

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE, UNICENTRO -PR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA – PPGA
MESTRADO

MANEJO DE GIBERELA E MANCHA-AMARELA NA CULTURA DO TRIGO

FÁBIO JUNIOR TELAXKA

GUARAPUAVA-PR

2018

FÁBIO JUNIOR TELAXKA

MANEJO DE GIBERELA E MANCHA-AMARELA NA CULTURA DO TRIGO

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Mestrado, área de concentração em Produção Vegetal.

Prof^a. Dr^a: Cacilda Márcia Duarte Rios Faria

Orientadora

Dr^a: Aline José Maia

Co-orientadora

GUARAPUAVA-PR

2018

Catálogo na Publicação
Biblioteca Central da Unicentro, Campus Cedeteg

T267m Telaxka, Fábio Junior
 Manejo de giberela e mancha-amarela na cultura do trigo / Fábio Junior
Telaxka. – – Guarapuava, 2018
 xii, 61 f. : il. ; 28 cm

 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste,
Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em
Produção Vegetal, 2018

 Orientadora: Cacilda Márcia Duarte Rios Faria
 Coorientadora: Aline José Maia
 Banca examinadora: Cacilda Márcia Duarte Rios Faria, Gilmar
Franzener, Cristiane Nardi

Bibliografia

 1. Agronomia. 2. *Gibberella zeae*. 3. *Drechslera tritici-repentis*. 4. Nutrição mineral. 5. Controle biológico. 6. Indução de resistência. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Letras.

CDD 630

Dedico

Aos alicerces da minha vida: Família e amigos.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

(Arthur Schopenhauer)

Agradecimentos

A Deus pelo dom da vida, pela saúde, pelas graças quem têm concedido à cada dia e por ter me capacitado à tornar realidade essa conquista em minha vida.

A meus pais Floriano Telaxka e Valéria Telaxka pelo amor e apoio incondicional durante toda a minha existência. Pelo amparo e ajuda incessante quando precisei e também, por acreditarem em mim, na minha capacidade e vontade de chegar até o fim de mais uma etapa de vida.

Aos meus irmãos Francinaldo Telaxka, Sergio Telaxka e Jean Marcos Telaxka pelo apoio, pela amizade e pela união.

A minha namorada Nilva Bortoluzzi pelo apoio, compreensão, carinho e companheirismo. Estando presente nas horas boas e ruins.

A professora orientadora Dr^a. Cacilda Márcia Duarte Rios Faria pela oportunidade, pela orientação, paciência, atenção e valiosos ensinamentos passados durante o mestrado. Agradeço pelo seu profissionalismo, pela ajuda, pela compreensão e pela sua grande amizade.

A professora co-orientadora Dr^a. Aline José Maia, pelo profissionalismo, pela orientação, paciência e ensinamentos passados.

Agradeço ao professor Dr.^o Leandro Alvarenga dos Santos pelas grandes contribuições ao meu trabalho, pela sua dedicação e profissionalismo, pela sua disponibilidade e amizade.

Aos meus amigos que de alguma forma contribuíram com meu trabalho, principalmente aos amigos do Laboratório de Fitopatologia: Felipe Andres Salinas Vasques, Carla Garcia, Leticia Sviech, Larisa Maria Pisi, onde sempre estavam de braços abertos para dar apoio, para ajudar quando fosse preciso.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo geral	3
2.2. Objetivos específicos.....	3
3. REFERENCIAL TEÓRICO	4
3.1. A cultura do trigo.....	4
3.2. Principais doenças da cultura do trigo	6
3.2.1. Giberela no trigo	6
3.2.1.1. Sintomatologia	7
3.2.1.2. Etiologia e epidemiologia	8
3.2.1.3. Manejo de giberela em trigo	9
3.2.2. Mancha-amarela do trigo.....	10
3.2.2.1. Sintomatologia	10
3.2.2.2. Etiologia e epidemiologia	10
3.2.2.3. Manejo da mancha-amarela do trigo	11
3.3. Controle alternativo de doenças	12
3.3.1. Uso do silício na proteção de plantas	13
3.3.1.1. Composto dióxido de silício.....	14
3.3.2. Controle biológico com <i>Bacillus subtilis</i>	15
3.4. Indução de resistência em plantas	16
3.4.1. Fitoalexinas	17
3.4.2. Polifenoloxidasas (E.C. 1.10.3.1)	199
3.4.3. Fenilalanina amônia-liase (E.C. 4.3.1.5)	20
4. MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1. Local do experimento.....	21
4.2. Testes <i>in vitro</i>	21
4.2.1. Crescimento micelial	22
4.2.2. Indução de fitoalexina em soja.....	22
4.2.3. Indução de fitoalexina em feijão.....	23
4.2.4. Indução de fitoalexina em sorgo	24
4.3. Experimento à campo.....	24
4.3.1. Incidência e severidade de doenças	25
4.3.2. Avaliações morfológicas	26
4.3.3. Análises bioquímicas	28
4.4. Análise estatística	29

