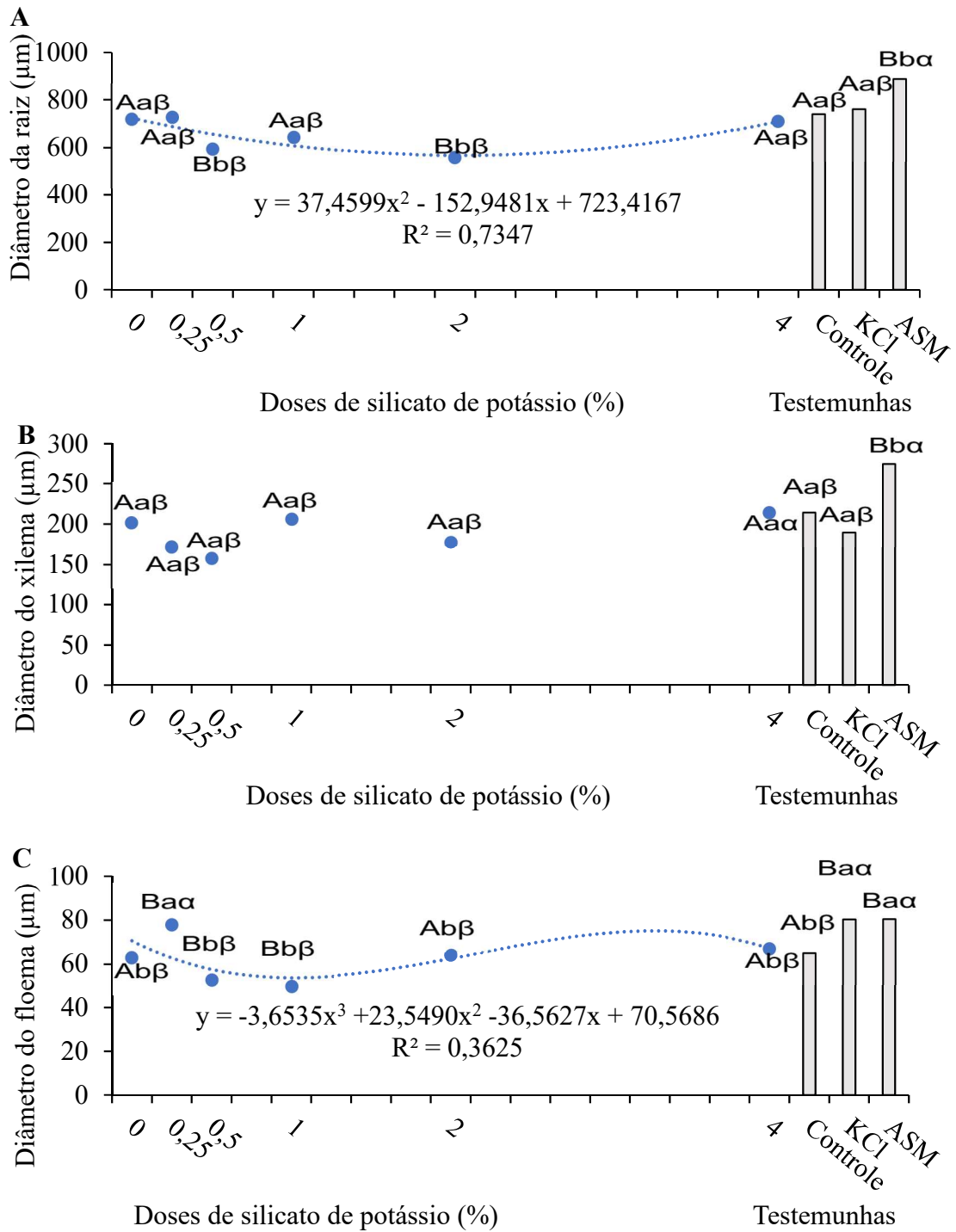


Figura 3 - Diâmetro de raiz (A), do xilema (B) e floema (C), em plantas de soja inoculadas com *Meloidogyne incognita* e induzidas com doses de silicato de potássio e testemunhas [controle absoluto, cloreto de potássio – KCl (0,4% K₂O) e acibenzolar-S-metil – ASM (200 mg L⁻¹)]. Doses de silicato de potássio e testemunhas representadas por letras distintas diferem entre si (DMS A: 141,2896; B: 63,1052; C: 4,5668), e testemunhas representadas por letras distintas diferem entre si (DMS A: 118,7225; B: 53,0259; C: 3,8373), segundo teste de Dunnet à 5% de probabilidade de erro, onde as testemunhas Controle, KCl e ASM são representadas por A, a e α , respectivamente. Análise de regressão das doses de silicato de potássio apresentou significância para diâmetro de raiz e do floema, à 5% de probabilidade de erro, com melhor ajuste para regressão quadrática e cúbica, respectivamente.

Com relação a avaliação do diâmetro das células do xilema e floema (Figuras 4A e 4B, respectivamente), plantas submetidas à aplicação de doses de silicato de potássio apresentaram melhor ajuste para a regressão cúbica. Segundo esta, o diâmetro das células do xilema apresenta valores mínimos para plantas de soja tratadas com 1,3% de silicato, e máximo para 3,8%. Já com relação ao diâmetro das células do floema, o mínimo foi observado para 0,6%, e máximo para 4% de silicato.

