

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

RAYSSA HELANA DA SILVA

**USO DE SILÍCIO E LEVEDURAS NO MANEJO DE *Cercospora beticola* SACC.
EM BETERRABA AÇUCAREIRA E SUAS IMPLICAÇÕES BIOQUÍMICAS E
PRODUTIVAS**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ

2021

RAYSSA HELANA DA SILVA

**USO DE SILÍCIO E LEVEDURAS NO MANEJO DE *Cercospora beticola* SACC.
EM BETERRABA AÇUCAREIRA E SUAS IMPLICAÇÕES BIOQUÍMICAS E
PRODUTIVAS**

Dissertação (mestrado) apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, para obtenção do título de Magister Scientiae.

Orientador: Prof. Dr. Odair José Kuhn

Coorientadora: Dra. Eliana Peliçon Pereira Figueira

MARECHAL CÂNDIDO RONDON – PARANÁ

2021

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

da Silva, Rayssa Helana
du USO DE SILÍCIO E LEVEDURAS NO MANEJO DE
Cercospora beticola SACC. EM BETERRABA AÇUCAREIRA E
SUAS IMPLICAÇÕES BIOQUÍMICAS E PRODUTIVAS / Rayssa
Helana da Silva; orientador Odair José Kuhn;
coorientador Eliana Pelicon Pereira Figueira. --
Marechal Cândido Rondon, 2021.
60 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de
Marechal Cândido Rondon) -- Universidade Estadual do
Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias,
Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2021.

1. Controle biológico. 2. controle alternativo.
3. silicato de cálcio. I. Kuhn, Odair José ,
orient. II. Pelicon Pereira Figueira, Eliana ,
coorient. III. Título.



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78690337/0003-48

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 86960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



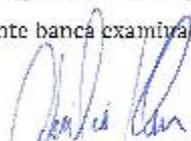
PARANÁ

GOVERNO DO ESTADO

RAYSSA HELANA DA SILVA

Uso de silício e leveduras no manejo de *Cercospora beticola* SACC. em beterraba
açucareira e suas implicações bioquímicas e produtivas

Dissertação apresentada à distância, de forma síncrona e por videoconferência,
conforme Resolução nº 052/2020 – CEPE, ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia
em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agronomia,
área de concentração Produção Vegetal, linha de pesquisa Fitossanidade e Controle
Alternativo, APROVADA pela seguinte banca examinadora:



Orientador: Odair José Kuhn

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

José Renato Stangarim

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

Anderson Luis Heling

Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR - PR)



Neumário Vilanova da Costa
Coordenador Especial do Programa de Pós-Graduação em Agronomia

Marechal Cândido Rondon, 28 de junho de 2021

“Sai de tua terra, da tua parentela, e da casa de teu pai, para a terra que eu te mostrarei. Eu farei de ti uma grande nação; abençoar-te-ei, e engrandecerei o teu nome; e tu, sê uma benção”.

A Ele, o escritor que escreveu minha história, o artista que colore meus dias, o maestro que rege com harmonia minha mente e coração. Ao Senhor da minha vida, dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero agradecer a Deus por ter me sustentado durante a realização desse projeto. Por ser o meu Senhor, salvador, amigo, pai e socorro bem presente na tribulação.

Agradeço aos meus pais Carlos Henrique e Ione Rodrigues e ao meu irmão Victor Hugo da Silva por serem minha fortaleza e acreditarem na minha evolução. Às minhas amigas, agradeço, por me ouvirem, me auxiliarem e tornarem meus dias mais leves, especialmente a Renata F. Barabasz e Monica C. Sustakowski.

Imensa gratidão tenho por meu orientador, professor Dr. Odair José Kuhn, por conduzir-me com sabedoria e paciência, por sempre estar presente e extrair o melhor de qualquer situação. Agradeço também a professora Dr^a. Eliana Figueira e ao professor Dr. José Renato Stangarlin por sempre estarem disponíveis a me auxiliar.

Para finalizar, também sou grata à Ana Kempa, ao Willian dos Reis, ao Henrique Gusmão, à Poliana Zimmermann, ao grupo de pesquisa em Controle Biológico e Alternativo em Fitossanidade (COBALFI), ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (PPGA), à CAPES pela concessão da bolsa de estudos e aos professores e funcionários da Universidade Estadual do Oeste do Paraná por contribuírem com a realização da pesquisa e para obtenção do título de mestre em Agronomia.

Muito obrigada!

RESUMO

DA SILVA, Rayssa Helana, Engenheira agrônoma, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Junho – 2021. **Uso de silício e leveduras no manejo de *Cercospora beticola* Sacc. em beterraba açucareira e suas implicações bioquímicas e produtivas.** Orientador: Prof. Dr. Odair José Kuhn. Coorientadora: Dra. Eliana Peliçon Pereira Figueira.

A produtividade da beterraba açucareira é reduzida pelo ataque de *Cercospora beticola* Sacc., sendo o controle químico o mais utilizado para controle de doenças, entretanto, a utilização de fungicidas pode levar a resistência adquirida pelo patógeno. Além disso, a necessidade de redução do impacto ambiental requer a utilização de métodos alternativos capazes de aumentar a resistência das plantas às doenças. Portanto, este trabalho objetivou o controle de *C. beticola* com auxílio de leveduras e silicato de cálcio, bem como avaliar os mecanismos bioquímicos e alterações produtivas desencadeados a partir dos tratamentos. Para as avaliações a campo, o delineamento experimental de blocos ao acaso (DBC) foi utilizado em esquema fatorial 3 X 2 com cinco repetições, sendo os tratamentos: as leveduras *Cryptococcus laurentii*, *Pichia pini* e o controle, testados na presença e ausência de silicato de cálcio. Foram realizadas avaliações de massas fresca e seca de raiz, produtividade, determinação dos teores de açúcar e avaliada a severidade da doença. Em câmara de crescimento, foi utilizado delineamento em DBC sendo quatro tratamentos (*C. laurentii*, *P. pini*, silício e controle) e seis repetições, onde foi realizado a determinação de fenóis totais, lignina, atividades de peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase. Não foi evidenciada diferença significativa entre os tratamentos e não houve interação entre os tratamentos e as condições (presença e ausência de silício) no experimento a campo, bem como não houve significância entre os tratamentos no experimento em câmara de crescimento. Portanto, o tratamento com leveduras e silício não promoveu ganhos de rendimento de raiz ou açúcar, não reduziram a severidade de doença e não promoveram alterações nas enzimas estudadas. Houve diferença significativa entre os tempos utilizados para proteína, peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase. Diante disso, faz-se necessário novos testes com diferentes doses de silício e maior número de aplicações de leveduras para observar a efetividade do tratamento com silício e leveduras para produção de beterraba açucareira e para controle de doenças.

Palavras-chave: Controle biológico, controle alternativo, silicato de cálcio.

ABSTRACT

DA SILVA, Rayssa Helana, Agronomy engineer, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, June – 2021. **Use of silicon and yeast in the management of *Cercospora beticola* Sacc. in sugar beet and their biochemical and productive implications.**

Advisor: Dr. Odair José Kuhn. Co-Advisors: Dr. Eliana Peliçon Pereira Figueira

Sugar beet productivity is reduced by the attack of *Cercospora beticola* Sacc. however, the resistance acquired by the pathogen to fungicides, added to the need to reduce the environmental impact, require the use of alternative methods capable of increasing plant resistance to diseases. Therefore, this work aimed to control *C. beticola* with the aid of yeasts and calcium silicate, as well as to evaluate the biochemical and productive mechanisms triggered by the treatments. Thus, for field evaluations, a randomized block experimental design (DBC) was used in a 3 x 2 factorial scheme with five replications, with the treatments: *Cryptococcus laurentii*, *Pichia pini* and control, tested in the presence and absence of calcium silicate. Fresh and dry root mass, yield, sugar content determination and disease severity were evaluated. In a growth chamber, a design in DBC was used, with 4 treatments (*C. laurentii*, *P. pini*, silicon and control) and 6 replications, where the determination of total phenols, lignin, peroxidase activities, polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia-lyase was carried out. There was no significant difference between treatments and there was no interaction between treatments and conditions in the field experiment, as well as no significance between treatments in the growth chamber experiment. Therefore, treatment with yeast and silicon did not promote gains in root or sugar yield, did not reduce disease severity and did not promote changes in the studied enzymes. There was a significant difference between the times used for protein, peroxidase, polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia-lyase. Therefore, new tests with different doses of silicon and a greater number of yeast applications are necessary to observe the effectiveness of the treatment with silicon and yeast for sugar beet production and for disease control.

Keywords: Biological control, alternative control, calcium silicate.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localização da área do experimento (destaque em vermelho) na Estação Experimental Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa. Marechal Cândido Rondon, 2019.	15
Figura 2. Mudanças com um par de folhas verdadeiras em bandeja de polipropileno de 200 células dentro da casa de vegetação. Marechal Cândido Rondon, 2019.	16
Figura 3. Armadilhas coloridas com cola entomológica para atração de insetos praga. Marechal Cândido Rondon, 2019.	17
Figura 4. Manchas foliares por cercosporiose representadas por lesões brancas circulares a esquerda e planta previamente demarcada para avaliações semanais a direita. Marechal Cândido Rondon, 2019.	19
Figura 5. Disposição das folhas para captura de imagem e determinação da área foliar (A) e determinação da massa fresca de raiz (B). Marechal Cândido Rondon, 2019.	20
Figura 6. Câmara de crescimento localizada no interior no Laboratório de Nematologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Marechal Cândido Rondon, 2020.	21
Figura 7. Câmara úmida em plantas de beterraba açucareira cv. ZR (5718-0464), tratadas com <i>Pichia pini</i> AH (02-1) e <i>Cryptococcus laurentii</i> AH (02-1) e tratadas com silicato de cálcio (dose 200 kg ha ⁻¹) e desafiadas com <i>Cercospora beticola</i> . Marechal Cândido Rondon, 2020.	23
Figura 8. Microtubos com as amostras sendo levados para banho maria a 100°C, protegidos com papel alumínio em cima para evitar a abertura das tampas.	25
Figura 9. Microtubos acondicionados dentro de um tubo Falcon (A) Tubos tipo Falcon foram colocados deitados sob agitação (B).	25
Figura 10. Proteínas totais (A) e atividades de peroxidase (B), polifenoloxidase (C), fenilalanina amônia-liase (D) em folhas de beterraba açucareira tratadas com <i>Pichia pini</i> AH (02-1), <i>Cryptococcus laurentii</i> AH (02-1) ou silício, antes do tratamento (0 DAT), antes da inoculação (3 DAT) e após inoculação com patógeno (6 DAT). Marechal Cândido Rondon, 2020.	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dosagem em kg ha ⁻¹ e em g parcela ⁻¹ dos fertilizantes utilizados no ensaio em condições de campo. Marechal Cândido Rondon, 2019.....	16
Tabela 2. Análise química do solo da área experimental a campo nas profundidades de 0 à 10 cm e de 10 à 20 cm e do solo autoclavado para ensaio em vaso. Marechal Cândido Rondon, 2020.....	17
Tabela 3. Dosagem em kg ha ⁻¹ e em mg parcela ⁻¹ dos fertilizantes utilizados no ensaio em câmara de crescimento. Marechal Cândido Rondon, 2020.....	22
Tabela 4. Número de folhas - NF, massa fresca de raiz – MFR (g), área foliar - AF (cm ²), produtividade - PROD (t ha ⁻¹) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em plantas de beterraba açucareira tratadas com <i>Pichia pini</i> AH (02-1) e <i>Criptococcus laurentii</i> AH (02-1), na presença ou ausência de silício. Marechal Cândido Rondon, 2019.....	29
Tabela 5. Sólidos solúveis – BRIX (%), açúcar fermentável – FERM (t ha ⁻¹) e produção de álcool – PA (l ha ⁻¹) de plantas de beterraba açucareira tratadas com <i>Pichia pini</i> AH (02-1) e <i>Criptococcus laurentii</i> AH (02-1) na presença ou ausência de silício. Marechal Cândido Rondon, 2019.....	32
Tabela 6. Proteína - PROT (mg mL ⁻¹), peroxidase - POX e polifenoloxidase - PPO (absorbância min ⁻¹ mg ⁻¹ de peso fresco), fenilalanina amônia-liase - FAL (µg ác. trans-cinâmico h ⁻¹ mg ⁻¹ de proteína), fenóis totais (mg g ⁻¹ de tecido fresco) e lignina (mg g ⁻¹) de plantas de beterraba açucareira tratadas com <i>Pichia pini</i> AH (02-1), <i>Criptococcus laurentii</i> AH (02-1) ou silício. Marechal Cândido Rondon, 2020.....	33

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1	BETERRABA AÇUCAREIRA	4
2.1.1	Características morfológicas e necessidade da cultura	4
2.1.2	Produção mundial de beterraba e projeções futuras	6
2.1.3	Açúcar, etanol e o comparativo com a cana de açúcar	6
2.2	CERCOSPORIOSE	7
2.3	CONTROLE ALTERNATIVO	9
2.3.1	Controle Biológico com leveduras	9
2.3.2	Silício	10
2.4	ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS	11
3	MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1	AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS PRODUTIVOS E TEORES DE AÇÚCAR EM BETERRABA TRATADA COM SILICATO DE CÁLCIO E LEVEDURAS... ..	14
3.1.1	Área experimental e condução do experimento	14
3.1.2	Coleta de dados ambientais	18
3.1.3	Obtenção, cultivo e preparo de inóculo de leveduras	18
3.1.4	Severidade da cercosporiose em beterraba tratada com silicato de cálcio e leveduras	18
3.1.5	Colheita e avaliações	19
3.2	AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS BIOQUÍMICOS RELACIONADOS A RESISTÊNCIA EM BETERRABA TRATADA COM SILICATO DE CÁLCIO E LEVEDURAS.....	21
3.2.1	Condução das plantas, obtenção e armazenamento de tecido foliar	21

3.2.2	Obtenção dos extratos e análises enzimáticas	23
4	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	28
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
6	CONCLUSÕES	39
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

1 INTRODUÇÃO

A beterraba açucareira é amplamente conhecida por sua produção na Europa e demais países para produção de açúcar e álcool. Segundo Ziedan e Farrag (2011), é a principal cultura contendo alta porcentagem de sacarose após a cana de açúcar.

Pode ser utilizada como cultura alternativa e econômica na alimentação animal quando a produção de milho for comprometida, diversificando a fonte de nutrientes. Na década de 80, houve um período de escassez de milho na cidade de Jaborá-SC, entre outubro a meados de dezembro, a produção foi insuficiente para atender a demanda humana e animal. Com a necessidade de substituir parcial ou totalmente a cultura do milho por outra fonte de energia, Ferreira et al. (1982) observaram nos primeiros estudos de beterraba açucareira no Brasil que a cultura era eficiente para alimentação dos suínos em fase de terminação.