5. RESULTADOS	30
5.1. Resultados <i>in vitro</i>	30
5.2. Resultados fitotécnicos de campo	35
5.3. Atividade enzimática.....	43
6. CONCLUSÃO	48
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Área total cultivada e produtividade média de grãos de trigo entre os anos de 1977 a 2014 no Paraná.	5
Figura 2. Inibição do crescimento micelial de <i>Fusarium graminearum</i> submetidos aos tratamentos, letras minúsculas iguais na coluna não diferem-se entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).....	30
Figura 3. Avaliação do crescimento micelial de <i>Fusarium graminearum in vitro</i> , no qual os tratamentos foram: testemunha (a), SiO ₂ (b), <i>Bacillus subtilis</i> (c), SiO ₂ + <i>Bacillus subtilis</i> (d), trifloxistrobina + protioconazol (e) e trifloxistrobina + tebuconazol (f).	32
Figura 4. Indução da síntese da fitoalexina gliseolina em cotilédones de soja submetidos aos tratamentos. Letras minúsculas iguais na coluna não diferem-se entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).....	33
Figura 5. Indução da síntese da fitoalexina faseolina em hipocótilos de feijão submetidos aos tratamentos. Letras minúsculas iguais na coluna não diferem-se entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).....	33
Figura 6. Indução da síntese de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo submetidos aos tratamentos. Letras minúsculas iguais na coluna não diferem-se entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).....	34
Figura 7. AACPD da incidência (A) e severidade (B) da mancha-amarela da cultura do trigo para Virmond. Letras minúsculas iguais nas colunas não diferiram-se entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).....	40
Figura 8. AACPD da incidência (A) e severidade (B) da giberela da cultura do trigo para Virmond. Letras minúsculas iguais nas colunas não diferem-se entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).....	40
Figura 9. AACPD da incidência (A) e severidade (B) da mancha-amarela da cultura do trigo para Guarapuava. Letras minúsculas iguais nas colunas não diferem-se entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).....	41
Figura 10. AACPD da incidência (A) e severidade (B) da giberela da cultura do trigo para Guarapuava. Letras minúsculas iguais nas colunas não diferem-se entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).....	41
Figura 11. Atividade da Fenilalanina amônia-liase (A e B) e Polifenoloxidase (C e D) para Virmond-PR e, atividade da Fenilalanina amônia-liase (E e F) e Polifenoloxidase (G e H) para Guarapuava-PR. Resultados obtidos em diferentes épocas de avaliação na cultura do trigo. Letras minúsculas iguais nas colunas não diferem-se entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tratamentos e estádios de aplicação utilizados nos experimentos à campo	25
Tabela 2. Resultados fitotécnicos da cultura do trigo obtidos à campo para a localidade de Virmond e Guarapuava.	307

RESUMO

O silício tem-se destacado no controle de doenças de plantas, aumentando a resistência em várias espécies vegetais, principalmente em monocotiledôneas, enquanto que a espécie de *Bacillus subtilis*, habitante natural dos solos, mostra-se como excelente agente de biocontrole de fitopatógenos. Assim, esse trabalho teve por objetivo avaliar o potencial do dióxido de silício (SiO₂) e *B. subtilis* no controle da mancha-amarela (*Drechslera tritici-repentis*) e da giberela (*Gibberella zeae*) na cultura do trigo. Os tratamentos utilizados para todos os experimentos foram: T1 - SiO₂; T2 - *B. subtilis*; T3 - SiO₂ + *B. subtilis*; T4 - trifloxistrobina + protioconazol/trifloxistrobina + tebuconazol; T5 - Testemunha. Para o experimento de campo, realizado nos municípios de Virmond e Guarapuava, foram avaliadas a incidência e severidade das doenças, sendo representadas pela área abaixo da curva de progresso da doença (AACPDI e AACPDS), além das análises fitotécnicas e atividade das enzimas de defesa (polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase). Nos ensaios *in vitro* avaliou-se o crescimento micelial de *G. zeae* e indução de fitoalexinas em sorgo, feijão e soja. Para o crescimento micelial, o tratamento com *B. subtilis* isolado ou em associação com SiO₂ reduziram o crescimento micelial em 61,4% e 43,4%, respectivamente. No município de Virmond todos os tratamentos reduziram a AACPDS da mancha-amarela do trigo em relação à testemunha, sendo que a menor AACPDI foi verificada com o tratamento a base de trifloxistrobina + protioconazol/ trifloxistrobina + tebuconazol, sendo esta de 60,2% em relação à testemunha. Para giberela, a AACPDI não apresentou diferença entre os tratamentos, enquanto que a menor AACPDS foi observada com os tratamentos SiO₂, *B. subtilis*, SiO₂ + *B. subtilis* e químico, os quais proporcionaram redução de 29,1%, 36%, 40,1% e 45,1%, respectivamente, em relação à testemunha. Todos os tratamentos aumentaram a altura de plantas, número de grãos por espiguetas e massa de mil grãos, exceto o tratamento com SiO₂ que apresentou menor número de grãos por espiguetas. Maior atividade das enzimas polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase foi verificada para os tratamentos com SiO₂ e *B. subtilis* após 14 dias da aplicação. Em Guarapuava, para a AACPDI da mancha-amarela, os tratamentos com SiO₂, *B. subtilis* e SiO₂ + *B. subtilis* não apresentaram diferença em relação à testemunha. O tratamento que resultou em menor incidência (61% inferior em relação à testemunha) foi o à base de trifloxistrobina + protioconazol/trifloxistrobina + tebuconazol. Para a AACPDS os tratamentos com *B. subtilis* e SiO₂ resultaram em redução de 73,1% e 74,81%, respectivamente, em relação à testemunha. Todos os tratamentos aumentaram o peso de mil sementes e o peso hectolitro em relação à testemunha. Para as outras variáveis fitotécnicas, os tratamentos não proporcionaram resultados com diferença significativa em relação à testemunha. A atividade da fenilalanina amônia-liase foi maior aos 14 dias após o tratamento com *B. subtilis* e SiO₂, enquanto que para a atividade da polifenoloxidase, maior atividade foi observada 24 horas após a quarta aplicação dos tratamentos. Para as análises *in vitro* o SiO₂ demonstrou ter maior efeito eliciador, proporcionando aumento da síntese das fitoalexinas em sorgo e soja. Para a fitoalexina faseolina do feijoeiro, nenhum dos tratamentos apresentaram efeito indutor. Conclui-se que o Si e *B. subtilis* contribuem positivamente no manejo integrado de doenças da cultura do trigo, interferindo em características estruturais e agrônômicas da planta ou sobre o patógeno, como foi observado nos testes *in vitro*. Quanto à indução de resistência nas plantas, estudos mais aprofundados devem ser realizados para esclarecimento de tais resultados.