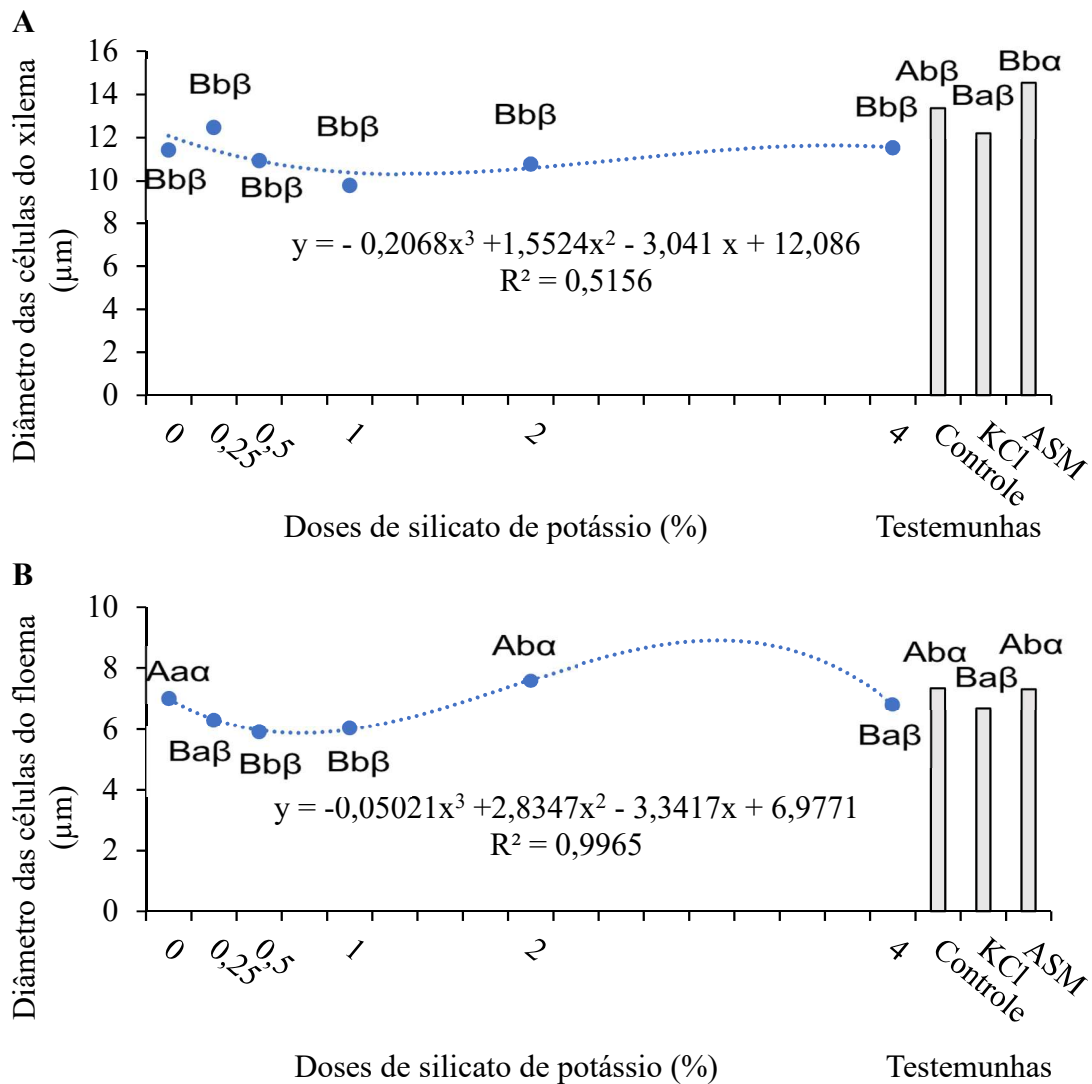


Figura 4 - Diâmetro das células do xilema (A) e do floema (B), em plantas de soja inoculadas com *Meloidogyne incognita* e induzidas com doses de silicato de potássio e testemunhas [controle absoluto, cloreto de potássio – KCl (0,4% K_2O) e acibenzolar-S-metil – ASM (200 mg L^{-1})]. Doses de silicato de potássio e testemunhas representadas por letras distintas diferem entre si (DMS A: 0,1147; B: 0,4584), e testemunhas representadas por letras distintas diferem entre si (DMS A: 0,0964; B: 0,3852), segundo teste de Dunnet à 5% de probabilidade de erro, onde as testemunhas Controle, KCl e ASM são representadas por A, a e α , respectivamente. Análise de regressão das doses de silicato de potássio apresentou significância para diâmetro de células do xilema e do floema, à 5% de probabilidade de erro, com melhor ajuste para regressão quadrática e cúbica, respectivamente.

Comparado ao controle (13,37 μm), ASM (14,54 μm) apresentou os valores maiores para o diâmetro de células do xilema (Figura 4A), e KCl (12,20 μm) mostrou valores inferiores. As doses de silicato de potássio avaliadas (11,15 μm) apresentaram valores inferiores de diâmetro das células do xilema, em relação as testemunhas.

O diâmetro das células do floema (Figura 4B) apresentou similaridade entre o controle (7,37 μm) e ASM (7,34 μm), que diferiram do KCl (6,71 μm). A dose 0% (7,01 μm) não diferiu das testemunhas, e 2% (7,60 μm) não diferiu do controle (7,37 μm) ou ASM (7,34 μm), apresentando diferença em relação ao KCl (6,71 μm). Silício à 0,5% e 1% diferiram de todas as testemunhas, apresentando diâmetro de floema inferior em aproximadamente 16,42%.

A espessura das paredes celulares do xilema (Figura 5A) apresentou melhor ajuste para a regressão cúbica, com maior valor para plantas tratadas com 0,8% de KSi, e menor para a dose 2,9%. Valores decrescentes de espessura foram observados para as testemunhas controle (4,63 μm), KCl (4,46 μm) e ASM (4,30 μm). Dentre as doses de silicato, 1% e 4% apresentaram similaridade ao controle, 0,25% apresentou valores 12,41% superiores e distintos deste, enquanto as demais diferiram por apresentarem paredes menos espessas (em média 4,00 μm). Quando comparadas ao KCl, apenas 0,5% e 1% de silicato apresentaram espessura similar da parede celular do xilema, 0,25% e 4% foram mais espessas e 0% e 2% menos. O ASM, por sua vez, não apresentou similaridade a nenhuma dose de silicato de potássio, apresentando espessuras menores para as doses 0% e 2% e superiores para as demais.

A espessura das paredes celulares das células do floema (Figura 5B) apresentaram ajuste à equação cúbica, e pontos de mínima espessura para a dose de 0,95% e de máxima para 4%. Controle e KCl apresentaram valores em média 14% superiores ao ASM (1,84 μm). Todas doses de silicato (média 1,70 μm) foram inferiores ao controle (2,07 μm) e KCl (2,14 μm). Entretanto, comparadas ao ASM as doses 0% (1,79 μm), 0,5% (1,70 μm) e 4% (1,68 μm) apresentaram similaridade a esse, sendo as demais distintas e inferiores ao mesmo.

Por fim, para as células componentes das estrias de Caspary, a espessura de suas paredes celulares (Figura 5C) apresentou melhor ajuste à equação quadrática, segundo o comportamento biológico apresentado, com ponto de mínima espessura das paredes para a dose 1,4% (1,70 μm). As testemunhas apresentaram, de modo geral, parede celular mais espessa, com valores de 2,25 μm para o controle, 2,52 μm para KCl e 2,96 μm para ASM, sendo observada diferença significativa entre esses. Apenas a dose 4% (2,27 μm) apresentou similaridade ao controle. As demais doses apresentaram valores diferentes de todas as testemunhas, com valor inferior a esses, sendo a média das doses de silicato entre 0% a 2%, equivalente a 1,79 μm .