No Brasil, Santos e Lhamby (1986) verificaram que a beterraba açucareira demonstrou-se viável para produção no inverno no estado do Rio Grande do Sul, obtendo rendimento de raiz de 34 t ha⁻¹ e porcentagem de sacarose de 16,4%, semelhantemente ou superior aos países tradicionalmente produtores, respectivamente, 30 t ha⁻¹ e 15%, na década de oitenta.

Segundo Doney e Theurer (1980), a capacidade desta beterraba de armazenar energia na forma de sacarose, ou seja, um açúcar prontamente fermentável, caracteriza-a como apropriada para produção de álcool nessa região, além de ser uma cultura alternativa de inverno.

Entretanto, a incidência de manchas foliares pode reduzir drasticamente a produtividade, de 15% a 45% (TIVELLI et al., 2011), devido à perda de área fotossinteticamente ativa. A cercosporiose, uma das doenças mais comuns e mais danosas a cultura da beterraba, pode reduzir os rendimentos de açúcar em mais de 30% (ESPADINHA, 2007).

No Estado do Paraná são cerca de 21 fungicidas liberados para controle da mancha de Cercospora na beterraba de mesa (ADAPAR, 2021) e no Brasil, um total de 51 produtos disponíveis, com destaque aos sistêmicos de ação curativa do grupo dos triazóis e estrobilurinas (AGROFIT, 2020). Entretanto, a diversidade não é atribuída somente a gama de produtos formulados, mas também a resistência de isolados monospóricos aos fungicidas.

Diante disso, o uso de controles alternativos como o controle biológico se faz necessário para prevenção de perdas na produção, além de contribuir para a preferência do consumidor a alimentos orgânicos e/ou produtos alimentares livres de resíduos químicos, onde a segurança alimentar é imprescindível, bem como a redução do impacto ambiental.

Além do aumento de vida útil de prateleira garantido pelo controle de doenças, outros benefícios também são obtidos com o controle biológico, como o amplo espectro de ação devido a inúmeros mecanismos envolvidos na ação dos antagonistas, bem como a recomposição da biodiversidade da área agrícola (MEDEIROS; SILVA; PASCHOLATI, 2018).

Os microrganismos mais pesquisados no controle biológico são os fungos e bactérias. Os fungos não patogênicos a plantas podem controlar fungos, bactérias e nematoides fitopatogênicos, sendo os ascomicetos os fungos com mais sucesso no controle biológico. Entretanto, oomicetos e basidiomicetos podem também caracterizar-se como antagônicos a fitopatógenos. As leveduras, em sua maioria ascomicetos, são exemplo desses microrganismos antagônicos amplamente utilizados no controle de doenças de parte aérea e de raiz através de diversos mecanismos de ação (MEDEIROS; SILVA; PASCHOLATI, 2018).

Assim como as leveduras, o silício (Si) pode auxiliar na redução da severidade de doenças em diferentes culturas como no trabalho de Neumann Silva et al. (2017), onde o silício não somente induziu resistência a *Cercospora* nas fases inicial e final do ciclo da beterraba, como também pode ter contribuído indiretamente para aumento da produtividade da cultura. De uma forma geral, o silício é de grande importância por auxiliar na redução da vulnerabilidade a estresses biótico e abióticos (SACALA, 2009).

É conhecida a presença do silício nas monocotiledôneas, sendo variadas as concentrações dependendo da espécie, podendo variar de 0,1% a 10% da massa seca (EPSTEIN, 1999), entretanto, há dicotiledôneas que também apresentam Si em concentrações menores que as monocotiledôneas como algumas Fabaceas (ervilha), Curcubitaceas (pepino), Rosaceas e Asteraceas (SANGSTER et al., 2001).

A presença de silício em beterraba açucareira foi relatado por Guntzer et al. (2012), sendo caracterizada como bio-acumuladora, dessa forma, o silício foi utilizado neste trabalho como forma de controle alternativo. Diante disso, este trabalho visa o controle de *C. beticola* com a utilização de leveduras e silício, bem como compreender

os mecanismos bioquímicos desencadeados na planta de beterraba açucareira com o tratamento, além de verificar efeito nos componentes produtivos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 BETERRABA AÇUCAREIRA

2.1.1 Características morfológicas e necessidade da cultura

Pertencente à família *Amarantaceae* (STEVENS, 2017), a beterraba açucareira é uma dicotiledônea herbácea, cultivada principalmente em zonas temperadas. Necessita de temperatura de 15 a 18 °C para seu melhor desenvolvimento, tolerando temperaturas entre 4 e 24 °C. Caracteriza-se por necessitar de menos pesticidas e menos água, além de aumentar a retenção e água no solo (DRAYCOTT, 2006). Segundo Asadi (2007) a composição da raiz é 70% água e 25% de substâncias secas (17,5% o que pode ser decomposto em sacarose; 2,5% de substâncias não sacaríferas e 5% de bagaço), podendo ser utilizada para diversos fins como produção de açúcar, etanol, alimento para os animais e matéria prima para indústria (produtos farmacêuticos, plásticos, têxteis, produtos químicos).

Com o desenvolvimento da cultura inicia a formação do órgão de reserva localizado entre as folhas e a raiz, o qual se denomina de beterraba. Primeiramente os monossacarídeos são sintetizados nas folhas através da fotossíntese onde parte destes são convertidos em sacarose, os quais são transportados através do floema para as células do parênquima da raiz onde ficam estocadas nos vacúolos das células. Com o acúmulo de sacarose ocorre o engrossamento dessa região a qual é dividida em três partes: a coroa (epicótilo) cresce acima do solo, é a parte onde as folhas estão inseridas, mede de 2 a 3 cm; o hipocótilo (pescoço) também cresce acima da terra, mede de 3 a 8 cm; e a raiz que cresce no subsolo, mais ou menos de 20 a 25 cm, onde está a maior concentração de sacarose.

A maior parte do teor de açúcar se concentra no centro da raiz e reduz rapidamente em direção a coroa e lentamente em direção à ponta da raiz (ASADI, 2007). Há duas depressões laterais estendendo-se para baixo contendo raízes laterais dispostas em duas filas duplas. Uma planta bem formada possui raízes laterais filiformes e apenas uma raiz principal, às vezes, pode se ramificar em várias raízes espessas, e geralmente em solos com certo grau de compactação já é possível observar essa ramificação (ARTSCHWAGER, 1926).

Desenvolvem-se melhor em solos de pH maior ou igual a 6,5. A germinação geralmente se completa em uma semana e geralmente ocorre acima de 8 °C. A maior parte dos solos utilizados para cultura da beterraba são os franco-argilosos, franco-arenosos e franco-turfosos. A preparação do solo é de grande importância, pois o rendimento desta cultura é sensível a compactação, e caso a percolação seja baixa, a superfície do solo se torna alagada e diminui a oxigenação da planta; já em solos mais arenosos onde há percolação excessiva, pode ocorrer lixiviação dos nutrientes necessários para o crescimento da beterraba.

Pode ser cultivada com ou sem irrigação, dependendo da localidade e da quantidade de chuvas. Geralmente o consumo de água é reduzido com o aumento de latitude. A beterraba pode usar de 350 mm em áreas temperadas a mais de 1000 mm em áreas áridas, segundo Draycott (2006). No trabalho de Özbay e Yildirim (2018) desenvolvido na Turquia, os primeiros 38 dias da beterraba açucareira no sistema de irrigação por aspersão necessitou de 143 mm, o período de crescimento com 92 dias necessitou de 622 mm e o período de maturação com durabilidade de 53 dias foi utilizado 210 mm, totalizando 975 mm de água para todo cultivo.

A fase de formação vegetativa é um período sensível ao déficit hídrico e a perda de turgor causa fechamento estomático das folhas e declínio da atividade fotossintética resultando em perda de rendimento (STEGMEN; BAUER, 1977). Entretanto, há aumento na concentração de açúcar, sendo geralmente interrompida a irrigação no último mês antes da colheita para concentração de açúcar na raiz (ÖZBAY; YILDIRIM, 2018).

Ghaffari et al. (2019) observaram que o estresse hídrico leve e severo, 75% e 50% da necessidade de água da planta, respectivamente, reduziram o rendimento de raízes de beterraba açucareira, entretanto, isso ocorreu também pela diminuição dos pigmentos fotossintéticos e efeitos tóxicos devido à alteração no conteúdo de água. Além disso, o estresse hídrico provocou síntese e acúmulo de enzimas antioxidantes.

O espaçamento entre linha utilizado é de 36 a 76 cm e geralmente herbicidas são usados na fase de pré e pós emergência para conter as plantas daninhas que possam crescer mesmo após aração profunda do solo. Pode-se dizer também que há um melhor crescimento quando é realizada rotação de cultura, ou seja, nos intervalos de plantio da beterraba, utilizar culturas como trigo, cevada e ervilhas (ASADI, 2007).

2.1.2 Produção mundial de beterraba e projeções futuras

No ano de 2019 a produção mundial de beterraba foi estimada em 271 milhões de toneladas, sendo a Rússia a maior produtora com 54,4 milhões de toneladas, contribuindo com 20,05% da produção mundial. Os outros quatro maiores produtores (França, Alemanha, Estados Unidos e Turquia) juntamente com a Rússia são responsáveis por 61,29% da produção mundial (KNOEMA, 2019).

Para os próximos anos, a perspectiva de crescimento para produção de beterraba açucareira é de 0,7% ao ano, inferior ao crescimento de 1,1% da cana de açúcar. Espera-se uma expansão no Egito, Ucrânia, Turquia, China e reduções na União Europeia e Federação Russa. Nos Estados Unidos, onde o açúcar é extraído tanto da cana de açúcar como da beterraba, maiores rendimentos são previstos. Entretanto, a necessidade de tecnologia de colheita aprimorada aumenta os custos e diminui o crescimento da produção de beterraba açucareira (OECD/FAO, 2020).

2.1.3 Açúcar, etanol e o comparativo com a cana de açúcar

No Brasil, na década de 80, foi dado início a algumas pesquisas para implementar a produção de açúcar e álcool da beterraba açucareira no período de entressafra de cana de açúcar (TOMASINI, 1983), entretanto, não houve avanço no desenvolvimento industrial. O processo é o mesmo que o etanol provindo da cana, visto que o etanol é produzido a partir da sacarose (OLIVEIRA, SERRA; MAGALHÃES, 2012). Para chegar às usinas, as beterrabas necessitam ser limpas e cortadas em fatias finas que são lavadas com água quente em um difusor para extrair o açúcar. O líquido resultante apresenta cerca de 16% de sólidos solúveis e o resíduo fibroso é utilizado para alimentação dos animais (MANOCHIO, 2014).

Atualmente, a cana de açúcar, predominante nos países tropicais e subtropicais da Ásia, América Latina e África, possui cerca de 86% da produção mundial de açúcar e a beterraba o restante. No Brasil já iniciou o aumento da produção de cana devido à necessidade de etanol pois o país tem tomado medidas para redução das emissões de carbono, além das flutuações com o preço do petróleo bruto. O país continua na posição de maior produtor de açúcar a partir de cana, cerca de 18% da produção mundial até 2029 (OECD/FAO, 2020).

Uma tonelada de cana pode produzir cerca de 70 litros de etanol ou se for utilizada somente para produção de açúcar, pode gerar 100 kg do produto somado a

cerca de 20 litros de bioetanol a partir do melaço. Uma tonelada de beterraba açucareira pode render 100 litros de etanol (MACHADO; ABREU, 2006), o resíduo geralmente é utilizado para alimentação animal ou fertilizante e o melaço como aditivo alimentar.

A produtividade da cana-de-açúcar foi de 76 t ha⁻¹ no Brasil na safra 2019/2020 e produção de 642,7 milhões de toneladas da cultura, 34 bilhões de litros de etanol e 29,8 milhões de toneladas de açúcar, no entanto, é bastante influenciada pelas condições edafoclimáticas, necessitando de chuvas regulares ou irrigação (CONAB, 2020). Quando se compara o rendimento de etanol a partir de um hectare de matéria-prima, o rendimento da beterraba também se assemelha ao da cana, alcançando média de 500 litros de etanol por hectare de beterraba cultivada (MANOCHIO, 2014), entretanto, a beterraba necessita ser replantada anualmente para produção de açúcar e álcool e a cana é renovada de seis em seis anos. Embora o rendimento da cana reduza com o passar dos anos e exija muita água, o custo da produção de etanol por beterraba acaba sendo mais elevado (MONTEIRO, 2011).

A produção de açúcar mundial 2020/2021 foi 40,3 milhões de toneladas produzidos a partir da beterraba açucareira e 146,9 milhões de toneladas da cana, entretanto, o mercado mundial de açúcar tem estado incerto devido ao consumo e comércio instáveis, e países como Índia sofrem por condições climáticas. União Européia e Tailândia, importantes produtores, também são afetados pelo clima. Atualmente o açúcar branco encontra-se na faixa de 70 dólares por tonelada, devendo aumentar para 83 dólares por t até 2029, concomitante ao aumento da produção de cana-de-açúcar e beterraba devido ao aumento da área plantada e produtividade, respectivamente (OECD/FAO, 2020).

2.2 CERCOSPORIOSE

De acordo com El-Kholi (2000), as doenças normalmente encontradas na beterraba ao redor do mundo, mais comumente nos países temperados, são cercosporiose (*Cercospora beticola* Sacc.), oídio (*Erysiphe betae* Vanha Weltzien) e ferrugem (*Uromyces betae* Press), que são comumente manejados através de cultivares resistentes, controle biológico, produtos químicos e rotação de cultura para a cercosporiose. Tais doenças podem reduzir drasticamente a produção, mas no Brasil somente há relatos de cercosporiose. Marcuzzo et al. (2015) afirmam que não

são comercializados genótipos resistentes a cercosporiose no país, sendo imprescindível o correto controle garantindo a sanidade da lavoura e boa produção.

Os primeiros relatos da *Cercospora* como doença na beterraba foram originalmente descritos por Saccardo (1878) apud Piszczek et al. (2019). A doença provavelmente teve origem na Europa Central e na área do Mediterrâneo (GROENEWALD; GROENEWALD; CROUS, 2005). Espécies do gênero *Cercospora* são muito difundidas, infestando muitas famílias de plantas. Há alta variação fenotípica do fungo dependendo da população que coloniza uma folha, isolados escuros, por exemplo, são considerados mais patogênicos (MORETTI; SARACCHI; FARINA, 2004). Uma das características do gênero é a produção da cercosporina (ASSANTE et al., 1977), fitotoxina fotossensível envolvida no processo patogênico. Outro metabólito secundário é a beticolina e um grupo de moléculas conhecidas como toxinas *Cercospora beticola* (CBT) que são menos conhecidas no processo patogênico.