Palavras-chave: *Gibberella zeae*; *Drechslera tritici-repentis*; Nutrição mineral; Controle biológico; Indução de resistência.

ABSTRACT

Silicon has been outstanding without control of plant diseases, increasing resistance in several plant species, mainly in monocotyledonous, whereas *B. subtilis*, a natural inhabitant of soils, is shown as excellent biocontrol agent of phytopathogens. The objective of this work was to evaluate the potential of Silicon Dioxide (SiO_2) and *B. subtilis* in the control of yellow spot (*Drechslera tritici-repentis*) and giberela (*Gibberella zae*) in wheat. The treatments used for all the experiments were: T1 - SiO_2 ; T2 - *B. subtilis*; T3 - SiO_2 + *B. subtilis*; T4 - trifloxystrobin + prothioconazole/trifloxystrobin + tebuconazole; T5 - Witness. For field experiments conducted in Virmond and Guarapuava municipalities, the incidence and severity of the diseases were evaluated, being represented by the area under the disease progression curve (AACPDI and AACPDS) in addition to the phytotechnical analysis and the activity of the defense enzymes (polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia-lyase). In the municipality of Virmond, all treatments reduced the AACPDS in relation to the control, and the lowest AACPDI of the wheat yellow spot was verified with the treatment based on trifloxystrobin + prothioconazole / trifloxystrobin + tebuconazole, which was 60.2% in relation to the witness, however. For AACPDI of giberela there was no difference between treatments, while the lowest AACPDS was observed with SiO_2 , *B. subtilis*, SiO_2 + *B. subtilis* and chemical treatments, which provided a reduction of 29,1, 36%, 40,1% and 45,1%, respectively, relative to the control. All treatments increased the height of plants, number of grains per spikelet and mass of one thousand grains, except the treatment with Silicon Dioxide that presented smaller number of grains per spikelet. The highest activity of the polyphenoloxidase and phenylalanine ammonia lyase enzymes was verified for SiO_2 and *B. subtilis* treatments after 14 days of application. In Guarapuava, for the AACPDI of the yellow spot, the treatments with SiO_2 , *B. subtilis* and SiO_2 + *B. subtilis* presented no difference in relation to the control. The treatment that resulted in a lower incidence (61% lower than the control) was the basis of trifloxystrobin + prothioconazole / trifloxystrobin + tebuconazole. For the AACPDS the treatments with *B. subtilis* and SiO_2 resulted in reduction of 73,1% and 74,81%, respectively, in relation to the control. All treatments increased the weight of one thousand seeds and the hectoliter weight in relation to the control. For other phytotechnical variables, the treatments did not provide results with a significant difference in relation to the control. The activity of phenylalanine ammonia-lyase was greater at 14 days after treatment with *B. subtilis* and SiO_2 , while for polyphenoloxidase activity, higher activity was observed 24 hours after the fourth application of the treatments. In the *in vitro* assays the mycelial growth of *G. zae* and phytoalexin induction of sorghum, beans and soybean were carried out. For mycelial growth treatment with *B. subtilis* alone or in combination with SiO_2 reduced mycelial growth by 61,4% and 43,4%, respectively. SiO_2 has been shown to have a greater eliciting effect, increasing the synthesis of phytoalexins from sorghum and soybean. For the phytoalexin phaseolina of the common bean, neither one of the treatments presented inductive effect of its synthesis. It is concluded that Si and *B. subtilis* contribute positively to the integrated management of diseases of the wheat crop, interfering in structural and agronomic traits of the plant or the pathogen, as observed in the *in vitro* tests. Regarding the induction of resistance in plants further studies are needed to clarify such results.

Keywords: *Gibberella zae*; *Drechslera tritici-repentis*; Mineral nutrition; Biological control; Induction of resistance.

1. INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum* L.), é uma poacea de ciclo anual, cultivada durante o inverno/primavera, o qual é consumido em forma de farinha ou ração animal (EMBRAPA, 2016). A produção mundial foi de aproximadamente 722 milhões de toneladas na safra 2015/2016, sendo a segunda maior produção de grãos em nível mundial (USDA, 2016). No Brasil, a produção gira em torno de seis milhões de toneladas, com o cultivo do trigo nas regiões Sul (RS, SC e PR), Sudeste (MG e SP) e Centro-Oeste (MS, GO e DF) (EMBRAPA, 2016), nas quais os Estados com maior produção são: Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina, que na safra 2012/2013 foram responsáveis por 2.624,5, 2.455,3 e 173,2 mil toneladas, respectivamente (CONAB, 2015).