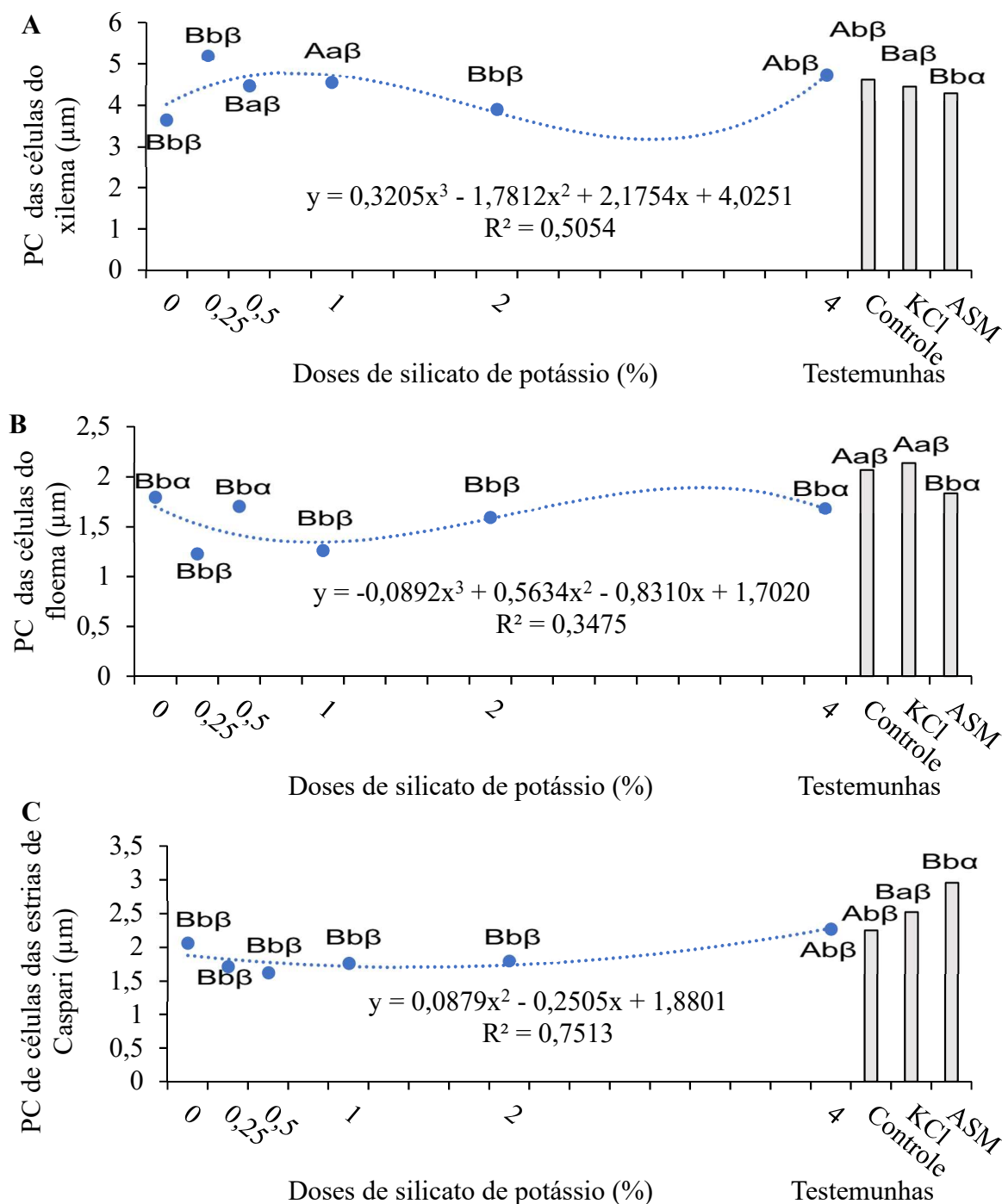


Figura 5 - Espessura das paredes celulares (PC) de células do floema (A), xilema (B) e estrias de Caspary (C) em soja inoculada com *Meloidogyne incognita* e induzida com doses de silicato de potássio e testemunhas [controle absoluto, cloreto de potássio – KCl (0,4% K_2O) e acibenzolar-S-metil – ASM (200 mg L^{-1})]. Doses de silicato de potássio e testemunhas representadas por letras distintas diferem entre si (DMS A: 0,1257; B: 0,1802; C: 0,1134), e testemunhas representadas por letras distintas diferem entre si (DMS A: 0,1057; B: 0,1514; C: 0,0952), segundo teste de Dunnet à 5% de probabilidade de erro, onde as testemunhas Controle, KCl e ASM são representadas por A, a e α , respectivamente. Análise de regressão das doses de silicato de potássio apresentou significância à 5% de probabilidade de erro, com melhor ajuste para regressão cúbica, para espessura da PC das células do floema e xilema, e quadrática para espessura das PC das células das estrias de Caspary.

5.4 DISCUSSÃO

Estudos que evidenciem a atuação do silício no controle de nematoides, abrangendo análises mais refinadas são escassos. Logo, o presente trabalho apresenta análises microscópicas e de componentes estruturais de plantas de soja tratadas com doses de silicato de potássio visando indução de mecanismos de resistência e controle do nematoide das galhas *Meloidogyne incognita*.

No presente ensaio a avaliação de plantas testemunhas submetidas à aplicação de KCl não afetou o desenvolvimento das raízes em diâmetro, ou o diâmetro dos vasos do xilema. Entretanto, alguns ensaios apontam para efeito negativo no crescimento de plantas, em função de sua aplicação. Como exemplo tem-se o ensaio com cafeeiro cv. Mundo Novo tratado com KCl e inoculado com *Meloidogyne paranaensis*, onde se observou redução da massa seca de raízes e redução da reprodução do nematoide em torno de 80% (ROLDI et al., 2017). Tal redução de desenvolvimento da planta, segundo os autores, pode ser resultante de fatores bioquímicos e moleculares ligados à indução de resistência nas plantas. Fato verificado no presente ensaio através da redução do teor de compostos fenólicos e incremento nos teores de lignina em relação ao controle, que pode estar atrelado ao aumento de atividade de enzimas como polifenoloxidase, peroxidases e fenilalanina amônia-liase, envolvidas na rota de síntese da lignina a partir de compostos fenólicos (GOMES et al., 2005; RAHMAN; WALLIS; UDDIN, 2015).

O diâmetro dos vasos do floema, por outro lado, apresentou incremento quando as plantas de soja foram submetidas ao tratamento com KCl. Este pode ser decorrente da função exercida pelo K^+ na planta, que por ser um elemento de alta mobilidade auxilia na redistribuição de solutos via floema, auxiliando no enchimento de frutos, fato decorrente de sua ação como cátion acompanhante, que auxilia no equilíbrio de cargas na planta (HASANUZZAMAN et al., 2018; ZAHIRUL et al., 2018).

As células do xilema e floema apresentaram diâmetro inferior ao controle, logo isso leva a inferir que houve maior divisão celular e menor desenvolvimento das células em diâmetro. A espessura das paredes das células do xilema e das estrias de Caspary foram inferiores ao controle, enquanto aquelas do floema não diferiram deste. Como resultado da maior multiplicação das células, possivelmente, o incremento de lignina observado diluiu-se nas paredes das células formadas, de modo a não apresentarem maior espessura quando comparadas ao controle.