A cercosporiose possui como agente etiológico o fungo mitospórico *Cercospora beticola* Sacc., o qual produz conidióforos multicelulares e forma conídios hialinos longos, semelhante a uma agulha, que são facilmente liberados, levados pelo vento a longas distâncias (AGRIOS, 2005), podendo ainda serem dispersos por insetos e pela água de irrigação. É favorecido por altas temperaturas e umidade, a condição ótima é de 25 a 30 °C e de 5 a 8 horas de umidade relativa acima de 90% ou com molhamento foliar (WOLF; HEINDL; VERREET, 2001). É mais destrutivo durante o verão, onde nessas condições o número de conídios pode ser maior (KHAN; QI; KHAN, 2009). A atividade do fungo reduz a uma temperatura inferior a 15 °C, bem como a esporulação e infecção não ocorrem à 10 °C (PISZCZEK et al., 2019).

Os sintomas são bem característicos, iniciam com pontos circulares, pequenos e marrons de 3 a 5 milímetros de diâmetro com bordas roxo-avermelhadas; essas manchas podem coalescer e comprometer uma grande porcentagem de área foliar. O centro da lesão pode se tornar cinza, mais fino e frágil, caindo e deixando a folha com diversas fissuras. Em ataques severos, todo limbo foliar pode ser destruído e cair (AGRIOS, 2005).

A destruição das folhas estimula a planta a reconstruir a roseta e a raiz vai ficando em formato longo, cônico e com menos açúcar. Portanto, a perda de área

fotossinteticamente ativa resulta em menor teor de açúcar e rendimento das raízes, bem como aumento de sódio e potássio.

2.3 CONTROLE ALTERNATIVO

O controle alternativo é definido como conjunto de métodos de controle de doenças dos quais excetuam-se o controle químico e o controle genético. Destaca-se por ser um meio eficiente para inibição do desenvolvimento de diversos fungos fitopatogênicos, sem causar efeitos indesejáveis ao meio ambiente, dos quais estão em evidência o controle biológico e a indução de resistência (BETTIOL et al., 1991).

2.3.1 Controle Biológico com leveduras

Segundo Medeiros; Silva e Pascholati (2018), o controle biológico de doenças caracteriza-se pelo uso de um microrganismo não patogênico denominado antagonista ao patógeno, para controle de outro patogênico. Pode ser definido também como a redução de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocadas por um patógeno, podendo ocorrer a destruição parcial ou total de populações por organismos frequentemente encontrados na natureza que podem atuar através de diversos mecanismos de ação como a antibiose, competição, parasitismo, predação, ou por meio da indução de resistência.

Esses agentes antagônicos podem ser constituídos de cepas avirulentas do mesmo patógeno que se deseja controlar, destruindo ou inibindo o desenvolvimento do mesmo, assim como ocorre na hipovirulência e na proteção cruzada. Embora os antagonistas biológicos possam sofrer inúmeras limitações ecológicas (AGRIOS, 2005), diversos estudos comprovaram sua aptidão para controle de diversas doenças.

Os microrganismos envolvidos no controle biológico devem ser geneticamente estáveis e não sofrer variação em suas atividades antagônicas, ter a capacidade de crescer em meio de cultura barato, de fácil produção, ser eficaz em concentrações baixas, não causar danos ao homem e ser compatível com outros métodos de controle para que seja eficaz nas condições adversas que ocorrem em parte aérea, considerada o nicho mais complicado para o antagonista devido as flutuações de umidade, temperatura, incidência de raios UV, pouco nutriente e

ocorrência de fitopatógenos que co-evoluíram com a planta para manter o parasitismo (MEDEIROS; SILVA; PASCHOLATI, 2018).

É importante ter o conhecimento da sucessão microbiana no fitoplano para saber quais microrganismos serão mais eficazes no controle. As bactérias, por exemplo, são boas agentes de controle biológico no início do desenvolvimento quando há pouco nutriente disponível no limbo foliar, logo após, quando as folhas estão expandidas, as leveduras são a melhor opção e quando a planta está em senescência os fungos filamentosos são os melhores colonizadores (MEDEIROS; SILVA; PASCHOLATI, 2018).

As leveduras, organismos unicelulares não filamentosos, de formato esférico ou oval, destacam-se como agente de biocontrole de doenças por fazer parte da microbiota epifítica e endofítica da planta, competindo com os patógenos (MELLO et al., 2011), não necessitam de nutrientes especiais para ágil proliferação e suportam condições ambientais adversas (RUIZ-MOYANO et al., 2016). As leveduras podem ainda auxiliar na manutenção da produtividade das culturas afetadas por algum estresse, como observado por Da Silva et al. (2020) com plantas de trigo tratadas com a levedura *Zygoascus hellenicus* que impediu maiores perdas ocasionadas pela estiagem.

2.3.2 Silício

O segundo elemento mais abundante da crosta terrestre não é considerado um elemento essencial às plantas (JONES; HANDRECK, 1967), mas é classificado como elemento benéfico ou útil (MALAVOLTA, 1980), sendo absorvido na forma de ácido monossilícico (H_4SiO_4). Está relacionado principalmente ao crescimento e produção vegetal obtidos em consequência da resistência a estresses bióticos e abióticos (FERREIRA, 2017).

O silício atua na estruturação dos tecidos devido ao acúmulo de compostos fenólicos e lignina, alterando a conformação anatômica do tecido como o espessamento das células epidérmicas pela deposição de sílica. As células epidérmicas silicificadas, formam uma barreira mecânica e química ao patógeno, sendo, portanto, amplamente associado a resistência de plantas a doenças (KORNDÖRFER et al., 2010).

Há inúmeros outros mecanismos favoráveis na ação do silício, como o aumento da capacidade fotossintética devido ao aumento do teor de clorofila, atuação

como sinalizador, aumentando a atividade de enzimas como quitinases, peroxidases e polifenoloxidasas (KAUR et al., 2016), aumento da absorção de fósforo, indução da absorção de micronutrientes (RAVEN, 2003) e atenuação de alumínio, manganês, ferro e outros metais pesados.

Estudo realizado na Polônia mostrou que o uso de fertilizante foliar de cálcio e silício é vantajoso e ecologicamente correto para a produção de beterraba açucareira. A aplicação realizada no estágio de quatro a seis folhas com dose 262 g Ca ha⁻¹; 79,9 g Si ha⁻¹ e após 3 semanas, 524 g Ca ha⁻¹ e 159,8 g Si ha⁻¹ obteve maior variabilidade nos rendimentos de raiz, folhas, açúcar e teor de sódio (ARTYSZAK; GOZDOWSKI; KUCINSKA, 2016).

A acumulação de silício pode ser definida de duas maneiras, o conteúdo de silício e a relação Si/Ca. O valor crítico para definir o conteúdo de silício é 0,5% do conteúdo de silício absorvido na massa seca vegetal. Plantas com porcentagem de silício maior que 1% ou relação Si/Ca maior que 1,0, são definidas como acumuladoras; porcentagem de silício menor que 0,5% ou relação Si/Ca menor que 0,5, não acumulam silício. E as espécies que estão entre esses extremos são as intermediárias. Se uma planta possui porcentagem de silício maior que 1% mas a relação Si/Ca estiver abaixo de 1,0, ela é classificada como intermediária também (MA; TAKAHASHI, 2002).

2.4 ALTERAÇÕES BIOQUÍMICAS

Quando o patógeno inicia sua atividade sobre o hospedeiro com o objetivo de penetrar e estabelecer uma relação parasitária estável, uma das primeiras respostas deste para combater o avanço do patógeno é a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), entretanto, essa medida defensiva pode causar danos a célula do hospedeiro, facilitando a colonização dos tecidos por fungos necrotróficos (GLAZEBROOK, 2005). Os danos oxidativos causados por altos níveis de EROs podem ser aliviados com um complexo sistema antioxidante de defesa composto por peroxidase, catalase, ascorbato peroxidase e componentes não enzimáticos, como ácidos fenólicos, flavonoides e ácido ascórbico, entre outros, segundo Chopra e Selote (2007) e Kasote et al. (2015).

Além de causas bióticas, fatores abióticos como baixa temperatura, podem estimular a produção de fenóis (PADDA; PICHIA, 2008) ou ainda, condições de seca

podem elevar a quantidade de EROs, promovendo notável incremento de metabólitos secundários e capacidade antioxidante. No trabalho de Islam et al. (2020), as atividades de defesa das enzimas antioxidantes tiveram alta relação com o aumento do estresse abiótico. Sob estresse hídrico, plantas com mais atividade de enzimas antioxidantes possuem capacidade maior para eliminação de radicais livres.

O estresse oxidativo gera H_2O_2 em condições de estresse hídrico que estimula a alta produção de atividade enzimática antioxidante. As proteínas peroxidase (POX) envolvidas na lignificação fazem parte dos mecanismos bioquímicos de defesa das plantas, sendo classificadas como proteínas relacionadas a patogênese (Proteínas-RP) pertencentes a família PR-9 (STANGARLIN et al., 2011).

A diversidade das reações catalisadas pelas POXs explica a implicação destas em uma gama de processos fisiológicos como no metabolismo de auxina, formação de lignina, suberina, defesa contra patógenos e no alongamento celular. A POX catalisa a redução de H_2O_2 levando elétrons para várias moléculas doadoras como fenóis, precursores da lignina ou metabólitos secundários, também podem oxidar auxinas e outros substratos (PASSARDI et al., 2004).

A polifenoloxidase (PPO) catalisa a oxidação de fenólicos em *o*-quinonas, composto fungitóxico que evita que os tecidos sejam colonizados pelo patógeno (ARAJI et al., 2014; KAKUEINEZHAD et al., 2017). A atividade de PPO pode ser vinculada a eliminação de EROs não enzimático, como flavonoides e substratos de ácido fenólico (BOECKX et al., 2015). El-Argawy e Adss (2016) mostraram ainda que as atividades de POX e PPO podem ser marcadores bioquímicos para diferenciar cultivares de batata resistentes ou suscetíveis a *Ralstonia solanacearum*.

Outra enzima associada aos mecanismos de defesa da planta é a fenilalanina amônia-liase (FAL) pertencente ao metabolismo secundário. Esta enzima é chave nas reações do metabolismo dos compostos fenólicos, envolvida na rota dos fenilpropanóides. É responsável pela desaminação da L-fenilalanina convertendo-a em ácido *trans*-cinâmico e amônia. Alguns compostos fenólicos como os ácidos 4-coumárico, cafeico, ferúlico e sináptico, necessários para formação de ésteres, coumarinas, flavonoides e ligninas, possuem o ácido *trans*-cinâmico incorporado a sua estrutura (STANGARLIN et al., 2011).

Quando se fala em metabólitos secundários, destacam-se os compostos fenólicos, juntamente com os terpênicos, esteroides e alcaloides, moléculas que

prolongam a probabilidade de sobrevivência de uma espécie pois podem atuar como antibióticos, antifúngicos e antivirais para proteção de plantas a patógenos, podendo ainda apresentar atividade antigerminativa ou tóxica para outras plantas (FUMAGALI et al., 2008).

A lignina atua na fortificação de paredes celulares de citoplasmas em degradação ou cuja célula está sendo invadida por patógeno, exigindo do invasor a síntese de ligninases para conseguir dar continuidade a colonização. Pode-se ainda ocorrer a lignificação das estruturas do patógeno de forma a impedi-lo de chegar ao citoplasma, a formação do tubo lignífero por exemplo, dificulta o trânsito de água e nutrientes para o fungo e a passagem de toxinas e enzimas do patógeno para planta (STANGARLIN et al., 2011).

Portanto, o aumento da atividade de POX, PPO e produção de compostos fenólicos se enquadram nos principais mecanismos de defesa vegetal através da neutralização das reações oxidativas induzidas pelo patógeno que desencadeiam mecanismos como aumento da expressão de genes antioxidantes e atividade elevada de enzimas antioxidantes nas plantas, garantindo resistência do hospedeiro ao estresse (KAKUEINEZHAD et al., 2017). Além disso, também é registrada a presença dessas enzimas em plantas saudáveis, porém em baixa atividade (GHAZY; SHAHIN; MUSTAFA, 2020).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no período de maio de 2019 a dezembro de 2020 com o experimento a campo na Estação Experimental Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa, e outro em vaso na câmara de crescimento localizada dentro do Laboratório de Nematologia. Demais atividades como cultura de leveduras e avaliações bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Fitopatologia pertencente à Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), Campus Marechal Cândido Rondon-PR.

3.1 AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS PRODUTIVOS E TEORES DE AÇÚCAR EM BETERRABA TRATADA COM SILICATO DE CÁLCIO E LEVEDURAS

3.1.1 Área experimental e condução do experimento

O experimento foi realizado em condições de campo na Estação Experimental Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa por 150 dias, sendo a área utilizada nas coordenadas 24°31'57.0"S 54°01'13.7"W e altitude média de 378 metros. O clima local é subtropical úmido (Cfa) segundo a classificação de Köppen, é marcado por chuvas bem distribuídas durante todo o ano com verões quentes. A temperatura média varia entre 22 e 23 °C e umidade relativa de 70% a 75%. A média de precipitação pluvial varia entre 1600 e 1800 mm (WREGE et al., 2011).



Figura 1. Localização da área do experimento (destaque em vermelho) na Estação Experimental Prof. Dr. Antônio Carlos dos Santos Pessoa. Marechal Cândido Rondon, 2019.

Os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial 3 X 2 com cinco repetições, sendo três tratamentos: as leveduras *Cryptococcus laurentii* e *Pichia pini* e controle, testados na presença e ausência de silicato de cálcio, totalizando 30 unidades experimentais. O espaçamento entrelinha foi de 40 cm e entre planta de 25 cm, totalizando 60 plantas por parcela, sendo estas nas dimensões 2,0 X 3,0 metros contendo 5 linhas de 3 m em cada.

A fonte de silício utilizada foi o silicato de cálcio na dose de 200 kg ha⁻¹, distribuído manualmente a lanço e revolvido nos primeiros 3 a 5 cm de solo com auxílio de uma enxada. A fonte de silício continha 10,5% de silício, 26% de cálcio e 8% de magnésio.