A ocorrência de doenças na cultura de trigo é uma das limitações no seu cultivo e produção, destacando-se entre as principais a giberela e a mancha-amarela (WORDELL FILHO; DUARTE; RODRIGUES, 2013). A giberela além de ocasionar redução na produtividade de grãos de 20% a 50% (MCKEE; RANSOM; MCMULLEN, 2010), também está envolvida com a redução do peso hectolítrico (PH) e com a produção de micotoxinas (PANISSON; REIS; BOLLER, 2003) e a mancha-amarela está envolvida com a redução da área fotossintética, podendo ocasionar redução de produtividade de até 48% (REIS; CASA, 2007).

Para prevenir ou reduzir perdas na agricultura e melhorar a qualidade dos grãos, o uso de agrotóxicos é reconhecido como importante para a produção de alimentos. A utilização de agrotóxicos na cultura do trigo proporciona vantagens, tais como o aumento da eficiência, rentabilidade da produção e qualidade de cereais, no entanto, leva à contaminação da produção agrícola, da água, do ar e do solo (FERNANDEZ-ALVAREZ et al., 2008).

Há estudos que demonstram que o suprimento de Silício (Si) tem contribuído de forma significativa na redução da intensidade de inúmeras doenças de importância econômica (DATNOFF; RODRIGUES; SEEBOLD, 2007). O Si é um elemento que está presente em pequena quantidade no reino vegetal e animal, com papel fundamental em ambos (LIMA FILHO, 2010), estando envolvido no aumento da rigidez da parede celular da planta, sendo que o acúmulo e deposição de Si nas células da camada epidérmica constituem-se numa barreira física à penetração de patógenos (BELÁNGER et al., 2003; CAI et al., 2009), especialmente hifas de fungos (RODRIGUES; DATNOFF; SEEBOLD, 2007).

O papel do Si na rigidez da parede celular e como barreira física na penetração de patógenos foi verificada por Domiciano et al. (2010) que, avaliando a severidade da mancha-

marrom (*Bipolaris sorokiniana*) na folha bandeira do trigo, verificaram redução significativa da mesma em plantas supridas com Si em todas as épocas de avaliação, havendo redução de até 58,5% na Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) da folha bandeira, que por sua vez, garantiu maior produção de grãos dada à importância fisiológica dessa folha.

Quanto ao controle biológico, os produtos naturais à base de microrganismos são fundamentais na busca por alternativas eficazes e seguras, e que apresentem possibilidades reduzidas em selecionar organismos resistentes (ZHAO et al., 2010). Em função disso, uma grande variedade de bactérias vêm sendo estudadas a fim de avaliar a sua influência nos comportamentos antagônicos entre plantas e agentes patogênicos. Estes microrganismos utilizam variados modos de ação para inibir patógenos de plantas (SANTOYO; DEL; GOVINDAPPA, 2012), como já tem sido demonstrado em estudos com bactérias do gênero *Bacillus* spp.

Em experimentos com algumas estirpes de *B. subtilis*, verificou-se que estas são antagonistas do fungo *G. zae*, sendo eficazes na redução da fusariose em trigo. Foi demonstrado que os lipopeptídeos (surfactina) produzidos pelas estirpes AS43.3 e AS43.4 são eficazes na inibição do patógeno (DUNLAP et al., 2011).

Outra forma de manejo de doenças em plantas é a indução de resistência a qual envolve a ativação de mecanismos de resistência latentes nas plantas em resposta ao tratamento prévio com agentes bióticos ou abióticos podendo levar, por exemplo, ao acúmulo de fitoalexinas que protegeram a planta contra infecções subsequentes com patógenos (STADINIK, 2000). Estudando o efeito de diferentes fontes de Si sobre o teor de compostos relacionados à defesa das plantas, Mendonça et al. (2013), verificaram que o teor de compostos fenólicos totais não apresentaram diferença significativa entre as fontes caulim e cinza de casca de arroz, até a dose de 1000 Kg ha⁻¹. Concluíram ainda que, com relação ao teor de fenóis totais, houve incremento significativo em seu teor conforme aumentou-se as doses de cinza de casca de arroz, sendo que não verificou-se o mesmo para a fonte caulim.

Portanto, há a possibilidade de manejo de doenças na cultura de trigo com produtos naturais, entretanto, são necessários estudos para esclarecer o modo de ação envolvido, modo de aplicação, otimizando à eficiência destes produtos para o controle da mancha-amarela e da giberela na cultura.

2. OBJETIVO(S)

2.1. Objetivo geral

Verificar se o dióxido de silício (SiO_2) e *B. subtilis* possuem efeito supressor *in vitro* e *in vivo* sobre os agentes causais da giberela e da mancha-amarela na cultura do trigo.

2.2. Objetivos específicos

- 1) Verificar *in vitro* se o SiO_2 e *B. subtilis* interferem no crescimento de *G. zae*;
- 2) Verificar *in vivo* se SiO_2 e *B. subtilis* interferem na incidência e severidade de giberela e mancha-amarela;
- 3) Verificar respostas de indução de resistência na cultura do trigo com a utilização de SiO_2 e *B. subtilis*;
- 4) Verificar respostas de indução de fitoalexinas em soja, feijão e sorgo.
- 5) Avaliar se o SiO_2 e *B. subtilis* interferem nos componentes de produtividade da cultura do trigo.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. A cultura do trigo

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é uma planta da família Poacea, de ciclo anual pertencente ao gênero *Triticum*, sendo cultivado durante o inverno e a primavera. Três espécies do gênero se destacam por representarem cerca de 90% do trigo cultivado no mundo: *T. aestivum*, *T. compactum* e *T. durum*. A espécie *T. aestivum* responde por mais de quatro quintos da produção mundial, sendo consumido em forma de farinha ou ração animal (EMBRAPA, 2016).