O ASM, em ensaio realizado com manga, visando indução de resistência contra *Ceratocystis fimbriata*, apresentou como resposta à infecção o acúmulo de compostos fenólicos (ARAUJO et al., 2015), resultado distinto do observado no presente estudo, onde se observou que para plantas de soja tratadas com ASM houve redução do teor de compostos fenólicos em relação ao controle. Contudo, como compostos fenólicos são precursores de lignina, acredita-se que houve incremento na atividade das enzimas relacionadas a lignificação no presente ensaio, já que apesar da redução do teor de fenóis houve incremento nos teores de lignina, similar ao observado em outros ensaios. A exemplo, a indução mediada por ASM em feijoeiro desafiado com *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, onde se observou incremento na atividade de peroxidase, acompanhado de aumento da síntese de lignina e redução no teor de fenóis (KUHN, 2007).

Aumento da atividade de peroxidase, enzima relacionada a lignificação, é apontado também em outros trabalhos utilizando ASM, favorecendo o controle de doenças, como vassoura de bruxa (*Crinipellis pernicioso*) em cacau, onde este apresentou eficiência superior ao fungicida sistêmico tebuconazole (RESENDE et al., 2002). O incremento de lignificação do presente ensaio foi confirmado durante as medições de espessura das paredes celulares, onde apesar das células do xilema e floema serem inferiores em relação ao controle, a espessura das paredes das células componentes das estrias de Caspary foi superior, podendo ser um fator de incremento de resistência à penetração de patógenos, em especial os fúngicos. Entretanto, para o caso do nematoide das galhas (*Meloidogyne* spp.) é válido salientar que segundo seu hábito de penetração, através da zona de alongamento das raízes, seguindo ao ápice das mesmas e, em seguida, voltando para porção superior central da raiz (WILLIAMSON; HUSSEY, 1996), faz com que contorne essa barreira e a mesma não interfira na redução de sua penetração.

Com relação ao diâmetro de raízes, dos vasos do xilema e floema, todos apresentaram valores superiores ao do controle, assim como o diâmetro das células do xilema, apontando para melhor desenvolvimento do sistema radicular e dos vasos das plantas submetidas a aplicação de ASM. Entretanto, esse resultado diverge de alguns trabalhos, onde as plantas induzidas com ASM apresentaram redução de crescimento e produtividade (KUHN, 2007; PUERARI et al., 2013), e dos casos onde sua aplicação não influenciou o desenvolvimento das plantas (CARDOSO et al., 2017). Contudo, há também relatos de maior acúmulo de massa, apontando para maior crescimento das plantas (PUERARI et al., 2013). A partir disso, pode-se inferir que o patossistema estudado e a forma e/ou época de aplicação do indutor podem influenciar tais resultados.

Por sua vez, a aplicação de silicato de potássio sob diferentes doses, apresentou para o teor de compostos fenólicos valores mínimo para 0,5% e máximo para 3,3%, o qual quando comparado as testemunhas, apresentou-se intermediário, aproximadamente 15% inferior ao controle e 18% superior ao KCl e ASM. Entretanto, o teor de lignina apresentou decréscimo com aumento da dose do silicato, sendo similar a todas as testemunhas para as doses entre 0% e 0,5%, enquanto de 1% a 4% os valores foram inferiores, não diferindo, em geral, do controle. Logo, tal comportamento demonstra que para as doses mais baixas de KSi, possivelmente houve incremento na ação de enzimas relacionadas ao processo de lignificação, devido aos menores teores de fenóis e valores superiores de lignina observados. Resultados anteriores apontam para uma dinâmica similar, onde a deficiência de silício promoveu incremento no acúmulo de lignina (SUZUKI et al., 2012), possivelmente pelo fato de que tal mineral pode atuar diretamente como componente estruturante da parede celular.

Redução do número de ovos e galhas de *M. exigua* em cafeeiro cultivar Catuaí, cultivado em solo corrigido com silicato de cálcio, foi atribuída ao aumento de lignina, acompanhado do aumento da atividade de enzimas como peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina-amônia-liase (SILVA et al., 2010). A produção de compostos fenólicos ocorre através da via dos fenilpropanóides, sendo incremento na síntese de tais compostos decorrente da maior atividade das enzimas dessa rota metabólica. Visando mensurar a importância da produção dos compostos fenólicos na indução de resistência mediada pelo silício para o controle de *M. graminicola* em arroz, a aplicação de um inibidor da síntese de fenilpropanóides a plantas induzidas com Si, 24 h antes da inoculação, culminou em redução da defesa mediada pelo Si e maior infecção (ZHAN et al., 2018). Além disso, os autores relataram teores de lignina superiores para plantas tratadas com Si, fato confirmado também pela análise transcricional de genes de defesa, relacionados a via de biossíntese dos fenilpropanóides, que apresentaram valores aumentados.

Visando a análise da alocação da lignina nos tecidos, as medições de espessura das PC apontaram no xilema valores superiores para plantas de soja tratadas com silicato de potássio a 0,8% e menor para a dose 2,9%. A dose 0,25% de silicato apresentou valores superiores as testemunhas. Para as células do floema, o comportamento foi inverso, e todas as doses apresentaram valores inferiores ao controle, apesar de sofrerem acréscimo em maiores doses, similar ao observado para a espessura de PC das células das estrias de Caspary. Tal variação na espessura de paredes celulares observada no presente ensaio pode estar relacionada a função diversa apresentada pelo Si e os teores fornecidos às plantas. Por si só, o Si pode atuar como componente estrutural, favorecendo o fortalecimento das paredes celulares (HATTORI et al.,

2018), bem como na indução de processos bioquímicos na planta (CRUZ et al., 2013; GUIMARÃES et al., 2010; RAHMAN; WALLIS; UDDIN, 2015). Há relatos de incremento nos teores de compostos fenólicos e calose nas raízes de plantas de arroz tratadas com Si (ZHAN et al., 2018). Assim, é possível que o incremento nos teores de lignina sob menores doses, culminou no incremento de espessura da parede celular do xilema, podendo ser decorrente de um fator somado de menor disponibilidade de Si para estruturação e enrijecimento das paredes celulares, como pela ativação de enzimas e produção de compostos fenólicos e lignina.

Observando o desenvolvimento radicular de plantas de soja tratadas com silicato de potássio, segundo o diâmetro da raiz, observou-se valores mínimos para a dose 2%. Apenas as doses 0,5% e 2% de silicato de potássio foram inferiores ao controle. Dados similares, de restrição ao crescimento radicular, foram observados em cafeeiro tratado com silicato de cálcio em condição hídrica e nutricional favoráveis (RIBEIRO et al., 2011), e em cafeeiro tratado com silicato de potássio em condição de estresse biótico conferido pela inoculação com *M. paranaensis* (ROLDI et al., 2017), o que foi relacionado ao provável processo de indução de resistência.