As sementes ZR (5718-0464) da empresa KWS foram semeadas em 12 bandejas de polipropileno de 200 células contendo substrato comercial (Figura 2). Foi realizada irrigação das mudas diariamente, duas vezes ao dia e adubação foliar nas mudas com 30 dias após a emergência (DAE). Cerca de 43 DAE, as plantas foram transplantadas para o campo. Para o estabelecimento das mudas durante as primeiras duas semanas após transplante, as plantas foram irrigadas duas vezes ao

dia por aspersão por período de 20 a 30 minutos. Após 15 dias o regime de irrigação passou para uma vez ao dia, sempre pela manhã.



Figura 2. Mudanças com um par de folhas verdadeiras em bandeja de polipropileno de 200 células dentro da casa de vegetação. Marechal Cândido Rondon, 2019.

A adubação de plantio foi realizada manualmente a lanço por parcela seguindo as recomendações do Manual de adubação e calagem para o estado do Paraná (SBCS, 2019) para beterraba de mesa (Tabela 1) de acordo com análise de solo realizada previamente (Tabela 2). Os fertilizantes foram incorporados ao solo com auxílio de enxada e em seguida efetuado o transplante das mudas. A adubação de cobertura com ureia na dose de 35 kg ha⁻¹ foi realizada com cerca de 45 dias após o transplante para manutenção de nitrogênio durante a tuberização.

Tabela 1. Dosagem em kg ha⁻¹ e em g parcela⁻¹ dos fertilizantes utilizados no ensaio em condições de campo. Marechal Cândido Rondon, 2019.

Dose recomendada	Fertilizantes utilizados	Aplicação por parcela do fertilizante
160,50 (P ₂ O ₅)	Superfosfato simples	535,00
100,50 (K ₂ O)	Cloreto de potássio	100,50
100,00 (N)	Ureia	39,60

Tabela 2. Análise química do solo da área experimental a campo nas profundidades de 0 à 10 cm e de 10 à 20 cm e do solo autoclavado para ensaio em vaso. Marechal Cândido Rondon, 2020.

Elementos	Unidades	0-10 cm	10-20 cm	Vaso
P	mg dm ⁻³	9,46	8,51	137,48
MO	g dm ⁻³	44,425	25,29	10,75
pH CaCl ₂	0,01 mol L ⁻¹	5,325	5,62	6,33
H+Al	cmol _c dm ⁻³	5,325	4,715	2,24
Al ³⁺		0,00	0,00	0,00
K ⁺		0,48	0,41	0,90
Ca ²⁺		4,17	4,37	1,89
Mg ²⁺		2,345	2,425	1,47
SB		6,995	7,205	4,26
CTC		12,32	11,92	6,50
V	%	56,73	61,19	65,50
Al		0,00	0,00	0,00

Para controle de pragas, após o transplante foram colocadas iscas para controle de formigas cortadeiras. Ao longo do experimento também foram colocadas armadilhas coloridas com cola entomológica artesanal (Óleo de Neem e Breu) para atração de insetos praga e possíveis vetores de doenças (Figura 3). A eliminação de plantas voluntárias foi efetuada conforme a necessidade, por meio de capina ou manualmente em razão do fechamento da parcela, que ocorreu por volta dos 90 dias após semeadura.



Figura 3. Armadilhas coloridas com cola entomológica para atração de insetos praga. Marechal Cândido Rondon, 2019.

3.1.2 Coleta de dados ambientais

De acordo com os dados levantados pelo INMET (2019), o volume de chuvas total durante o período que a cultura esteve a campo, ou seja, do dia 23 de agosto a 06 de dezembro, foi de 289,6 mm. A média de temperatura do ar horária através do bulbo seco ao longo dos dias que a cultura esteve a campo foi de 24,68 °C e 59,29% de umidade relativa horária. A estação meteorológica, cujas coordenadas são 24°31'48.0"S 54°01'12.0"W e altitude de 392,07 m, se encontra a 281 m da área do experimento.

3.1.3 Obtenção, cultivo e preparo de inóculo de leveduras

As leveduras *Cryptococcus laurentii* AH (02-1) e *Pichia pini* (AH 15-3), foram obtidas da coleção de leveduras (SISGEN- A6E1DFA) do Laboratório de Fitopatologia da Unioeste, Campus de Marechal Cândido Rondon. O cultivo foi realizado em placa de Petri contendo meio ágar-YEPG, onde as leveduras foram mantidas a 25 °C com 12 horas de fotoperíodo em BOD. Após o crescimento, foram preparadas as suspensões, ajustadas à concentração de 1×10^8 células mL⁻¹ com auxílio de câmara de Neubauer e pulverizadas com auxílio de borrifador manual planta a planta ao final da tarde, sendo o horário mais fresco do dia, aos 20 dias após transplantio.

3.1.4 Severidade da cercosporiose em beterraba tratada com silicato de cálcio e leveduras.

A partir do primeiro sintoma de cercosporiose adquirida naturalmente a campo, cinco plantas por parcela útil previamente demarcadas com fita crepe (Figura 4) foram avaliadas semanalmente. Para facilitar a disseminação dos esporos pelo vento, foi realizado o transplante de mudas do cultivar de mesa Chata do Egito com cercosporiose ao redor de todo experimento. As mudas da beterraba de mesa foram produzidas em três bandejas de 200 células de polipropileno e quando estavam com cerca de 26 DAE foram transplantadas juntamente com a beterraba açucareira.



Figura 4. Manchas foliares por cercosporiose representadas por lesões brancas circulares a esquerda e planta previamente demarcada para avaliações semanais a direita. Marechal Cândido Rondon, 2019.

Quatro avaliações foram realizadas com auxílio de escala diagramática desenvolvida por May de Mio et al. (2008) para construção da curva de progresso da doença, após isso foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de acordo com a equação adaptada de Shaner e Finney (1977).

Equação:

$$AACPD = \sum_{i=1}^n = \left[\left(\frac{Y_{i+n1} + Y_i}{2} \right) \times (X_{i+1} - X_1) \right]$$

Sendo Y_i = severidade de *Cercospora* (por unidade) em cada observação, X_i = tempo (dias) na observação e n = número total de observações.

3.1.5 Colheita e avaliações

Quando as plantas atingiram maturidade fisiológica, o experimento foi colhido manualmente tendo-se o cuidado para separar as três linhas centrais das bordaduras. Com auxílio de sacos e caixas plásticas agrícolas (hortifruti), as plantas foram encaminhadas para o laboratório de Nematologia onde as plantas centrais foram avaliadas quanto a número de folhas, área foliar através do programa QUANT (VALE et al., 2003), massa seca de folhas, massa fresca e seca (g) das raízes (Figura 5-B) e

sólidos solúveis-Brix (%) com auxílio de refratômetro digital. A massa fresca de raiz total da parcela foi utilizada para estimativa da produtividade em $t\ ha^{-1}$.

Para as avaliações das plantas centrais, a parte aérea e raízes foram separadas com auxílio de uma faca. Na parte aérea, foi quantificado o número de folhas, estas foram dispostas sobre a bancada próximo a uma régua graduada para calibração do programa QUANT para cálculo de área foliar (Figura 5-A). Após, as folhas foram colocadas dentro de sacos de papel identificados com o respectivo tratamento e encaminhadas para estufa de circulação forçada de ar a $65\ ^\circ C$ por cerca de 48 horas para obtenção da massa seca de folhas.



Figura 5. Disposição das folhas para captura de imagem e determinação da área foliar (A) e determinação da massa fresca de raiz (B). Marechal Cândido Rondon, 2019.

As raízes foram pesadas para obter massa fresca, após foram cortadas, colocadas dentro de sacos de papel e encaminhadas para estufa de circulação forçada de ar a $65\ ^\circ C$ por cerca de 72 a 96 horas, para completa secagem e obtenção de massa seca de raiz. Antes de encaminhá-las para estufa, foi extraído um fragmento de aproximadamente 0,5 gramas pesado em balança de precisão, o qual foi triturado juntamente com 1 mL de água destilada com auxílio de almofariz e pistilo para determinação dos graus Brix no refratômetro digital.

A partir dos sólidos solúveis, foi calculado a quantia de açúcar fermentável (sólidos solúveis multiplicado pelo rendimento de raiz dividido por 100) em $t\ ha^{-1}$ e o rendimento de álcool ($L\ ha^{-1}$) caracterizado por 50% do açúcar fermentável (SANTOS; LHAMBY, 1986).

3.2 AVALIAÇÃO DOS MECANISMOS BIOQUÍMICOS RELACIONADOS A RESISTÊNCIA EM BETERRABA TRATADA COM SILICATO DE CÁLCIO E LEVEDURAS

3.2.1 Condução das plantas, obtenção e armazenamento de tecido foliar

3.2.1.1 Delineamento experimental e condução.

O experimento foi conduzido em câmara de crescimento (Figura 6) no período de agosto a outubro e as análises realizadas em novembro e dezembro de 2020. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso (DBC), sendo quatro tratamentos, seis repetições em três tempos distintos, totalizando 24 unidades experimentais com três plantas em cada. Amostras para análises bioquímicas foram coletadas em três tempos distintos, sendo: tempo zero, antes do tratamento com levedura, três dias após o tratamento e seis dias após o tratamento. O sexto dia após o tratamento também constitui o terceiro dia pós inoculação do patógeno.



Figura 6. Câmara de crescimento localizada no interior no Laboratório de Nematologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Marechal Cândido Rondon, 2020.

Utilizou-se também as sementes da empresa KWS semeadas em bandejas de polipropileno de 200 células contendo substrato comercial. Ao completar 40 dias, as mudas foram transplantadas para vasos de polietileno de 3 L preenchidos com mistura homogênea de solo LATOSSOLO VERMELHO Eutroférico, areia e matéria orgânica na proporção de 1:1:1 autoclavados a 121 °C e 1 atm por 2 horas. Os vasos

foram adubados de acordo com a necessidade observada em análise de solo (Tabela 2) com dosagem expressa na tabela 3 por ocasião do transplante.

Tabela 3. Dosagem em kg ha⁻¹ e em mg parcela⁻¹ dos fertilizantes utilizados no ensaio em câmara de crescimento. Marechal Cândido Rondon, 2020.

Dose recomendada	Fertilizantes utilizados	Aplicação por vaso do fertilizante
160,50 (P ₂ O ₅)	Superfosfato simples	1004,00
100,50 (K ₂ O)	Cloreto de potássio	151,50
100,00 (N)	Ureia	99,00

3.2.1.2 Tratamentos

Os tratamentos utilizados foram silício, controle (água) e as leveduras *P. pini* AH (02-1) e *C. laurentii* AH (02-1) (SIGGEN- A6E1DFA). Estas foram cultivadas em meio ágar-YEPG por um período de 7 dias, quando atingiram o máximo crescimento dentro da placa de Petri. As placas foram raspadas com auxílio de uma alça de Drigalski para retirar o máximo de células de levedura.

Os tratamentos foram aplicados aos 20 dias após transplante, com auxílio de um borrifador manual, aplicando-se em toda parte aérea da planta até o total molhamento foliar, tendo-se cautela para não haver o coalescimento de gotas e subsequente escorrimento.

3.2.1.3 Inoculação

A inoculação das plantas com *C. beticola* foi efetuada três dias após o tratamento. O cultivo do micélio do patógeno foi efetuada em placas de Petri contendo meio BDA mantidos em BOD a 25 °C por 15 dias. Por não ocorrer esporulação do fungo na placa de Petri, foi mantido inóculo em plantas conduzidas em vasos para compor a suspensão inoculada nas plantas.

A suspensão com micélio e esporos na concentração de 10⁴ esporos mL⁻¹ de água destilada foi borrifada nas faces adaxial e abaxial das folhas com auxílio de um borrifador manual, até o ponto de molhamento total da folha sem que houvesse escorrimento, após, as plantas foram acondicionadas em câmara úmida por período de 46 horas (Figura 7).



Figura 7. Câmara úmida em plantas de beterraba açucareira cv. ZR (5718-0464), tratadas com *Pichia pini* AH (02-1) e *Cryptococcus laurentii* AH (02-1) e tratadas com silicato de cálcio (dose 200 kg ha⁻¹) e desafiadas com *Cercospora beticola*. Marechal Cândido Rondon, 2020.

3.2.1.4 Coleta de tecido foliar

A coleta do tecido foliar foi realizada no dia do tratamento, três e seis dias após o tratamento. Consistiu em arranquio da planta inteira e a partir desta, retirado três porções de aproximadamente 0,3 g do limbo foliar, excluindo-se a nervura central, pesadas em balança de precisão, embaladas em papel alumínio, identificadas e armazenadas a temperatura de -20 °C no Laboratório de Fitopatologia. A partir dessas amostras foram obtidos o extrato proteico e metanólico para determinação de proteínas solúveis totais, atividade de peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase, bem como, para o teor de fenóis totais e lignina.

3.2.2 Obtenção dos extratos e análises enzimáticas

3.2.2.1 Obtenção do extrato metanólico

Para determinação de fenóis totais e lignina foi obtido o extrato metanólico, para o qual amostras de aproximadamente 0,2 g de tecido foliar previamente congelado foi homogeneizado em 1 mL de metanol 80% com auxílio de homogeneizador de amostras (modelo FastPrep-24) por 40 s a velocidade de 7 m s⁻¹. O tubo próprio do aparelho após homogeneização foi encaminhado para centrífuga a 12.000g por 5 minutos, 950 µL do sobrenadante foi transferido para novo microtubo

de 1,5 mL e acondicionado em congelador a -20 °C para determinação de fenóis totais, e o pelete residual foi armazenado para determinação do teor de lignina.

3.2.2.2 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos totais foram determinados através da mistura de 150 µL do extrato metanólico e 150 µL do reagente Folin-Ciocalteu 0,25 N mantidos por 5 minutos a 25 °C, após foi adicionado 150 µL de carbonato de sódio a 1M (Na_2CO_3), homogeneizado e deixado em repouso por 10 minutos a temperatura ambiente.

A essa mistura foi adicionado 1 mL de água destilada deionizada e mantida em repouso com uma hora à temperatura ambiente. Após, foi realizada leitura em espectrofotômetro a 725 nm com cubeta de vidro com passo ótico de 10 mm. A absorbância foi calculada com base na curva de catecol ($y=0,0167x + 0,0369$, onde “y” é a absorbância a 725 nm e “x” a concentração de fenóis). Os resultados foram expressos em equivalente mg de catecol grama⁻¹ de tecido fresco (RODRIGUES et al., 2005).

3.2.2.3 Lignina

Ao resíduo resultante da extração metanólica sedimentado ao fundo do tubo de centrifugação foi adicionado 1 mL de água destilada, agitado e transferido para microtubo. Em seguida, foram centrifugados a 12.000g por 5 minutos, desprezando-se o sobrenadante. O microtubo com resíduo vegetal foi colocado em estufa de circulação forçada de ar a 65 °C por 24 horas.