Em função da seleção natural e da criação de novas cultivares adaptadas às condições específicas, Castro e Kluge (1999) relataram que a cultura do trigo pode ser cultivada desde o Equador até 60° de latitude, e desde o nível do mar até 3000 m de altitude. Abordam ainda que a cultura possui adaptação à solos bem drenados, solos argilo-silosos e a variadas condições térmicas e de comprimento de dia, sendo cultivada tanto na Finlândia (60° N), no hemisfério norte, quanto na Argentina (40° S), no hemisfério sul.

Perdendo em produção apenas para o milho, o trigo é o segundo cereal mais produzido no mundo e apresenta, portanto, significativa importância para a economia agrícola global. Este cereal é utilizado tanto para a alimentação humana quanto para a animal e na safra 2014/2015 foram semeados em torno de 225 milhões de hectares (USDA, 2016). De acordo com Cimmyt (2005), aproximadamente 21% dos alimentos consumidos pela humanidade dependem da cultura.

O trigo é cultivado em regiões de clima frio, normalmente em altas latitudes (acima dos paralelos 24, norte e sul) (FAO, 2008). Portanto, grande parte da produção mundial de trigo se concentra no hemisfério norte, com destaque para União Europeia, China, Índia, Rússia, Estados Unidos e Canadá, que dispõem de terras nas regiões mais propícias, tendo uma produção em 2014 de aproximadamente 156.328, 126.208, 95.850, 59.080, 55.147 e 29.420 milhões de toneladas, respectivamente (USDA, 2016).

Devido à grande importância econômica para o Brasil, em função do elevado consumo de seus derivados principalmente, pão, macarrão e farinha (CARNEIRO et al., 2005), o consumo interno está projetado para 12,3 milhões de toneladas em 2026/27, devendo crescer a uma taxa anual de 1,1% entre 2016/17 a 2026/27, semelhante ao crescimento estimado da população brasileira (MAPA, 2017).

A produção anual de trigo no Brasil é de aproximadamente seis milhões de toneladas, menor que a demanda, a qual gira em torno de dez milhões de toneladas. Seu cultivo se dá principalmente nas regiões Sul (RS, SC e PR), Sudeste (SP e MG) e Centro-Oeste (MS, GO e DF) (EMBRAPA, 2016). De acordo com dados da CONAB (2015), na safra de 2012/13, a produção de trigo no Brasil foi de aproximadamente 5.555,80 milhões de toneladas, sendo que a região Sul deteve 5.252,50 milhões de toneladas (95%). Os Estados do Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina foram responsáveis por 2.624,50, 2.455,30 e 173,20 mil toneladas, respectivamente.

No Paraná, o cultivo de trigo tem evoluído expressivamente nos últimos anos do ponto de vista de aporte tecnológico. Verifica-se que a máxima expansão de área de trigo no Paraná ocorreu na segunda metade da década de 1980 quando foram cultivados entre 1,7 e 1,9 milhões de hectares, período em que foi obtida uma produtividade média de 1.525 Kg ha⁻¹ de grãos (Figura 1). No entanto, de 2008 a 2014, houve forte redução da área tritícola no Estado (0,8 a 1,3 milhões de hectares), porém a produtividade média aumentou para 2.427 Kg ha⁻¹ (CONAB, 2015).

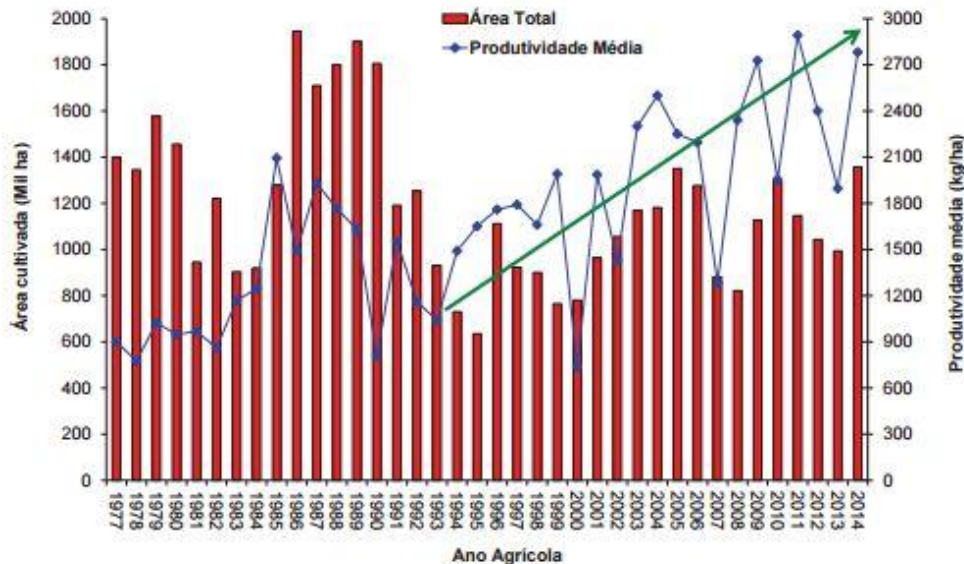


Figura 1. Área total cultivada e produtividade média de grãos de trigo entre os anos de 1977 a 2014 no Paraná.

Fonte: CONAB (2015).