A alteração no comportamento de crescimento apresentado pelas raízes de soja na presença de Si pode ser decorrente de alterações nas características que afetam a expansão celular. Isso pode ocorrer pois parte do Si utilizado nas raízes é como constituinte da parede celular (HATTORI et al., 2018). Em ensaio realizado por Silva et al. (2010), redução na massa de plantas de café tratadas com volastonita foi atribuída a desorganização, ruptura ou obstrução das células do xilema, prejudicando, em consequência disso, o transporte de água e nutrientes. Contudo, no presente estudo o diâmetro do xilema de raízes de soja submetidas ao tratamento com KSi não apresentou diferença em relação ao controle, entretanto, valores mínimos foram observados para a dose 1,3% e máximo para a dose 3,8%, apresentando no geral valores inferiores ao das testemunhas. A manutenção do diâmetro de vasos e redução do diâmetro das células pode ser indicativo de maior divisão celular, passando os vasos a serem constituídos por maior número de células de menor diâmetro. Para o diâmetro do floema, resposta comportamental similar foi observada, apontando para melhor desenvolvimento de vasos sob aplicação de maiores doses do produto.

Sabe-se que a diferenciação e desenvolvimento dos vasos condutores é um processo complexo mediado por diferentes hormônios vegetais. No caso do xilema, sua formação se dá pela redução do nível de citocininas e auxinas, somada a elevação dos teores de etileno, que resultam no colapso e morte celular para estruturar os vasos xilemáticos, constituídos de tecido

celular morto, onde ocorre o transporte passivo de seiva (SORCE et al., 2013). Pouco se sabe a respeito da influência do Si sobre tais hormônios ou processos de formação de vasos. Todavia, mediante aplicação de Si em plantas de arroz desafiadas com *M. graminicola*, observou-se incremento de resistência, redução no parasitismo e atraso no desenvolvimento dos nematoides, sem afetar a formação de células gigantes, os quais foram atribuídos aos níveis elevados de transcrição dos genes de defesa OsERF1, OsEIN2 e OsACS1, relacionados a rota dos fenilpropanoides e à produção do etileno (ZHAN et al., 2018). Logo, a ação confirmada do Si sobre a rota de produção do etileno pode ser um fator determinante para que sob aplicação de maiores doses do KSi, maior diâmetro de vasos xilêmicos e das células constituintes desses fosse observada no presente estudo. Entretanto, a realização de estudos voltados a investigação mais aprofundada da ação do silício são essenciais para esclarecimento dos mecanismos envolvidos nas modificações aqui observadas, que podem estar atreladas ao seu potencial de redução de estresses bióticos e abióticos, como o induzido pelo desafio das plantas de soja pela inoculação com *M. incognita* no presente.

5.5 CONCLUSÕES

A aplicação de KSi em plantas de soja inoculadas com *M. incognita* influenciou o acúmulo de fenóis, causando incremento destes em geral para maiores doses do silicato, enquanto que para a lignina o inverso foi observado. Os compostos fenólicos apresentaram valores médios para KSi inferior ao controle, mas superior a KCl e ASM, contudo, o teor de lignina, em geral, não diferiu do controle.

O diâmetro da raiz e dos vasos do xilema não foi influenciado pela aplicação de KSi, em comparação ao controle. Por sua vez, o diâmetro do floema foi menor para a dose de silicato de potássio 1% e maior para a dose calculada de 3,3%. Quanto ao diâmetro das células do xilema, este foi mínimo para 1,3% de KSi e máximo para 3,8% de KSi, enquanto que as células do floema apresentaram diâmetros mínimos para KSi 0,6% e máximo para 4% de silicato. Em ambos os casos, em geral, observaram-se valores inferiores as testemunhas.

A espessura da parede celular (PC) do xilema foi menor para a concentração calculada de 2,9% de KSi e maior para 0,8% de KSi, comportamento inverso aquele apresentado para espessura da PC das células do floema, que foi mínima para 0,95% de KSi e de máxima para 4% de KSi. Por fim, a espessura da PC das células da estria de Caspary foi mínima para a dose

1,4% de silicato de potássio, sendo observada redução da espessura de PC para todas as doses em relação ao controle, exceto 4% de KSi.

5.6 REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, L. et al. Induction of the phenylpropanoid pathway by acibenzolar-S-methyl and potassium phosphite increases mango resistance to *Ceratocystis fimbriata* infection. **Plant Disease**, v. 99, n. April, p. 447–459, 2015.
- BARBER, M.S.; RIDE, J.P. A quantitative assay for induced lignification in wounded wheat leaves and its use to survey potential elicitors of the response. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 32, n. 2, p. 185-197, 1988.
- BONETI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey e Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, p. 553, 1981.
- CARDOSO, M. R. et al. Acibenzolar-S-methyl doses and application methods to *Pratylenchus brachyurus* control in maize. **Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science**, v. 67, n. 1, p. 23–27, 2017.
- CRUZ, M. F. A. Da et al. Inducers of resistance and silicon on the activity of defense enzymes in the soybean-*Phakopsora pachyrhizi* interaction. **Bragantia**, v. 72, p. 162–172, 2013.
- DIAS-ARIERIA, C. R. et al. Effect of *Azospirillum brasilense*, Stimulate[®] and potassium phosphite to control *Pratylenchus brachyurus* in soybean and maize. **Nematropica**, v. 42, p. 170–175, 2012.
- EMBRAPA. Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2014. In: **Sistemas de Produção**. v. 16; 265 p. 2013.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039–1042, 2011.
- FREIRE, E. S. **Controle dos nematóides de galhas (*Meloidogyne* spp.) e do cisto (*Heterodera glycines*) com silicatos**. 2007. 90 p. (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- GOMES, F. B. et al. Resistance induction in wheat plants by silicon and aphids. **Scientia Agricola**, v. 62, n. 6, p. 547–551, 2005.
- GUIMARÃES, L. M. P. et al. Efeito de metil jasmonato e silicato de potássio no parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zeae* em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 50–55, 2008.
- GUIMARÃES, L. M. P. et al. Eficiência e atividade enzimática elicitada por metil jasmonato e silicato de potássio em cana-de-açúcar parasitada por *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 1, p. 11–15, 2010.

HAFSI, C.; DEBEZ, A.; ABDELLY, C. Potassium deficiency in plants: effects and signaling cascades. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, n. 5, p. 1055–1070, 2014.

HASANUZZAMAN, M. et al. Potassium : A vital regulator of plant responses and tolerance to abiotic stresses. **Agronomy**, v. 8, n. 31, p. 1–29, 2018.

HATTORI, T. et al. Silicon-induced changes in viscoelastic properties of sorghum root cell walls. **Plant Cell Physiology**, v. 44, n. August, p. 743–749, 2018.

HUSSEY, S. R.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Report**, v. 57, p. 1025–1028, 1973.

KATH, J. et al. Control of *Pratylenchus brachyurus* in soybean with *Trichoderma* spp. and resistance inducers. **Journal of Phytopathology**, v. 165, n. 11–12, p. 791–799, 2017.

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

MA, J. F.; YAMAJI, N. A cooperative system of silicon transport in plants. **Trends in Plant Science**, v. 20, n. 7, p. 435–442, 2015.