No resíduo seco insolúvel em álcool contendo lignina e ácidos fenólicos esterificados da parede celular, foi adicionado 1,5 mL de solução contendo ácido tioglicólico e ácido clorídrico 2 M, na proporção de 1:10 para determinação de lignina conforme metodologia de Barber e Ride (1988). Os microtubos foram levemente agitados para hidratação do resíduo e levados para banho-maria a 100 °C por 4 horas (Figura 8). Posteriormente, foram colocados no gelo por 10 min, encaminhados a centrífuga a 12.000g por 10 min, descartando-se o sobrenadante. Ao resíduo foi acrescentado 1,5 mL de água destilada deionizada e novamente colocado na centrífuga com 10.000g por 10 min.

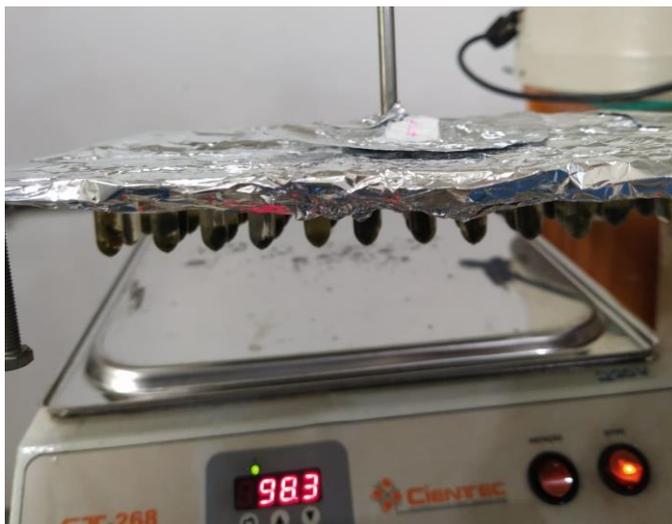


Figura 8. Microtubos com as amostras sendo levados para banho-maria a 100 °C, protegidos com papel alumínio para evitar a abertura das tampas.

Descartado o sobrenadante, o precipitado foi ressuspensão em 1,5 mL de NaOH 0,5 M e permaneceu em agitação por 18 horas (Figura 9-B), após colocado em centrífuga a 10.000g por 10 min. O sobrenadante foi transferido para um novo microtubo, os quais foram levadas para capela e adicionado 200 μ L de HCl concentrado em cada. A seguir, permaneceram em caixa térmica por 4 horas, encaminhadas a centrífuga a 10.000g por 10 min, descartando o sobrenadante. O precipitado foi ressuspensão em 2 mL de NaOH 0,5 M para realização da leitura utilizando cubeta de quartzo.

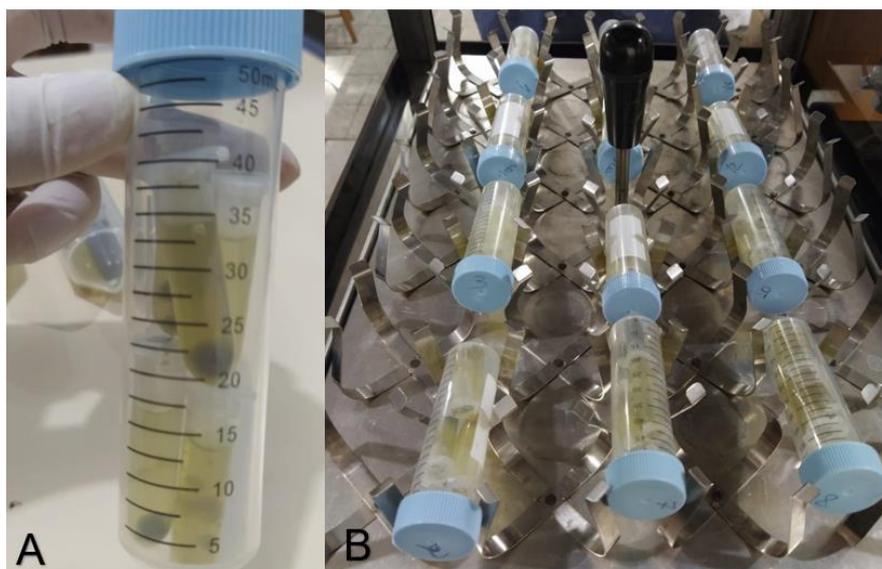


Figura 9. Microtubos acondicionados dentro de um tubo Falcon com capacidade de 50 mL (A). Tubos tipo Falcon foram colocados deitados sob agitação (B).

A absorvância foi determinada a 280 nm e os valores calculados com base na curva padrão de lignina ($y=0,0112x + 0,0135$, onde “y” é a absorvância a 280 nm e “x” a concentração de lignina) expressos em miligrama de lignina por grama de tecido fresco.

3.2.2.4 Obtenção do extrato proteico

Para obtenção dos extratos proteicos para as demais avaliações, as amostras de 0,3 g congeladas do tecido foliar foram homogeneizadas em 1,0 mL de solução contendo tampão fosfato de sódio 0,01 M (pH 6,0) e polivinilpirrolidona k-30 (PVP) em homogeneizador modelo FastPrep-24™ 5^G agitado na velocidade de $7,0 \text{ m s}^{-1}$ por 40 segundos duas vezes seguidas. O homogenato foi centrifugado a $20.000g$ por 25 min a $4 \text{ }^\circ\text{C}$, sendo 450 μL do sobrenadante colocado em novo microtubo com mais 1 mL de solução tampão fosfato de sódio. Foram preparados dois microtubos por amostra com esta proporção, armazenados a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ e posteriormente utilizados para determinação de proteínas totais, atividade de peroxidases, polifenoloxidase e atividade de fenilalanina amônia-liase.

3.2.2.5 Proteínas totais

O teor de proteínas totais foi determinado pelo método de Bradford (1976) em triplicata, sendo que para cada amostra utilizou-se 750 μL de tampão fosfato 0,01M (pH 6,0), 50 μL de extrato proteico e por último 200 μL de reagente Bradford (composto por 250 mL de ácido fosfórico-Orto 85%, 125 mL de etanol 95%, 250 mg de corante azul de Comassie brilhante G-250 e aproximadamente 125 mL de água destilada, de forma a completar 500 mL de solução) em tubo de ensaio de 5 mL.

O reagente Bradford foi adicionado sob agitação com auxílio de vortex, posteriormente as amostras foram incubadas por 5 minutos (a leitura deve ser realizada com mínimo de 5 e máximo de 20 min após colocar o Bradford) e lidas em espectrofotômetro a 595 nm em cubeta de vidro.

Na prova em branco para calibração do espectrofotômetro foi utilizado 800 μL de tampão fosfato 0,01 M (pH 6,0) e 200 μL de Bradford. A absorvância foi plotada em curva padrão para proteínas ($y=0,0279x + 0,0101$, onde “y” é a absorvância a 595

nm e “x” a concentração de proteínas em µg). Os resultados foram expressos em mg de proteína por mL.

3.2.2.6 Atividade de peroxidase

A determinação da atividade de peroxidase foi realizada através do método espectrofotômetro direto conforme Lusso e Pascholati (1999) em duplicata, para isso foi preparado uma solução contendo 87,5 mL de tampão fosfato 0,01 M (pH 6,0), 12,5 mL de guaiacol 2% e 310 µL peróxido de hidrogênio mantidos em banho-maria a 30 °C.

A leitura de 900 µL da mistura detalhada a cima somado a 100 µL do extrato proteico foi realizada a cada 15 segundos durante 2 min no espectrofotômetro a 470 nm em cubeta de vidro, sendo a atividade expressa como atividade específica (unidades de absorbância min⁻¹ mg⁻¹ proteína).

3.2.2.7 Atividade de fenilalanina amônia-liase

A atividade de fenilalanina amônia-liase foi avaliada pela quantificação colorimétrica do ácido *trans*-cinâmico liberado pelo substrato fenilalanina (UMESHA, 2006). A mistura da reação, incubada a 40 °C por duas horas continha 50 µL de extrato proteico, 450 µL de tampão Tris-HCl 0,025 M (pH 8,8) e 500 µL de fenilalanina (0,8255 g de L-fenilalanina para 100 mL de tampão Tris-HCl 0,025 M (pH 8,8)).

O controle para cada amostra foi composto de mistura de 50 µL de extrato proteico e 950 µL de Tris-HCl 0,025 M (pH 8,8), já a prova em branco utilizada para calibrar o espectrofotômetro antes de iniciar as leituras, continha 500 µL de fenilalanina e 500 µL de Tris-HCl 0,025 M (pH 8,8).

Após retirar os tubos de ensaio contendo a mistura de reação do banho-maria por 2 horas, foi adicionado 60 µL de HCl 5M para cessar a reação e realizar a leitura em cubeta de quartzo a 290 nm, sendo subtraído de cada amostra o valor do controle. A absorbância foi plotada em curva padrão para o ácido *trans*-cinâmico ($y=0,0279x + 0,0101$, onde “y” é a absorbância a 290 nm e “x” a concentração de ácido *trans*-cinâmico) e a atividade enzimática expressa em µg de ácido *trans*-cinâmico min⁻¹ mg⁻¹ de proteína.

3.2.2.8 Polifenoloxidase

A atividade de polifenoloxidase foi determinada conforme Duangmal e Aparenten (1999) em duplicata, para isso foi preparada solução composta por 50 mL de tampão fosfato de sódio 0,01 M (pH 6,0) e 0,110 g de catecol (pirocatequina) e mantida por 30 minutos a 30 °C em banho-maria antes de iniciar as leituras. A mistura lida em espectrofotômetro a 420 nm a cada 15 segundos durante um minuto continha 100 µL do extrato proteico e 900 µL da solução de catecol.

4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A análise estatística foi realizada para o experimento a campo, onde os dados foram submetidos a teste de normalidade (Shapiro-Wilk), análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nas avaliações bioquímicas, os dados foram plotados de acordo com as curvas padrões, tabulados, submetidos a teste de normalidade (Shapiro-Wilk), análise de variância e as médias comparada pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Para as variáveis que obtiveram diferença significativa entre os tempos, foi realizado regressão linear e os dados dispostos em gráfico juntamente com a equação linear e o coeficiente de determinação (R^2).

As análises estatísticas foram realizadas através do uso do programa estatístico SISVAR 5.3 (FERREIRA, 2011).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do experimento de campo não evidenciaram diferença significativa entre os tratamentos (leveduras e controle) e as condições (com e sem silício), assim como não houve interação entre os dois para as variáveis estudadas (Tabela 4). Diante disso, o tratamento com leveduras ou a adubação com silício não influenciaram o número de folhas, massa fresca de raiz, a área foliar, produtividade ou a área abaixo da curva de progresso da doença, entretanto as médias são mostradas abaixo.

Tabela 4. Número de folhas - NF, massa fresca de raiz – MFR (g), área foliar - AF (cm²), produtividade - PROD (t ha⁻¹) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em plantas de beterraba açucareira tratadas com *Pichia pini* AH (02-1) e *Cryptococcus laurentii* AH (02-1), na presença ou ausência de silício. Marechal Cândido Rondon, 2019.

Tratamentos	NF ^{NS}	AF ^{NS}	MFR ^{NS}	AACPD ^{NS}	PROD ^{NS}
<i>C. laurentii</i>	20,48	1418,79	1008,3	14,41	24,41
<i>P. pini</i>	21,18	1324,82	949,00	12,90	24,00
Controle	21,30	1429,90	999,80	13,04	26,18
Sem silício	20,85	1315,69	983,00	14,12	25,00
Com silício	21,12	1466,65	988,40	12,78	24,73
Média geral	20,99	1391,17	985,7	13,45	24,87
CV (%)	7,00	17,63	10,52	14,54	11,38

Médias na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS- não significativo. Os dados foram transformados a $\sqrt{x+0,5}$.

O número de folhas médio obtido foi de 20 folhas por planta quantificadas ao final do experimento com 1391,17 cm² para média geral de área foliar. No trabalho de Shevchuk et al. (2019) foi avaliado a cada 10 dias o número de folhas formadas durante a vegetação, o tratamento controle obteve a média de 48,1 folhas formadas e cerca de 12 folhas mortas durante o experimento, ou seja, uma média de 36 folhas vivas e 1751 cm² de área foliar no final da vegetação. Portanto, o número de folhas encontra-se como o esperado para uma região não produtora e em conformidade com outros trabalhos.

A média geral para massa fresca de raízes foi 985,7 g semelhante aos valores encontrados no trabalho de Makhlouf et al. (2020) que testou os efeitos da fertilização de fósforo, boro e magnésio na produção e qualidade da beterraba açucareira onde obtiveram 993 g e 919 g no primeiro (2017/2018) e segundo ano (2018/2019) de experimento no tratamento sem boro, bem como 1037 g e 950 g no tratamento zero

para sulfato de magnésio no primeiro e segundo ano de experimento, respectivamente.

O maior valor obtido para produtividade é encontrado no tratamento controle com 26,18 t ha⁻¹, entretanto não se diferencia estatisticamente dos tratamentos com silício e com as leveduras. Em um trabalho realizado recentemente no Egito por Thaloorth et al. (2019), o tratamento com levedura obteve aproximadamente 43,9 t ha⁻¹. Esse valor foi superior ao tratamento com ácido húmico e inferior a combinação da levedura com ácido húmico.

Há relatos que a presença das leveduras permite que macro e micronutrientes, reguladores de crescimento e vitaminas estimulem o acúmulo de matéria seca (HESHAM; MOHAMED, 2011). Entretanto, as leveduras utilizadas neste trabalho não demonstraram ação significativa em nenhuma variável analisada.

No ensaio realizado por Carvalho (2017), as leveduras *Rhodorula glutinis* e *Sporidiobolus johnsonii* reduziram a severidade de cretamento bacteriano em feijoeiro e podem atuar como indutores de crescimento de plantas. Para testar o efeito do número de aplicações, *R glutinis* diminuiu a AACPD em 62,73% quando aplicada duas vezes em casa de vegetação. Dessa forma, uma única aplicação a campo pode ser uma hipótese para a não significância dos tratamentos com leveduras

O rendimento médio de raiz obtidos em teste de competição de cultivares de beterraba açucareira e forrageira realizados em Passo Fundo foi 25,3 t ha⁻¹, (SANTOS et al., 1983) e em outro teste na região sudeste do RS foi de 18,9 a 38,1 t ha⁻¹ em Pelotas e Piratini (PORTO et al., 1981). Portanto, o presente estudo mostra-se em conformidade com resultados anteriores obtidos no país.