Em estimativas feitas pelo Ministério da Agricultura, o valor bruto da produção de trigo em dezembro de 2012 foi de R\$ 2,39 bilhões para uma produção de 4,47 milhões de toneladas, valor consideravelmente menor que o de 2003, que foi de R\$ 4,58 bilhões, ocasião em que se produziu 6,1 milhões de toneladas. Esse volume de recursos no meio rural gera

renda às famílias, melhoria da qualidade de vida e dinamiza a indústria, o comércio e serviços locais a montante e a jusante da produção, fortalecendo a atividade econômica municipal, estadual e regional (CONAB, 2014).

A cultura do trigo, tanto no Brasil quanto em outros países, pode ser afetada por várias doenças, estando estas entre os principais fatores que limitam ou comprometem a produção. As doenças podem causar prejuízos consideráveis, principalmente quando ocorrem simultaneamente na lavoura e sob condições ambientais favoráveis (BARROS; CASTRO; PATRÍCIO, 2006), podendo ser verificada redução no rendimento de grãos de até 44,6%, equivalente a 1.152 kg ha⁻¹, pela ocorrência de oídio, ferrugem, manchas e giberela (FERNANDES; PICININI, 1999).

3.2. Principais doenças da cultura do trigo

Dentre as principais doenças que incidem na parte aérea da cultura do trigo, destacam-se: as ferrugens, o oídio, as manchas foliares (mancha-amarela da folha e mancha-marrom) e as podridões de espiga, como a giberela e a brusone (BARROS; CASTRO; PATRÍCIO, 2006).

Assim, são observados vários fatores que interferem no estabelecimento e desenvolvimento das epidemias, tais como: as condições ambientais, a maior ou menor suscetibilidade das cultivares, a agressividade dos patógenos e a época do início da infecção, resultando em informações variáveis sobre os danos causados pelas doenças na cultura do trigo (MEHTA, 1993).

Observaram-se danos na produção de grãos de trigo na ordem de 50% para a giberela, 32% para a brusone (*Pyricularia grisea*) e 48% para a mancha-amarela na cultura do trigo. Valores estes que podem variar em função das condições meteorológicas, anos agrícolas e/ou locais de ocorrência da doença (REIS; CASA, 2007; GOULART, 2007; MCKEE; RANSOM; MCMULLEN, 2010).

3.2.1. Giberela no trigo

A produção de trigo possui limitações ocasionadas por doenças (WORDELL FILHO; DUARTE; RODRIGUES, 2013), dentre as principais à giberela cujo agente causal

da doença é o fungo *Fusarium graminearum* Schw. (teleomorfa = *Gibberella zeae* (Schw.) Petch), conhecida também como sarna, se destaca. Esta é uma doença economicamente devastadora em culturas de cereais, afetando os grãos de trigo, cevada (*Hordeum vulgare* L.), centeio (*Secale cereale* L.), aveia (*Avena sativa* L.) e triticale (X Triticosecale) (WEGULO et al., 2015), além da podridão de giberela na espiga de milho (CHAN et al., 2009).

A giberela do trigo é considerada uma doença de infecção floral (REIS, 1988), a qual durante muitos anos foi considerada uma enfermidade de importância secundária, no entanto, em função do aumento na frequência e severidade, transformou-se em uma das principais doenças do trigo no sul do Brasil (REIS; CARMONA, 2002), ocasionando danos à produção de grãos que variam de 20% a 50%, de acordo com as condições meteorológicas, anos agrícolas e/ou locais de ocorrência da mesma (MCKEE; RANSOM; MCMULLEN, 2010).

O patógeno apresenta atividade saprofítica, sobrevivendo em restos culturais de diversas espécies vegetais (SUTTON, 1982), além de manter presente o inóculo no ar durante todo o ano (REIS et al., 2011; VIANA; DEUNER, 2011) e infectar várias outras culturas como o trigo, triticale, cevada, milho, arroz, trevo, alfafa e sorgo (REIS, CASA; FORCELINI, 2005). Em função destas características do patógeno, a doença vem ganhando importância devido aos danos que podem ser quantitativos e qualitativos, culminando em redução da eficiência de algumas estratégias de manejo, dentre elas o controle químico e a rotação de cultura (REIS et al., 2011; VIANA; DEUNER, 2011).

O patógeno está envolvido com reduções no rendimento de grãos, no peso hectolítrico (pH) e produção de micotoxinas (PANISSON; REIS; BOLLER, 2003). Danos secundários são atribuídos à redução do teor de proteínas dos grãos (MESTERHÁZY; BARTÓK, 1996) e a redução do poder germinativo e do vigor das sementes (TUTE et al., 1990).

A intensidade da giberela em trigo depende de algumas condições climáticas para o seu estabelecimento, devido a isso, as epidemias variam de ano para ano (CASA et al., 2004). É mais frequente em regiões onde ocorrem períodos prolongados de chuva (> 72 horas) e temperaturas médias no período chuvoso > 20° C após o início da floração (REIS; CASA; MEDEIROS, 2001).

3.2.1.1. Sintomatologia

O inóculo disseminado pelo ar deposita-se nas anteras, nas quais os ascósporos germinam, penetram e ao colonizá-las, ganham entrada na flor. Após, o fungo coloniza todos

os componentes da espiga (REIS; CASA; FORCELINI, 2005), propagando-se pela ráquis, onde os sintomas são percebidos após alguns dias pela senescência prematura das espiguetas infectadas. Os grãos infectados apresentam-se deformados e chochos, podendo conter micotoxinas produzidas pelo fungo (WANG, 1997; PAULITZ, 1999).