MATTEI, D. et al. Influence of Rocksil[®], Silifort[®] and wollastonite on penetration and development of *Meloidogyne javanica* in poaceae and fabaceae. **Journal of Phytopathology**, v. 165, n. 2, p. 91–97, 2017.

MEHARG, C.; MEHARG, A. A. Silicon, the silver bullet for mitigating biotic and abiotic stress, and improving grain quality, in rice? **Environmental and Experimental Botany**, v. 120, p. 8–17, 2015.

MELO, T. A. de et al. Produtos naturais aplicados para manejo de *Meloidogyne incognita* em tomateiros. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 3, p. 223–227, 2012.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v. 59, n. 2, p. 368–373, 1964.

OKA, Y.; TKACHI, N.; MOR, M. Phosphite inhibits development of the nematodes *Heterodera avenae* and *Meloidogyne marylandi* in cereals. **Phytopathology**, v. 97, p. 396–404, 2007.

OLIVEIRA, R. M. et al. Efeito do silicato de cálcio e magnésio sobre a reprodução de *Meloidogyne javanica* e desenvolvimento de mudas de bananeira Prata-Anã. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 2, p. 409–415, 2012.

PUERARI, H. H. et al. Evaluation of acibenzolar-S-methyl for the control of *Meloidogyne javanica* and effects on the development of susceptible and resistant soybean. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 1, p. 44–48, 2013.

RAHMAN, A.; WALLIS, C. M.; UDDIN, W. Silicon-induced systemic defense responses in perennial ryegrass against infection by *Magnaporthe oryzae*. **Phytopathology**, v. 105, n. 6, p. 748–757, 2015.

RANADE-MALVI, U. Interaction of micronutrients with major nutrients with special reference to potassium. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v. 24, n. 1, p. 106–109, 2011.

RESENDE, M. L. V et al. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis pernicioso* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar-S-methyl (ASM). **Plant Pathology**, v. 51, p. 621–628, 2002.

RODRIGUES, F. Á. et al. Silicon influences cytological and molecular events in compatible and incompatible rice-*Magnaporthe grisea* interactions. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 66, n. 4, p. 144–159, 2005.

ROLDI, M. et al. Control of *Meloidogyne paranaensis* in coffee plants mediated by silicon. **Nematology**, v. 19, n. 2, p. 245–250, 2017.

SANKAR, C. et al. Induction of resistant to *Radopholus similis* and defence related mechanism in susceptible and resistance banana hybrids infected with *Radopholus similis*. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 6, n. 4, p. 1668–1684, 2017.

SANTANA-GOMES, S. D. M. et al. Mineral nutrition in the control of nematodes. **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 21, p. 2413–2420, 2013.

SILVA, R. V. et al. Effects of silicon on the penetration and reproduction events of *Meloidogyne exigua* on coffee roots. **Bragantia**, v. 74, n. 2, p. 196–199, 2015.

SILVA, R. V. et al. Biochemical responses of coffee resistance against *Meloidogyne exigua* mediated by silicon. **Plant Pathology**, v. 59, n. 3, p. 586–593, 2010.

SORCE, C. et al. Hormonal signals involved in the regulation of cambial activity, xylogenesis and vessel patterning in trees. **Plant Cell Reports**, v. 32, n. 6, p. 885–898, 2013.

SUZUKI, S. et al. Silicon deficiency promotes lignin accumulation in rice. **Plant Biotechnology**, v. 29, n. 4, p. 391–394, 2012.

TUBANA, B. S.; BABU, T.; DATNOFF, L. E. A review of silicon in soils and plants and its role in us agriculture. **Soil Science**, v. 181, n. 9–10, p. 1, 2016.

VACULÍK, M. et al. Silicon modifies root anatomy, and uptake and subcellular distribution of cadmium in young maize plants. **Annals of Botany**, v. 110, n. 2, p. 433–443, 2012.

VASANTHI, N.; SALEENA, L. M.; ANTHONI RAJ, S. Silicon in crop production and crop protection -a review. **Agricultural Reviews**, v. 35, n. 1, p. 14–23, 2014.

WILLIAMSON, V. M.; HUSSEY, R. S. Nematode pathogenesis and resistance in plants. **The Plant Cell**, v. 8, n. 10, p. 1735, 1996.

ZAHIRUL, I. M. et al. Effect of pre-harvest potassium foliar spray and postharvest storage methods on quality and shelf life of cherry tomatoes. **Research Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 7, p. 49–54, 2018.

ZHAN, L. et al. Priming effect of root-applied silicon on the enhancement of induced resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* in rice. **BioMed Central Plant Biology**, v. 18, n. 50, p. 1–12, 2018.

ZÖRB, C.; SENBAYRAM, M.; PEITER, E. Potassium in agriculture – status and perspectives. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, n. 9, p. 656–669, 2013.

6 CONCLUSÕES GERAIS

Com relação aos parâmetros vegetativos, nenhum dos tratamentos afetou o acúmulo de massa seca de parte aérea, contudo, as aplicações de ASM, KCl e 0,5% de silicato de potássio reduziram a massa fresca de raiz em relação ao controle não tratado e não inoculado.

A maioria das variáveis nematológicas analisadas (população final, fator de reprodução, número de ovos por massa de ovos e nematoides por grama de raízes) apresentaram melhor ajuste para regressão cúbica, com menores valores para dose em torno de 0,8% de silicato de potássio. A indução com 0,5% de silicato de potássio reduziu a população final e o fator de reprodução para menos da metade em comparação ao controle não tratado, sendo observado mesmo comportamento para plantas induzidas com ASM.

A polifenoloxidase apresentou comportamento linear crescente com atividade 47% superior para 4% de silicato, quatro dias após a indução. A fenilalanina amônia-liase apresentou para 2% de silicato, aos 12 dias após indução, atividade 72% superior ao controle. A peroxidase, no mesmo período, apresentou incremento linear, alcançando atividade 55% superior para silicato 4%, e aos 16 dias, mediante ajuste quadrático, silicato 2% apresentou atividade 40% superior a dose 0. Logo, como o incremento da atividade dessas enzimas ocorreu apenas após a inoculação, tem-se o indício da ocorrência de *priming*.

O silicato favoreceu acúmulo de fenóis e decréscimo de lignina. Compostos fenólicos apresentaram média inferior ao controle para silicato, mas superior ao KCl e ASM, e a lignina, em geral, não diferiu do controle. Diâmetro da raiz e dos vasos do xilema não foi afetado. Diâmetro do floema, de suas células e das células do xilema, foram menores para silicato de potássio entre 0,6% e 1,3% e maior para silicato de potássio entre 3,3% a 4%. A espessura da parede das células do floema e estria de Caspary apresentou comportamento similar, enquanto para as do xilema observou-se comportamento inverso.

A aplicação de silicato de potássio em plantas de soja inoculadas com *M. incognita* influenciou o acúmulo de fenóis, causando incremento destes em geral para maiores doses do silicato, enquanto que para a lignina o inverso foi observado. Compostos fenólicos apresentaram média inferior ao controle para silicato, mas superior ao KCl e ASM, e a lignina, em geral, não diferiu do controle.