Quando se compara com os testes atuais de outros países, pode-se dizer que a principal hipótese para a baixa produtividade obtida é a alta proliferação de doenças a campo, como a presença de *Sclerotium rolfsii* no solo que causou a podridão de raízes e morte de diversas plantas. A doença ocorreu em reboleira e diminuiu consideravelmente o rendimento de raízes das parcelas.

A média geral para área abaixo da curva de progresso da doença obtida foi 13,45, equivalente a média da última avaliação da severidade com 1,3% da área foliar lesionada. Esse valor de 13,45 encontra-se inferior à média geral do ensaio de Heling, (2019) que obteve 21,29 em beterrabas de mesa tratadas com isolados de levedura. Ainda no trabalho de Heling (2019), a menor AACPD encontrada foi para levedura *C.*

laurentii, com 7,54 e a testemunha apresentou 43,11, ou seja, *C. laurentii* reduziu a AACPD em 82,5%, sendo portanto, um promissor agente de controle.

Entretanto, no ensaio em que Da Silva et al., (2020) testou a severidade de mancha amarela no trigo, as plantas tratadas com *C. laurentii* não se diferenciaram do controle com água destilada e com o fungicida, somente as plantas tratadas com *Candida albicans* que diferenciaram das demais, entretanto favoreceram o aumento da severidade, elevando de 0,5% (testemunha) para 2,68% a ocorrência de doença.

No presente trabalho também não houve diferença significativa entre os tratamentos, *C. laurentii* obteve 14,41 e o controle, 13,04 de AACPD. Essa não significância se deve ao fato de que não houve expressiva ocorrência de cercosporiose a campo, cujos valores permanecem abaixo de 5,21% de área lesionada da folha. Há a hipótese que a inoculação de forma natural não tenha proporcionado o avanço esperado da doença cuja redução da severidade com o tratamento das leveduras pudesse ser observado. Dessa forma, é necessário que seja realizado inoculação do patógeno planta a planta para uma infecção eficaz, bem como expressiva diferença significativa quando aplicado os tratamentos.

Quando se comparam as condições isoladas, as parcelas tratadas sem silício apresentam valor numérico maior que as parcelas com silício, entretanto não se pode dizer que a ausência do silício favoreceu o rendimento de raiz.

Foi realizado fertilização foliar com a fonte de silício Herbagreen Basic (Ca + Si) e Optysil (Si) em beterraba açucareira variedade Danuska KWS em dois anos consecutivos de experimento na Polônia (ARTYSZAK; GOZDOWSKI; KUCINSKA, 2015). Quando se aplicou Si + Ca houve aumento de rendimento de 12,6% em relação a testemunha e variou de 10,4% a 16,2% dependendo da dose. Os rendimentos máximos de raiz foram alcançados com uma aplicação de Herbagreen Basic (393 g ha⁻¹ de Ca e 120 g ha⁻¹ de Si) que obteve 151,9 t ha⁻¹ de raiz em comparação com a testemunha que obteve 108,6 t ha⁻¹. Entretanto, a média dos dois experimentos para essa dose foi de 105,3 t ha⁻¹ e para testemunha de 90,6 t ha⁻¹.

No trabalho de Prentice (2017) o rendimento de raiz aumentou até 40% com a adubação no solo acrescida de 250 kg ha⁻¹ de Agrisilica na semeadura (26% de silício) no Marrocos. As demais doses testadas foram 150, 200 e 300 kg ha⁻¹ e o tratamento controle era apenas a adubação padrão com nitrogênio e fósforo. Entretanto esse acréscimo não foi observado no presente trabalho provavelmente pelo fato de ser

utilizado dose menor (200 kg ha⁻¹) e silicato de cálcio (10,5% de Si) que apresenta menor porcentagem de silício que Agrisilica.

Relatos anteriores mostram que a combinação de leveduras com compostos exógenos como cálcio (TIAN et al., 2002), ácido salicílico (QIN et al., 2003), bicarbonato de sódio (YAO; TIAN; WANG, 2004), e trealose (LI; TIAN, 2006) auxiliam no desempenho do controle biológico, entretanto, os tratamentos contendo silicato de cálcio (26% de cálcio) e levedura não se diferenciaram dos demais.

Portanto, doses mais altas com maiores porcentagens de silício, bem como a adição de outros compostos devem ser estudadas a fim de obter diferença significativa entre os tratamentos. Assim como aplicações foliares de leveduras também podem ser testadas para aumentos de rendimento de folhas e raízes e diminuição da doença.

A média geral obtida para sólidos solúveis (Tabela 5) foi 11% e não apresentou diferença estatística entre os tratamentos assim como no trabalho de Santos et al. (1983), entretanto o valor apresenta-se inferior ao que os autores obtiveram (17,7%). Sendo assim, a presença de silício e o tratamento com as leveduras não influenciaram no teor de açúcar das beterrabas. Asadi (2007) afirma que a porcentagem de sacarose em plantas maduras é 17%, mas esse valor é dependente da variedade, das variações de um ano para o outro e das condições em que a planta cresceu.

Tabela 5. Sólidos solúveis – BRIX (%), açúcar fermentável – FERM (t ha⁻¹) e produção de álcool – PA (l ha⁻¹) de plantas de beterraba açucareira tratadas com *Pichia pini* AH (02-1) e *Cryptococcus laurentii* AH (02-1) na presença ou ausência de silício. Marechal Cândido Rondon, 2019.

Tratamentos	BRIX ^{NS}	FERM ^{NS}	PA ^{NS}
<i>C. laurentii</i>	11,24	2,76	1380,67
<i>P. pini</i>	11,14	2,63	1314,20
Controle	10,63	2,73	1366,22
Sem silício	11,58	2,88	1438,32
Com silício	10,41	2,54	1269,06
Média geral	11,00	2,71	1353,69
CV (%)	12,79	12,79	10,89

Médias na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. NS- não significativo. Os dados foram transformados a $\sqrt{(x+0,5)}$.

Quanto ao açúcar fermentável e produção de álcool, as médias de 2,71 t ha⁻¹ e 1353,69 L ha⁻¹ encontram-se inferiores ao trabalho realizado por Santos e Lhamby, (1986) que obtiveram 6,58 t ha⁻¹ e 3288 L ha⁻¹ no estado do Rio Grande do Sul com 170 a 180 dias de condução, respectivamente. Varga et al. (2020) considera que 150

a 200 dias de condução é tempo necessário para produção de açúcar, todavia, no presente estudo a colheita foi realizada aos 150 dias após emergir.

No estudo de Ghazy, Shahin e Mustafa (2020) foi testada a ação do controle de seis elementos minerais e fungicida no controle de *C. beticola* em beterraba açucareira. Todos os tratamentos obtiveram redução da severidade da doença, aumento da atividade das enzimas catalase, peroxidase e polifenoloxidase, aumento da porcentagem de massa seca de folhas e da massa fresca de raiz quando se compara com o controle nos dois anos testados.

Para as análises bioquímicas, não houve diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 6) e na interação dos tratamentos com os tempos determinados de nenhuma das variáveis analisadas. Proteínas, peroxidase, polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase mostraram diferença significativa entre os dias das avaliações por meio de regressão e os dados foram expressos em gráfico (Figura 10). Fenóis e lignina não mostraram diferença significativa entre os dias, portanto os gráficos foram ocultados.

Tabela 6. Proteína - PROT (mg mL⁻¹), peroxidase - POX e polifenoloxidase - PPO (absorbância min⁻¹ mg⁻¹ de peso fresco), fenilalanina amônia-liase - FAL (µg ác. trans-cinâmico h⁻¹ mg⁻¹ de proteína), fenóis totais (mg g⁻¹ de tecido fresco) e lignina (mg g⁻¹) de plantas de beterraba açucareira tratadas com *Pichia pini* AH (02-1), *Criptomococcus laurentii* AH (02-1) ou silício. Marechal Cândido Rondon, 2020.

Tratamentos	PROT ^{NS}	POX ^{NS}	PPO ^{NS}	FAL ^{NS}	Fenóis ^{NS}	Lignina ^{NS}
<i>C. laurentii</i>	0,735	1,003	0,964	8,922	0,074	0,900
<i>P. pini</i>	0,739	1,633	1,590	8,659	0,071	0,913
Silício	0,668	1,145	1,444	7,586	0,081	1,059
Testemunha	0,725	1,599	1,391	9,102	0,079	1,054
Média geral	0,716	1,334	1,345	8,544	0,076	0,978
CV (%)	32,36	27,91	32,34	36,40	28,67	36,24

Médias na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os dados foram transformados a $\sqrt{(x+0,5)}$, exceto PROT e FENÓIS que são dados normais. NS- não significativo; DAT- dias após tratamento.

No trabalho de Zhang et al. (2017) o estresse oxidativo induzido pela exposição a 300 mM de H₂O₂ gera o acúmulo intracelular de EROs em *C. laurentii*, que pode ocorrer com a presença do patógeno no hospedeiro, ocasionou a apoptose das células da levedura, reduzindo a viabilidade do controle biológico a *Penicillium expansum* em pêssegos. Pode-se dizer que houve estresse oxidativo no presente trabalho quando se considera o aumento da maioria das enzimas observadas aos 6 dias após tratamento (Figura 10), entretanto, não é possível observar os possíveis

danos causados às células de *C. laurentii* como no artigo mencionado devido a não significância entre os tratamentos (Tabela 6), sendo *C. laurentii* semelhante aos demais.

Se por um lado o estresse oxidativo pode interferir na eficiência do agente de controle biológico, por outro lado a produção endógena ou aplicação exógena podem reduzir de forma rápida os efeitos de EROs sobre os agentes de biocontrole. A glutathiona reduzida, é uma molécula antioxidante presente em plantas e animais participante da manutenção do estado antioxidante dos organismos (CNUBBEN et al., 2001; HÉROUART et al., 2002), é considerada como a principal forma de anular EROs intracelular (SCHAFER; BUETTNER, 2001). Ainda no trabalho de Zhang et al. (2017), foi avaliado os efeitos desta na viabilidade celular e desempenho de biocontrole de *C. laurentii* sob estresse oxidativo exógeno. Para isso, foi adicionado glutathiona reduzida ao meio de cultura para anular o acúmulo de EROs intracelular e aumentar a tolerância da levedura ao estresse por H₂O₂, sendo possível observar melhora na eficácia do biocontrole *C. Laurentii* contra mofo azul em pêssego.

A redução do excesso de EROs, acúmulo de diferentes tipos de oxigênio nas células resultante da interação patógeno-hospedeiro, é importante para evitar a oxidação com danos graves à planta e ao patógeno (SAMSATLY; COPLEY; JABAJI, 2018). Por isso os sistemas antioxidantes tem um papel vital na proteção contra o estresse oxidativo.

Participante do metabolismo primário do tecido foliar, as proteínas tiveram seu teor reduzido nas folhas no trabalho de Kuhn (2007) após tratamento com *Bacillus cereus*, entretanto não houve interferência no crescimento ou produtividade do feijoeiro. Neste experimento, é observada expressiva redução após a inoculação com o patógeno, aos 6 DAT, como pode ser observado no gráfico da Figura 10.A.

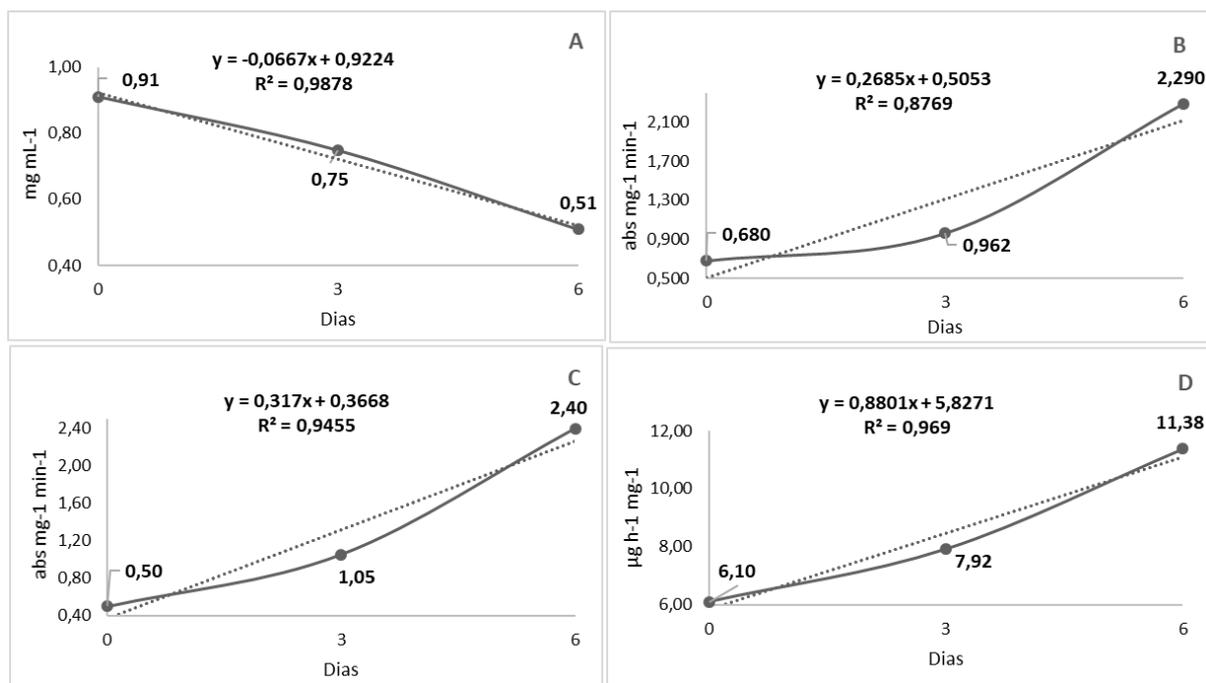


Figura 10. Proteínas totais (A) e atividades de peroxidase (B), polifenoloxidase (C), fenilalanina amônia-liase (D) em folhas de beterraba açucareira tratadas com *Pichia pini* AH (02-1), *Cryptococcus laurentii* AH (02-1) ou silício, antes do tratamento (0 DAT), antes da inoculação (3 DAT) e após inoculação com patógeno (6 DAT). Marechal Cândido Rondon, 2020.

A diminuição do teor de proteínas pode ser explicada pelos diferentes tipos de proteínas sintetizadas a partir da indução biótica e para isso são necessários substratos que podem ser representados pelas proteínas do protoplasma que podem gerar proteínas de membrana, integrais ou intrínsecas que se ligam às membranas por interações hidrofóbicas que não são solúveis em tampões aquosos (KUHN, 2007).