Se a colonização da espiga for lenta, os grãos podem se desenvolver mostrando sintomas característicos da doença: grãos enrugados, chochos, ásperos e róseos. As espiguetas infectadas exibem anasarca, tornando-se despigmentadas, esbranquiçadas ou cor de palha. As aristas arrepiadas é o sintoma mais característico e de mais fácil reconhecimento da doença. Sob clima úmido e quente, o desenvolvimento de conídios é abundante e a espiguetas infectada apresenta-se rósea, especialmente na base e bordos das glumas. A colonização frequentemente estende-se às espiguetas adjacentes ou a toda espiga através da ráquis (REIS; CASA; FORCELINI, 2005).

3.2.1.2. Etiologia e epidemiologia

O agente causal da giberela do trigo é o fungo *Gibberella zeae* (Schw.) Petch (anamorfo = *Fusarium graminearum* Schw.), o qual ocorre em todas as regiões produtoras de cereais do mundo, sendo uma das principais doenças da cultura (REIS; CARMONA, 2002). Este patógeno produz fiálides laterais curtas e conídios falciformes de 2,5-5 x 35-62 µm, com 3 a 7 septos, tendo peritécios superficiais, gregários, de coloração púrpura-escura e pretos, com diâmetro de 150-350 µm. Possui ascas clavadas contendo 8 ascósporos hialinos, os quais medem de 3-5 x 17-25 µm e apresentam de 0 a 4 septos (REIS; CASA; FORCELINI, 2005).

A principal maneira de sobrevivência do fungo *G. zeae* é saprofiticamente nos restos culturais, portanto, as sementes não são importantes no ciclo de vida deste fungo, mesmo estando infectadas. Conídios são disseminados a curtas distâncias por respingos de chuva. Porém, os ascósporos são transportados a longas distâncias pelo vento. Quanto ao período de suscetibilidade da cultura, este ocorre entre o início da floração e o início da maturação, na qual o principal sítio de infecção de *G. zeae* são as anteras. Para que ocorra à infecção, são requeridas 30 horas de molhamento contínuo com temperatura média de 20 °C ou molhamento de 36 horas com temperatura média de 25 °C. Com 72 horas de molhamento e temperatura média de 20 °C, cerca de 80 % das espigas tornam-se infectadas (REIS; CASA, 2016).

A giberela em trigo é considerada uma doença monocíclica na qual o fungo produz sobre resíduos da cultura esporos assexuais (conídios), que são liberados e dispersos pela ação da chuva e do vento. Sob condições de molhamento contínuo os peritécios são formados, liberando ascósporos, que são esporos sexuais do fungo, para o ambiente acima do dossel da cultura. Os esporos podem ser elevados por turbulência atmosférica e carregados para longas distâncias da fonte de origem, sendo que tanto os conídios como os ascósporos podem infectar os tecidos da espiga (WANG, 1997; PAULITZ, 1999), sendo que o período de maior suscetibilidade do trigo à infecção vai do início da floração até o início da maturação (REIS; CASA, 2016).

3.2.1.3. Manejo de giberela em trigo

Em função do aumento da intensidade de doenças fúngicas na cultura do trigo, assim como da ausência da resistência genética ou de outro meio de controle eficaz, os fungicidas apresentam-se como alternativa para garantir a expressão do potencial produtivo de trigo no Brasil (PICININI; FERNANDES; IGNACZAK, 1993), e para o manejo de giberela do trigo alguns dos fungicidas indicados, são: Trifloxistrobina + Tebuconazol (Nativo®); Epoxiconazol (Opus®); Propiconazol (Tilt®, Juno®); Tebuconazol (Orius®, Folicur®) (SILVA; BASSOI; FOLONI, 2017).

É necessária a busca contínua de fungicidas mais eficazes e mais seguros, especialmente com novos modos de ação e com propriedades que dificultem o aparecimento de organismos resistentes (ZHAO et al., 2010).

As aplicações calendarizadas, ou seja, determinadas principalmente por um respectivo estágio fenológico da cultura não são totalmente eficazes e/ou recomendáveis no âmbito epidemiológico, uma vez que não considera a presença da doença, podendo resultar em aplicações desnecessárias, aumentando o impacto ambiental. Tais aplicações podem apresentar também baixo nível de controle, uma vez que o fungicida é metabolizado pelas plantas ao longo do tempo, culminando em efeito fungistático diminuto quando há uma eventual infecção do patógeno (OLIVEIRA, 2013).

3.2.2. Mancha-amarela do trigo

A mancha-amarela da folha (*Drechslera tritici-repentis* Died.), está presente em todas as regiões tritícolas, principalmente sobre plantio direto e/ou em lavouras com tratamento de sementes ineficientes (REIS; CASA, 2007). Os danos ao rendimento de grãos podem atingir entre 30 e 40%, variando entre 3 e 15%. A porcentagem de dano dependerá da quantidade de chuvas durante a estação de cultivo do trigo, que implicará em mais ou menos esporos do fungo, que causarão infecção. O número de lesões e o tamanho das mesmas afetará, por sua vez, a área fotossintética e conseqüentemente resultará em menor enchimento de grãos (SANTANA et al., 2012).

3.2.2.1. Sintomatologia

Os sintomas típicos da doença são observados nas folhas e bainhas logo após a emergência da cultura, os quais inicialmente se caracterizam por pequenas manchas cloróticas, 24-48 horas após à inoculação. Com o passar do tempo, a área de tecido amarelecido aumenta surgindo uma região central necrosada, de cor parda, circundadas por um halo amarelo. As lesões são elípticas, podendo atingir 12 mm de comprimento e/ou maiores em regiões com temperaturas mais elevadas (REIS; CASA, 2016).