O diâmetro da raiz e dos vasos do xilema não foi afetado. Diâmetro do floema, de suas células e das células do xilema foi menor para silicato de potássio entre 0,6% e 1,3% e maior para 3,3% a 4%. Entretanto, em ambos os casos, em geral, observaram-se valores inferiores as testemunhas. A espessura da parede das células do floema e estria de Caspary apresentou comportamento similar, com espessura mínima para doses em torno de 0,95% e 1,4% e máximas para 4%, enquanto que para as do xilema observou-se comportamento inverso, com espessura menor para doses de 2,9% e maior para 0,8% de silicato de potássio.

Em geral maior atividade enzimática foi observada para doses mais elevadas do silício, e também maior espessura de paredes celulares do floema e estrias de Caspary, no entanto, normalmente não foram essas doses que favoreceram o controle de nematoides.

A redução dos parâmetros nematológicos foi alcançada para doses em torno de 0,5% e 0,8%, onde para polifenoloxidase, quatro dias após indução, e peroxidase, 12 dias após indução, apresentaram maior atividade, quando comparadas a dose 0% em plantas inoculadas. No entanto, para tais doses, menor espessura das paredes das células do floema e estrias foi observada, mas essa foi acompanhada de maior espessura das paredes das células do xilema. Acredita-se que o incremento do acúmulo de fenóis, conforme aumento das doses do silicato, e redução da lignina possa explicar tal resultado. A promoção da produção de lignina a partir dos fenóis presentes, em menores doses, ocasionando aumento da lignina e redução dos fenóis, pode ser decorrente da atividade superior observada para polifenoloxidase e peroxidase, enzimas responsáveis pelo processo de produção de lignina a partir dos compostos fenólicos.

Para as maiores doses, possivelmente a maior produção de fenóis realocou maior energia nessa rota metabólica, visto que se observou para dose 2% de silicato de potássio atividade superior em 72% da fenilalanina amônia-liase, aos 12 dias após indução, sendo esta a enzima chave da rota dos fenilpropanoides, portanto, indispensável para a produção dos compostos fenólicos.

Portanto, confirmou-se a influência do silicato de potássio sobre a atividade enzimática, teor de fenóis, lignina e características anatômicas, em soja desafiada por *M. incognita*, indicando indução de resistência e *priming*, favorecendo o controle do nematoide das galhas.

7 REFERÊNCIAS

- ADAPAR. **Agrotóxicos no Paraná: faça sua pesquisa.** 2018. Disponível em: <<http://celepar07web.pr.gov.br/agrotoxicos/pesquisar.asp>>. Acesso em: 10 out. 2018.
- ADEGBITE, A. A.; ADESIYAN, S. O. Root extracts of plants to control root-knot nematode on edible soybean. **Journal of Vegetable Science**, v. 12, n. 2, p. 5–12, 2006.
- BAXTER, I. et al. Root suberin forms an extracellular barrier that affects water relations and mineral nutrition in *Arabidopsis*. **PLOS Genetics**, v. 5, n. 5, p. 1–12, 2009.
- BRITO, O. D. C. et al. Métodos de aplicação e concentrações de acibenzolar-S-metil no manejo de *Meloidogyne javanica* em soja. **Nematropica**, v. 46, n. 1, p. 106–113, 2016.
- CAARLS, L.; PIETERSE, C. M. J.; VAN WEES, S. C. M. How salicylic acid takes transcriptional control over jasmonic acid signaling. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, n. March, p. 1–11, 2015.
- CESARINO, I. et al. An overview of lignin metabolism and its effect on biomass recalcitrance. **Brazilian Journal of Botany**, v. 35, n. 4, p. 303–311, 2012.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB. Primeiro levantamento: safra 2018/19. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**, Brasília, v. 6, n. 1, p. 1–129, 2018.
- DEBONA, D.; RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. Silicon's role in abiotic and biotic plant stresses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 55, n. 1, p. 85–107, 2017.
- DIAS-ARIEIRA, C. R. et al. Induced resistance in the nematodes control. **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 20, p. 2312–2318, 2013.
- DIAS-ARIEIRA, C. R. et al. Effect of *Azospirillum brasilense*, Stimulate[®] and potassium phosphite to control *Pratylenchus brachyurus* in soybean and maize. **Nematropica**, v. 42, p. 170–175, 2012.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The future of food and agriculture – Trends and challenges**. FAO: Rome, 2017. 180 p.
- FLEMING, T. R. et al. Prevalence and diversity of plant parasitic nematodes in Northern Ireland grassland and cereals, and the influence of soils and rainfall. **Plant Pathology**, v. 65, n. 9, p. 1539–1550, 2016.
- FREIRE, E. S. **Controle dos nematóides de galhas (*Meloidogyne* spp.) e do cisto (*Heterodera glycines*) com silicatos**. 2007. 90 p. (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- GAO, H. et al. *Bacillus cereus* strain S2 shows high nematicidal activity against *Meloidogyne incognita* by producing sphingosine. **Scientific Reports**, v. 6, n. June, p. 1–11, 2016.
- GARCIA, A. **Fungicidas I: utilização no controle químico de doenças e sua ação contra os fitopatógenos**. Porto Velho: EMBRAPA-CPAF Rondônia, 1999.

GONZAGA, V. et al. Detecção de *Pasteuria thornei* em *Pratylenchus brachyurus* e *P. zaei*. **Nematologia Brasileira**, v. 33, n. 1, p. 103–105, 2009.

GOVERSE, A.; SMANT, G. The activation and suppression of plant innate immunity by parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 52, p. 1–23, 2014.

GUIMARÃES, L. M. P. et al. Efeito de metil jasmonato e silicato de potássio no parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zaei* em cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 50–55, 2008.

GUIMARÃES, L. M. P. et al. Eficiência e atividade enzimática elicitada por metil jasmonato e silicato de potássio em cana-de-açúcar parasitada por *Meloidogyne incognita*. **Summa Phytopathologica**, v. 36, n. 1, p. 11–15, 2010.

HAFSI, C.; DEBEZ, A.; ABDELLY, C. Potassium deficiency in plants: effects and signaling cascades. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 36, n. 5, p. 1055–1070, 2014.

HENRY, G.; THONART, P.; ONGENA, M. PAMPs, MAMPs, DAMPs and others: an update on the diversity of plant immunity elicitors. **Biotechnology, Agronomy, Society and Environment**, v. 16, n. 2, p. 12, 2012.

HOLBEIN, J.; GRUNDLER, F. M. W.; SIDDIQUE, S. Plant basal resistance to nematodes: an update. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 7, p. 2049–2061, 2016.

HUSSAIN, M. A.; MUKHTAR, T.; KAYANI, M. Z. Reproduction of *Meloidogyne incognita* on resistant and susceptible okra cultivars. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences**, v. 53, n. 2, p. 371–375, 2016.