A peroxidase, enzima relacionada a indução de resistência, obteve média geral 1,334 (Tabela 6), sendo semelhante a alguns resultados obtidos por Kakueinezhad et al. (2017), como nas plantas resistentes com 6 semanas, inoculadas após 24 horas, que obtiveram 1,38 de absorbância ou nas plantas susceptíveis, não inoculadas, com 12 semanas que obtiveram 1,32 após 96 horas aos tratamentos. No presente estudo, obteve-se 2,29 para peroxidase aos 6 DAT, sendo mais notório o incremento à curva entre os 3 e 6 DAT (Figura 10.B). Os valores encontrados mostram-se superiores aos de Heling (2019) que não observou diferença significativa entre os tratamentos aos 6 dias após tratamento com média geral 0,275.

No trabalho de Kuhn (2007) a atividade de peroxidase também aumentou, tanto com indutor biótico (*B. cereus*), quanto abiótico (ASM), entretanto o aumento

observado com o *B. cereus* foi menor do que com ASM. De uma forma geral, pesquisadores afirmam que o aumento de atividades como essa expressam resistência induzida nas plantas. Maior expressão pode ocorrer ainda após desafio de um agressor, mostrando que a planta pode estar pré-condicionada.

A resistência induzida é a ativação de mecanismos de defesa a partir de um agente indutor biótico ou abiótico, também chamados eliciadores. E o pré-condicionamento ou *priming*, citado anteriormente, trata-se de um componente da resistência induzida que tem relação com a ativação das respostas de defesa celular de forma rápida e eficaz após o contato com o desafiante. Dessa maneira as alterações no metabolismo da planta são mais intensas (ou seja, mais capacitada para responder a presença do patógeno) quando a mesma é induzida com eliciador e após desafiada com um patógeno do que se fosse só induzida ou somente desafiada.

No trabalho de Kakueinezhad et al. (2017), o aumento de POX se deu de forma mais acentuada nas linhas resistentes quando se compara com as linhas susceptíveis corroborando também com Zhang et al. (2013) que observou elevada taxa de POX em *Capsicum annuum* resistente a *Phytophthora capsici*.

A polifenoloxidase comportou-se semelhantemente a peroxidase sendo possível observar expressivo incremento após a inoculação (Figura 10.C). A média geral dos tratamentos foi de 1,345 (Tabela 6). Kakueinezhad et al. (2017) obteve maior atividade de PPO nas beterrabas açucareiras resistentes nos dois estágios testados (6 e 12 semanas) com aumento significativo nas primeiras 48 horas após inoculação no estágio de 6 semanas, o que revela o papel da PPO na resistência da beterraba açucareira jovem à *P. aphanidermatum*. No presente estudo foi utilizada variedade susceptível, o que pode explicar o fato de não haver expressiva atividade de POX e PPO como nos trabalhos citados.

Para FAL, Heling (2019) obteve 8,45 mg de ác. trans-cinâmico hora⁻¹ g⁻¹ tecido fresco para a FAL em beterrabas de mesa tratadas com células de *Pichia pini*, 8,07 mg de ác. trans-cinâmico hora⁻¹ g⁻¹ tecido fresco para as tratadas com *Candida albicans* e 7,85 mg de ác. trans-cinâmico hora⁻¹ g⁻¹ tecido fresco para o controle (água destilada) em 6 dias após o tratamento, sendo estes valores semelhantes aos encontrados nesse trabalho, com média 7,92 e 11,38 mg de ác. trans-cinâmico hora⁻¹ g⁻¹ tecido fresco para 3 e 6 dias após o tratamento (Figura 10.D), respectivamente.

Rivero et al. (2001) sugere que o acúmulo de compostos fenólicos em resposta a estresse seria atribuído a ativação da FAL, eles são considerados como principais linhas de aclimatação celular contra o estresse na planta servindo como substrato para muitas enzimas antioxidantes para atenuar danos por estresse (KHATTAB, 2007). Entretanto, no presente estudo, a FAL acumulada do tempo zero ao momento pós inoculação (Figura 10.D) não foi suficiente para expressão dos fenóis totais.

As médias gerais obtidas para fenóis totais e lignina foram 0,076 mg de catecol grama⁻¹ de tecido fresco e 0,978 mg lignina grama⁻¹ de tecido fresco (Tabela 6), respectivamente, divergindo dos resultados de Heling (2019) que observou média geral de 5,17 mg de catecol grama⁻¹ de tecido fresco e 0,3441 mg lignina grama⁻¹ de tecido fresco de folhas de beterraba de mesa, três dias após inoculação com *C. beticola*. O autor também observou que após aplicação dos tratamentos com leveduras, apenas as plantas tratadas com células de *P. pini* apresentaram elevação nos teores de fenóis totais. Entretanto esse aumento não foi observado no presente trabalho onde não houve diferença significativa entre os tratamentos ou entre os tempos utilizados.

Quando se fala em compostos fenólicos, há variação das metodologias e grande diversidade dos valores encontrados na literatura. De acordo com Bulbovas et al. (2005) essa variação ocorre por fatores sazonais. Condições ambientais extremas, por exemplo, promovem o aumento de EROs e conseqüentemente da atividade antioxidante. Biondo et al. (2014) obtiveram aproximadamente 2,0 mg de ácido gálico equivalente por grama de peso fresco de folhas de beterraba de mesa coletadas aos 60 dias de experimento. Por outro lado, Ata et al. (2008) obtiveram cerca de 16 mg de equivalente de catecol grama⁻¹ de tecido fresco de compostos fenólicos livres para o tratamento controle que não foi tratado com indutor de resistência em plantas de beterraba açucareira infectadas naturalmente com *Uromyces betae*.

Valores semelhantes aos de Ata et al. (2008) para fenóis totais, entre 15 e 20 mg de ácido p-hidroxibenzoico equivalente grama⁻¹ de tecido fresco de folhas de beterraba açucareira podem ser encontrados no tratamento controle do trabalho de Taheri e Tarighi (2011) com plantas com 4 semanas inoculadas com *Rhizoctonia solani*.

Em geral, sob condições de estresse, há declínio das atividades fisiológicas e das enzimas antioxidantes somado ao aumento dos produtos químicos, EROs (ISLAM

et al., 2020). E o envolvimento das enzimas na eliminação de EROs depende de alguns fatores como espécie, severidade e duração do estresse (DACOSTA; HUANG, 2007), esse processo ocorre através da eliminação de radicais livres.

Ainda no trabalho de Kakueinezhad et al. (2017) é possível observar que dependendo do estágio que a planta se encontra o patógeno pode reagir diferentemente. A intensidade dos sintomas, a taxa de doença (podridão causada por *Pythium*) e a susceptibilidade quando as plantas apresentavam 6 semanas eram maiores do que quando estas apresentavam 12 semanas. Outros autores também afirmam que quanto mais velha a planta está, menor é a severidade de doença para doenças causadas por *Pythium* spp. e *Phytophthora* spp.

No presente trabalho as plantas foram inoculadas com aproximadamente 8 semanas e 3 dias, portanto, menos probabilidade de alta severidade, embora fosse perceptível o aparecimento de manchas foliares em algumas plantas após o período que as plantas permaneceram em câmara úmida.

6 CONCLUSÕES

Os tratamentos com leveduras e silício não promoveram ganhos de rendimento de raiz ou açúcar e não reduziram a severidade de doença. Leveduras e silicato de cálcio também não promoveram alterações nas enzimas estudadas.

Portanto, novos testes com diferentes doses de silício e maior número de aplicações de leveduras serão necessários para determinar a viabilidade do uso de silício e leveduras na proteção de plantas e ganhos no rendimento de raiz e açúcar provenientes de beterrabas açucareiras no Estado do Paraná.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAPAR, Agência de Defesa Agropecuária do Paraná. **Agrotóxicos no Paraná**, ano 2021. Disponível em: <<http://celepar07web.pr.gov.br/agrotoxicos/pesquisar.asp>>

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**, Academic Press San Diego, San Diego, Ed.5, 922p., 2005.

AGROFIT Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. **AGROFIT Consulta aberta**. Brasília: MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: < http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em 16/04/2019.

ARAJI, S.; GRAMMER, T. A.; GERTZEN, R.; ANDERSON, S. D.; MIKULIC PETKOVSEK, M.; VEBERIC, R.; PHU, M. L.; SOLAR, A.; LESLIE, C. A.; DANDEKAR, A. M.; ESCOBAR, M. A. Novel roles for the polyphenol oxidase enzyme in secondary metabolism and the regulation of cell death in walnut. **Plant Physiology**, v. 164, n.3, p. 1191–1203, 2014.

ARTSCHWAGER, E. Anatomy of the vegetative organs of the sugar beet. **Journal of Agricultural Research**, v. 33, n. 2, p. 143-176, 1926.

ARTYSZAK, A.; GOZDOWSKI, D.; KUCINSKA, K. The effect of calcium and silicon foliar fertilization in sugar beet. **Sugar Tech**, v. 18, n. 1, p. 109-114, 2016.

ARTYSZAK, A.; GOZDOWSKI, D.; KUCIŃSKA, K. The effect of silicon foliar fertilization in sugar beet–*Beta vulgaris* (L.) ssp. *vulgaris* conv. *crassa* (Alef.) prov. *altissima* (Döll). **Turkish Journal of Field Crops**, v. 20, n. 1, p. 115-119, 2015.

ASADI, M. **Beet-sugar handbook**, John Wiley & Sons, New Jersey, 884p., 2007.

ASSANTE, G.; LOCCI, R.; CAMARDA, L.; MERLINI, L.; NASINI, G. Screening of the genus *Cercospora* for secondary metabolites. **Phytochemistry**, v.16, n. 2, p. 243-247, 1977.

ATA, A. A.; EL-SAMMAN, M. G.; MOURSY, M. A.; MOSTAFA, M. H. Inducing resistance against rust disease of sugar beet by certain chemical compounds. **Egyptian Journal of Phytopathology**, v. 36, p. 113-132, 2008.

BARBER, M. S.; RIDE, J. P. A quantitative assay for induced lignification in wounded wheat leaves and its use to survey potencial elicitors of the response. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 32, p. 185-1197, 1988.

BETTIOL, W. (Ed.). **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. 388p. (EMBRAPA-CNPDA. Documentos, 15).

BIONDO, P. B. F.; BOEING, J. S.; BARIZÃO, É. O.; SOUZA, N. E. D.; MATSUSHITA, M.; OLIVEIRA, C. C. D.; VISENTAINER, J. V. Evaluation of beetroot (*Beta vulgaris* L.)

leaves during its developmental stages: a chemical composition study. **Food Science and Technology**, v. 34, n. 1, p. 94-101, 2014.

BOECKX, T.; WINTERS, A. L.; WEBB, K. J.; KINGSTON-SMITH, A. H. Polyphenol oxidase in leaves: Is there any significance to the chloroplastic localization? **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 12, p. 3571–3579, 2015.

BULBOVAS, P.; RINALDI, M.; DELITTI, W. B.; DOMINGOS, M. Variação sazonal em antioxidantes em folhas de plantas jovens de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil). **Brazilian Journal of Botany**, v. 28, n. 4, p. 687-696, 2005.

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

CHOPRA, R.; SELOTE, D. S. Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-tolerant than - susceptible wheat cultivar under field conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, n. 2, p. 276–283, 2007.

CNUBBEN, N. H.; RIETJENS, I. M. C. M.; WORTELBOER, H.; VAN ZANDEN, J.; VAN BLADEREN, P. J. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 10, n. 4, p. 141–152, 2001.

CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de cana-de-açúcar, safra 2019/20**. v.6, n.4, Brasília: CONAB, 2020.

DACOSTA, M.; HUANG, B. Changes in antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation for bentgrass species in response to drought stress. **Journal of the American Society Horticultural Science**, v. 132, p. 319–326, 2007.

DA SILVA, R. H.; BARABASZ, R. F.; SUSTAKOWSKI, M. C.; KUHN, O. J.; CARVALHO, J. C.; DOS REIS, W.; STANGARLIN, J. R.; DE OLIVEIRA, V. H. Microbiolization of seeds and aerial application with yeasts for disease control in Wheat. **Journal of Agricultural Science**, v. 12, n.10, 2020.

DONEY, D. L.; THEURER, J. C. Alcohol fuel from sugarbeets. **Utah Science**, v. 42, n. 2, p. 40-43, 1980.

DRAYCOTT, A. P. **Sugar beet**. Formely of Broom's Barn Research Station, Bury St. Edmunds, Suffolk, UK, 514p., 2006.

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

EL-ARGAWY, E.; ADSS, I. A. Quantitative gene expression of peroxidase, polyphenoloxidase and catalase as molecular markers for resistance against *Ralstonia solanacearum*. **American Journal of Molecular Biology**, v.6, p. 88-100, 2016.

EL-KHOLI, M. M. A. Sugar beet diseases in Egypt. In: **Proceeding 9th Congress of Egyptian Phytopathology Society**. 2000. p. 409-415.

EPSTEIN, E. Silicon. **Annual Review of Plant Biology**, v. 50, n. 1, p. 641-664, 1999.

ESPADINHA, M. **Chaves para controlar a cercosporiose na beterraba de sementeira outonal**. 2014. Disponível em: www.dai-sa.pt/pdfs/info_tecnica/Chaves_para_controlar_a_Cercosporiose.pdf. Acesso em: 27/03/2019.

FERREIRA, B. C. **Reatividade de fontes de silício no solo e sua acumulação nas plantas de arroz e de sorgo**. 2017. 53 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. de F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. de. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n.4, p. 627-641, 2008.

GHAFFARI, H.; TADAYON, M. R.; NADEEM, M.; CHEEMA, M.; RAZMJOO, J. Proline-mediated changes in antioxidant enzymatic activities and the physiology of sugar beet under drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 41, n. 2, p. 23, 2019.

GHAZY, N.; SHAHIN, A. A.; MUSTAFA, F. A. Effect of some mineral elements on the yield, sugar contents and improving resistance to *Cercospora* Leaf Spot of sugar beet. **Environment, Biodiversity and Soil Security**, v. 4, n. 2020, p. 73-83, 2020.

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

GROENEWALD, M.; GROENEWALD, J. Z.; CROUS, P. W. Distinct species exist within the *Cercospora apii* morphotype. **Phytopathology**, v. 95, n. 8, p. 951-959, 2005.

GUNTZER, F.; KELLER, C.; MEUNIER, J. D. Benefits of plant silicon for crops: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v. 32, n. 1, p. 201-213, 2012.

HELING, A. L. **Seleção, avaliação do crescimento e alterações bioquímicas em plantas de beterraba tratadas com leveduras para controle de cercosporiose**. 2019. 71 p. Tese (Doutorado em agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2019.

HÉROUART, D.; BAUDOUIN, E.; FRENDO, P.; HARRISON, J.; SANTOS, R.; JAMET, A.; VAN DE SYPE, G.; TOUATI, D.; PUPPO, A. Reactive oxygen species, nitric oxide and glutathione: a key role in the establishment of the legume-*Rhizobium* symbiosis?. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 40, n. 6-8, p. 619-624, 2002.