JARDIM, I. C. S. F.; DE ALMEIDA ANDRADE, J.; DE QUEIROZ, S. C. D. N. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global - um enfoque às maçãs. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 996–1012, 2009.

JUKANTI, A. Polyphenol oxidases (PPOs) in plants. In: **Polyphenol Oxidases (PPOs) in Plants**. Singapore: Springer Singapore, 2017. p. 93–106.

KEEPING, M. G. Uptake of silicon by sugarcane from applied sources may not reflect plant-available soil silicon and total silicon content of sources. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. May, p. 1–14, 2017.

LIANG, Y. et al. **Silicon in Agriculture**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2015. 235 p.

LIMA, F. S. O. et al. Nematodes affecting soybean and sustainable practices for affecting their management nematodes soybean and sustainable practices for their management. In: KASAI, M. (Ed.). **Soybean: The Basis of Yield, Biomass and Productivity**. 1. ed. Rijeka, Croatia: InTech Open, 2016. p. 95–110.

LIU, Q. L.; THOMAS, V. P.; WILLIAMSON, V. M. Meiotic parthenogenesis in a root-knot nematode results in rapid genomic homozygosity. **Genetics**, v. 176, n. July, p. 1483–1490, 2007.

MACHADO, A. C. Z. Current nematode threats to Brazilian agriculture. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 20, p. 26–35, 2014.

MATTEI, D. et al. Produtos fitossanitários biológicos disponíveis para agricultura e perspectivas de novos produtos. In: ZAMBOM, M. A. et al. (Eds.). **Ciências agrárias: ética do cuidado, legislação e tecnologia na agropecuária**. 1. ed. Marechal Cândido Rondon: Centro de Ciências Agrárias/ Unioeste, 2017a. p. 124–154.

MATTEI, D. et al. Influence of Rocksil[®], Silifort[®] and wollastonite on penetration and development of *Meloidogyne javanica* in poaceae and fabaceae. **Journal of Phytopathology**, v. 165, n. 2, p. 91–97, 2017b.

MAUCH-MANI, B. et al. Defense priming: an adaptive part of induced resistance. **Annual Review of Plant Biology**, v. 68, n. 1, p. 485–512, 2017.

MELO, T. A. de et al. Produtos naturais aplicados para manejo de *Meloidogyne incognita* em tomateiros. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 3, p. 223–227, 2012.

MITANI, N.; MA, J. F. Uptake system of silicon in different plant species. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 414, p. 1255–1261, 2005.

MOLINARI, S. Systemic acquired resistance activation in solanaceous crops as a management strategy against root-knot nematodes. **Pest Management Science**, v. 72, n. 5, p. 888–896, 2016.

MOLINARI, S.; BASER, N. Induction of resistance to root-knot nematodes by SAR elicitors in tomato. **Crop Protection**, v. 29, n. 11, p. 1354–1362, 2010.

OKA, Y.; COHEN, Y. Induced resistance to cyst and root-knot nematodes in cereals by DL- β -amino- n -butyric acid. **European Journal of Plant Pathology**, v. 2, p. 219–227, 2001.

OKA, Y.; TKACHI, N.; MOR, M. Phosphite inhibits development of the nematodes *Heterodera avenae* and *Meloidogyne marylandi* in cereals. **Phytopathology**, v. 97, p. 396–404, 2007.

OLIVEIRA, R. M. et al. Efeito do silicato de cálcio e magnésio sobre a reprodução de *Meloidogyne javanica* e desenvolvimento de mudas de bananeira Prata-Anã. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 2, p. 409–415, 2012.

PERRY, R. N.; MOENS, M. (EDS.). **Plant Nematology**. London: CABI, 2006. 447 p.

PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (EDS.). **Root-knot Nematodes**. CABI International, 2009. 488 p.

PUERARI, H. H. et al. Evaluation of acibenzolar-S-methyl for the control of *Meloidogyne javanica* and effects on the development of susceptible and resistant soybean. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 1, p. 44–48, 2013.

RAHMAN, A.; WALLIS, C. M.; UDDIN, W. Silicon-induced systemic defense responses in perennial ryegrass against infection by *Magnaporthe oryzae*. **Phytopathology**, v. 105, n. 6, p. 748–757, 2015.

ROLDI, M. et al. Control of *Meloidogyne paranaensis* in coffee plants mediated by silicon. **Nematology**, v. 19, n. 2, p. 245–250, 2017.

- SALGADO, S. M. D. L. et al. Efeito de indutores de resistência sobre *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1007–1013, 2007.
- SILVA, R. V. et al. Effects of silicon on the penetration and reproduction events of *Meloidogyne exigua* on coffee roots. **Bragantia**, v. 74, n. 2, p. 196–199, 2015.
- SILVA, R. V. et al. Biochemical responses of coffee resistance against *Meloidogyne exigua* mediated by silicon. **Plant Pathology**, v. 59, n. 3, p. 586–593, 2010.
- SORCE, C. et al. Hormonal signals involved in the regulation of cambial activity, xylogenesis and vessel patterning in trees. **Plant Cell Reports**, v. 32, n. 6, p. 885–898, 2013.
- STANGARLIN, J. R. et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18–46, 2011.
- STAPLETON, J. J. Soil solarization in various agricultural production systems. **Crop Protection**, v. 19, p. 837–841, 2000.
- TUBANA, B. S.; BABU, T.; DATNOFF, L. E. A review of silicon in soils and plants and its role in us agriculture. **Soil Science**, v. 181, n. 9–10, p. 1, 2016.
- VACULÍK, M. et al. Silicon modifies root anatomy, and uptake and subcellular distribution of cadmium in young maize plants. **Annals of Botany**, v. 110, n. 2, p. 433–443, 2012.
- VASANTHI, N.; SALEENA, L. M.; ANTHONI RAJ, S. Silicon in crop production and crop protection -a review. **Agricultural Reviews**, v. 35, n. 1, p. 14–23, 2014.
- VERMA, J. P. et al. Effect of indigenous *Mesorhizobium* spp . and plant growth promoting rhizobacteria on yields and nutrients uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under sustainable agriculture. **Ecological Engineering**, v. 51, p. 282–286, 2013.
- VITTI, A. J. et al. Effect of soybean seed treatment with abamectin and thiabendazole on *Heterodera glycines*. **Nematropica**, v. 44, n. 1, p. 74–80, 2007.
- WILLIAMSON, V. M.; HUSSEY, R. S. Nematode pathogenesis and resistance in plants. **The Plant Cell**,. 8, n. 10, p. 1735, 1996.
- ZHAN, L. et al. Priming effect of root-applied silicon on the enhancement of induced resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne graminicola* in rice. **BioMed Central Plant Biology**, v. 18, n. 50, p. 1–12, 2018.
- ZÖRB, C.; SENBAYRAM, M.; PEITER, E. Potassium in agriculture – status and perspectives. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, n. 9, p. 656–669, 2013.