HESHAM, A. E.; MOHAMED, H. M. Molecular genetic identification of yeast strains isolated from Egyptian soils for solubilization of inorganic phosphates and growth

promotion of corn plants. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 21, n. 1, p. 55-61, 2011.

INMET, Instituto Nacional de Meteorologia. **Dados históricos anuais**, ano 2019 (automática), 2019. Disponível em <https://portal.inmet.gov.br/dadoshistoricos>.

ISLAM, M.; KIM, J. W.; BEGUM, M.; SOHEL, M.; TAHER, A.; LIM, Y. S. Physiological and biochemical changes in sugar beet seedlings to confer stress adaptability under drought condition. **Plants**, v. 9, n. 11, p.1511, 2020.

JONES, L. H. P.; HANDRECK, K. A. Silica in soils, plants, and animals. In: NORMAN, A. G. **Advances in Agronomy**. Academic Press, v. 19, p. 107-149, 1967.

KAKUEINEZHAD, M.; TAHERI, P.; MAHMOUDI, S. B.; TARIGHI, S. Resistance assessment and biochemical responses of sugar beet lines against *Pythium aphanidermatum*, causing root rot. **European Journal of Plant Pathology**, v. 151, n. 2, p. 307-319, 2018.

KASOTE, D. M.; KATYARE, S. S.; HEGDE, M. V.; BAE, H. Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications. **International Journal of Biological Sciences**, v. 11, n. 8, p. 982–991, 2015.

KAUR, S.; KAUR, N.; SIDDIQUE, K. H. M.; NAYYAR, H. Beneficial elements for agricultural crops and their functional relevance in defence against stresses. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 62, p. 905-920, 2016.

KHAN, J., QI, A., KHAN, M. F. R. Fluctuations in number of *Cercospora beticola* conidia in relationship to environment and disease severity in sugar beet. **Phytopathology**, v. 99, n. 7, p. 96–801, 2009.

KHATTAB, H. Role of glutathione and polyadenylic acid on the oxidative defense systems of two different cultivars of canola seedlings grown under saline conditions. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 1, n. 3, p. 323-334, 2007.

KNOEMA CORPORATION, 2019. **Sugar beet production quantity**. Disponível em: <<https://knoema.com/atlas/topics/Agriculture/Crops-Production-Quantity-tonnes/Sugar-beet-production>>. Acesso em 04 de maio de 2021.

KORNDÖRFER, P. H.; SILVA, G. C; TEIXEIRA, I. R; SILVA, A. G; FREITAS, R. S. Efeito da adubação silicatada sobre gramíneas forrageiras e características químicas do solo. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 40, n. 2, p. 119-25, 2010.

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. 140 f. Tese (Doutorado em fitopatologia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2007.

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

LI, B. Q.; TIAN, S. P. Effects of trehalose on stress tolerance and biocontrol efficacy of *Cryptococcus laurentii*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 100, n. 4, p. 854–861, 2006.

LUSSO, M. F. G.; PASCHOLATI, S. F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury of fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**, v. 25, p. 244-249, 1999.

MA, J. F.; TAKAHASHI, E. **Soil, fertilizer, and plant silicon research in Japan**. Elsevier, 295p., 2002.

MACHADO, C. M. M.; ABREU, F. R. Produção de álcool combustível a partir de carboidratos. **Revista de Política Agrícola**, v. 3, n. 15, p.64-78, 2006.

MAKHLOUF, B. S. I.; GADALLAH, A. F. I.; EL-LABOUDY, E. H. S. Effect of phosphorus, boron and magnesium fertilization on yield and quality of sugar beet grown in a sandy soil. **Journal of Plant Production**, v. 11, n. 5, p. 575-583, 2020.

MALAVOLTA, E. **Elementos de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Agronômica Ceres. 251 p. 1980.

MANOCHIO, C. **Produção de bioetanol de cana de açúcar, milho e beterraba: uma comparação dos indicadores tecnológicos, ambientais e econômicos**. 2014. 35f. Trabalho de conclusão de curso (Engenharia Química) – Universidade Federal de Alfenas, Poços de Caldas, 2014.

MARCUZZO, L. L.; DA SILVA DUARTE, T.; FERNANDES, J. M. C.; HILLESHEIN, P. C.; SCHEIDT, B. T. Progresso temporal da cercosporiose da beterraba em diferentes genótipos e épocas de semeadura na primavera. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 3, p. 219-223, 2015.

MAY DE MIO, L. L.; de OLIVEIRA, R. A.; FLORIANI, A. M. V.; SCHUBER, J. M.; POLTRONIERI, A. S.; de ARAUJO ARAUJO, M. A.; TRACH, R. Proposta de escala diagramática para quantificação da cercosporiose da beterraba. **Scientia Agraria**, v. 9, n. 3, p. 331-337, 2008.

MEDEIROS, F. H. V.; SILVA, J. C. P.; PASCHOLATI, S. F. Controle biológico de doenças de plantas. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos v. 1**, Ouro Fino: Agronômica Ceres Ltda. 5ª Ed. p. 261-274, 2018.

MELLO, M. R. F.; SILVEIRA, E. B.; VIANA, I. O.; GUERRA, M. L.; MARIANO, R. L. R. Uso de antibióticos e leveduras para controle da podridão-mole em couve-chinesa. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 1, p. 78-83, 2011.

MONTEIRO, A. F. da S. **Avaliação das potencialidades de produção de bioetanol em Portugal**. 2011. 118 f. Dissertação (Mestrado Integrado em Engenharia Mecânica) - Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto, 2011.

MORETTI, M.; SARACCHI, M.; FARINA, G. Morphological, physiological and genetic diversity within a small population of *Cercospora beticola* Sacc. **Annals of Microbiology**, v. 54, p. 129-150, 2004.

NEUMANN SILVA, V.; DO AMARAL, J. C.; MARTINELLI, V.; CIGEL, C.; WORDELL FILHO, J. A. Resultados preliminares do efeito de indutores de resistência no controle da cercosporiose em beterraba. **Horticultura Argentina**, v. 36, n. 91, p. 86-95, 2017.

OECD/FAO, Organization for Economic Co-operation Development/Food and Agriculture Organization. OECD-FAO **Agricultural Outlook 2020-2029**, FAO, Rome/OECD Publishing, Paris, 2020.

OLIVEIRA, L. M.; SERRA, J. C. V.; MAGALHÃES, K. B. Estudo comparativo das diferentes tecnologias utilizadas para produção de etanol. Geoambiente On-line: **Revista Eletrônica do Curso de Geografia**, v. 19, p.1-23, 2012.

ÖZBAY, S.; YILDIRIM, M. Root yield and quality of sugar beet under drip and sprinkler irrigation with foliar application of micronutrients. **ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi**, v. 6, n. 1, p. 105-114, 2018.

PADDA, M. S.; PICHA, D. H. Effect of low temperature storage on phenolic composition and antioxidant activity of sweetpotatoes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 47, n. 2, p. 176-180, 2008.

PASSARDI, F.; LONGET, D.; PENEL, C.; DUNAND, C. The class III peroxidase multigenic family in rice and its evolution in land plants. **Phytochemistry**, v. 65, n. 13, p. 1879–1893, 2004.

PISZCZEK, J.; MOLISZEWSKA, E.; SITARSKI, A. Chwościk buraka cukrowego (*Cercospora beticola* Sacc.) Część I. Biologia i występowanie. **Progress in Plant Protection**, v. 59, n. 1, 2019.

PORTO, M. P.; RAUPP, A. A. A.; PETIZ, C. A. Competição de cultivares de beterraba acucareira na região sudeste do RS. Pelotas: **Embrapa - UEPAE**, 1981.

PRENTICE, P. Efficacy of silica in increasing fields in Marocco. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON SILICON IN AGRICULTURE, 7th, 2017, India. **Proceedings of the 7th International Conference on Silicon in Agriculture**. Bengalore: University of Agricultural Sciences (UAS), 2017, p. 107.

QIN, Q. Z.; TIAN, S. P.; XU, Y.; WAN, Y. K. Enhancement of biocontrol efficacy of antagonistic yeasts by salicylic acid in sweet cherry fruit. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 62, n.3, p. 147–154, 2003.

RAVEN, J. A. Cycling silicon – the role of accumulation in plants. **New Phytopatology**, v. 158, p. 419-421, 2003.

RIVERO, R. M.; RUIZ, J. M.; GARCIA, P. C.; LOPEZ-LEFEBRE, L. R.; SÁNCHEZ, E.; ROMERO, L. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. **Plant science**, v. 160, n. 2, p. 315-321, 2001.

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

RUIZ-MOYANO, S.; MATÍN, A.; VILLALOBOS, M. A.; CALLE, A.; SERRADILLA, M. J.; CÉRDOBA, M. G.; HERNÁNDEZ, A. Yeasts isolated from figs (*Ficus carica* L.) as biocontrol agents of postharvest fruit diseases. **Food Microbiology**, v. 57, p. 45-53, 2016.

SACALA, E. Role of silicon in plant resistance to water stress. **Journal of Elementology**, v. 14, n. 3, p. 619-630, 2009.

SAMSATLY, J.; COPLEY, T. R.; JABAJI, S. H. Antioxidant genes of plants and fungal pathogens are distinctly regulated during disease development in different *Rhizoctonia solani* pathosystems. **PLoS One**, v. 13, n. 2, p. e0192682, 2018.

SANGSTER, A. G.; HODSON, M. J.; TUBB, H. J. Silicon deposition in higher plants. In: **Studies in Plant Science**. Elsevier, p. 85-113, 2001.

SANTOS, H. P.; LHAMBY, J. C. B. Avaliação agronômica da beterraba açucareira e forrageira. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 21, n. 5, p. 509-514, 1986.

SANTOS, H. P.; LHAMBY, J. C. B.; REIS, E. M.; FERRETTO, M. F. Competição de cultivares de beterraba açucareira e forrageira (*Beta vulgaris* L.) em 1981. In: **Contribuição do centro nacional de pesquisa de trigo à II Reunião de pesquisa de beterraba açucareira**, Pelotas, RS, 1983.

SBCS, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Núcleo Estadual Paraná. **Manual de adubação e calagem para o estado do Paraná**. Curitiba: SBCS/NEPAR, 2019.

SCHAFER, F. Q.; BUETTNER, G. R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 30, n. 11, p. 1191-1212, 2001.

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

SHEVCHUK, O. A.; TKACHUK, O. O.; KURYATA, V. G.; KHODANITSKA, O. O.; POLYVANYI, S. V. Features of leaf photosynthetic apparatus of sugar beet under retardants treatment. **Ukrainian Journal of Ecology**, v. 9, n.1, 2019.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; TOLEDO, M. V.; PORTZ, R. L.; PASCHOLATI, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18, 2011.

STEGMAN, E. C.; BAUER, A. Sugar beet response to water stress in sandy soils. **Transactions of the ASAE**, v. 20, n. 3, p. 469-0473, 1977.

STEVENS, P. F. **Angiosperm Phylogeny Website**. San Louis, July 2017. Disponível em: <<http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/>>. Acesso em: 20/03/2019.

TAHERI, P.; TARIGHI, S. A survey on basal resistance and riboflavin-induced defense responses of sugar beet against *Rhizoctonia solani*. **Journal of Plant Physiology**, v. 168, n. 10, p. 1114-1122, 2011.

THALLOOTH, A. T.; TAWFIK, M. M.; BADRE, E. A.; MOHAMED, M. H. Yield and quality response of some sugar beet (*Beta vulgaris* L.) varieties to humic acid and yeast application in newly reclaimed soil. **Plant Physiology**, p. 56-65, 2019.

TIAN, S. P.; FAN, Q.; XU, Y.; JIANG, A. L. Effects of calcium on biocontrol activity of yeast antagonists against postharvest fungal pathogen. **Plant Pathology**, v. 5, p. 352–358, 2002.

TIVELLI, S. W.; FACTOR, T. L.; TERAMOTO, J. R. S.; FABRI, E. G.; MORAES, A. R. A. de; TRANI, P. E.; MAY, A. **Beterraba: do plantio à comercialização**. Campinas: IAC, 2011. 45p. (Comunicado Técnico, 10).

TOMASINI, R. G. A. O cultivo da beterraba para produção de álcool ou forragem na região sul do Brasil. Passo Fundo: **Embrapa Trigo - Documentos (INFOTECA-E)**, 1983.

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

VALE, F. X. R.; FERNANDES FILHO, E. I.; LIBERATO, J. R. A software plant disease severity assessment. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PLANT PATHOLOGY, 8th, 2003, New Zealand (Christchurch). **Proceedings**. Christchurch: International Society for Plant Pathology, 2003. p.105.

VARGA, I.; LONČARIĆ, Z.; POSPIŠIL, M.; RASTIJA, M.; ANTUNOVIĆ, M. Dynamics of sugar beet root, crown and leaves mass with regard to plant densities and spring nitrogen fertilization. **Poljoprivreda**, v. 26, n. 1, p. 32-39, 2020.

WOLF, P.F.J.; HEINDL, M.; VERREET, J.A. Influence of sugar beet leaf mass development on predisposition of the crop to *Cercospora beticola* (Sacc.). **Journal of Plant Diseases and Protection**, p. 578-592, 2001.

WREGE, M. S.; STEINMETZ, S.; REISSER JUNIOR, C.; ALMEIDA, I. R. **Atlas climático da Região Sul do Brasil**. Colombo: Embrapa, 2011. 333p.

YAO, H. J.; TIAN, S. P.; WANG, Y. S. Sodium bicarbonate enhances biocontrol efficacy of yeasts on fungal spoilage of pears. **International Journal of Food Microbiology**, v. 93, n.3, p. 297–304, 2004.

ZHANG, Y. L.; LI, D. W.; GONG, Z. H.; WANG, J. E.; YIN, Y. X.; JI, J. J. Genetic determinants of the defense response of resistant and susceptible pepper (*Capsicum annuum*) cultivars infected with *Phytophthora capsici* (Oomycetes; Pythiaceae). **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 3, p. 3605–3621, 2013.

ZHANG, Z.; CHEN, J.; LI, B.; HE, C.; CHEN, Y.; TIAN, S. Influence of oxidative stress on biocontrol activity of *Cryptococcus laurentii* against blue mold on peach fruit. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 151, 2017.

ZIEDAN, E. H. E.; FARRAG, E. S. H. Application of yeasts as biocontrol agents for controlling foliar diseases on sugar beet plants. **Journal of Agricultural Technology**, v. 7, n. 6, p. 1789-1799, 2011.