3.2.2.2. Etiologia e epidemiologia

O agente da mancha-amarela é o fungo *Pyrenophora tritici-repentis* (fase sexuada) e *Drechslera tritici-repentis* (fase assexuada). No entanto, a partir da safra 2016 tem sido relatado o envolvimento de *D. siccans*, agente da helmintosporiose do azevém (*L. multiflorum*), com os sintomas da mancha-amarela. Este patógeno apresenta conidióforos simples ou em grupos de 2-3, emergentes entre células epidérmicas, medindo até 250 µm de comprimento. Os conídios são solitários, retos e/ou levemente curvos, de paredes finas, com 1-9 pseudoseptos. Em seu estado perfeito, desenvolve-se em restos culturais, produzindo pseudotécios globosos, com diâmetro que varia de 200-300 µm. Seus ascósporos são ovais, medindo 18-28 x 45-70 µm (REIS; CASA, 2016).

Sendo que a partir da safra tritícola 2008, tem sido encontrado associado à mancha-

amarela do trigo o fungo *D. siccans* (Drechsler) Shoemaker (Teleomorfa *Pyrenophora lolii* Dovaston), agente da helmintosporiose do azevém (*Lolium multiflorum* L.). Em trabalhos com diagnose da mancha-amarela do trigo, identificou-se 7% de *D. tritici-repentis* e 15-100% de *D. siccans* (TONIN; REIS; AVOZANI, 2009).

O agente da mancha-amarela (*D. tritici-repentis*) desenvolve-se melhor no intervalo de temperatura entre 18 e 28 °C, com período de molhamento contínuo variando entre 12 horas (cultivares suscetíveis) a 30 horas, para que ocorra à infecção. Sobre as lesões produz conídios, os quais são disseminados pelo vento a curtas distâncias e pela semente a longas distâncias (SANTANA et al., 2012).

3.2.2.3. Manejo da mancha-amarela do trigo

As estratégias de manejo da mancha-amarela do trigo visam, principalmente, reduzir o inoculo inicial, erradicando ou diminuindo sua densidade à nível inferior ao limiar numérico de infecção (REIS; CASA; DANELLI, 2011). Dentre as medidas de manejo preconizam-se a adoção de práticas integradas como: Tratamento de sementes com fungicidas, sementes saudáveis, semeadura na época indicada, rotação de culturas com nabo forrageiro ou colza, e aplicação de fungicidas nos órgãos aéreos com misturas de triazóis e estrobilurinas (REIS; CASA, 2007).

Os fungos *D. tritici-repentis* e *D. siccans*, são parasitas necrotróficos e sobrevivem em sementes e em restos culturais dos hospedeiros, assim sendo, a rotação de culturas é uma prática eficaz para se adotar no manejo. A manutenção de restos culturais na superfície do solo, como no plantio direto, prolonga a viabilidade do fungo e sua permanência na lavoura (REIS, CASA, DANELLI, 2011). O princípio do controle envolvendo a rotação de culturas baseia-se na supressão ou eliminação do substrato apropriado para o patógeno, na fase saprofítica (REIS; FORCELINI, 1995).

O uso de variedades resistentes é uma medida de controle importante a se adotar, no entanto, no Brasil ainda não existem cultivares com resistência suficiente para controlar a mancha-amarela do trigo (SILVA; BASSOI; FOLONI, 2017).

Quanto ao controle químico da mancha-amarela, este é obtido por meio do tratamento de sementes com a utilização de triadimenol 40,5 gramas de ingrediente ativo (g.i.a.), carboxina 60 g.i.a., tiran 60 g.i.a. ou difenoconazol 30 g.i.a. para 100 kg de sementes, ou ainda, pela aplicação de fungicidas nos órgãos aéreos, pertencentes ao grupo dos triazóis

(ciproconazol, epoxiconazol, metconazol, propiconazol e tebuconazol) e estrobilurinas (azoxistrobina, cresoxim-metílico, piraclostrobina e trifloxistrobina (SILVA; BASSOI; FOLONI, 2017)).

Trabalhos realizados com o objetivo de avaliar a melhor fase de desenvolvimento da cultura para realizar o controle da mancha-amarela, o número de aplicações de fungicidas por cultivar, assim como a mistura mais eficiente, realizou-se o experimento utilizando-se as misturas epoxiconazol + piraclostrobina, tebuconazol + trifloxistrobina e ciproconazol + azoxistrobina em uma, duas e três aplicações com as cultivares BRS 327 e BRS 296. Concluiu-se com este experimento que, o melhor controle foi obtido com a mistura epoxiconazol + piraclostrobina e a cultivar BRS 327 foi o que apresentou maior resistência à mancha-amarela, necessitando menor uso de fungicidas para seu controle. O melhor momento de controle se dá no emborrachamento, no qual, dependendo do ano e nível de infecção, é possível que com apenas uma aplicação, nessa fase, seja suficiente para manter a mancha-amarela sob controle para a cultivar BRS 327. Para a cultivar BRS 296, por ser relativamente menos resistente à doença, duas aplicações podem ser necessárias, no alongamento e emborrachamento (SANTANA; CLEBSCH; LAZZAROTTO, 2010).

O uso de sementes sadias associadas ao tratamento de sementes com fungicidas eficientes e rotação de culturas são estratégias que reduzem o inóculo primário de fungos causadores de manchas foliares. Quanto à aplicação de fungicidas na parte aérea, esta deve ser feita com base no Limiar de Dano Econômico (LDE), sendo calculado com base na função de dano $R = 1000 - 5,7 I$ (R = rendimento de grãos e I = incidência foliar da doença) (SILVA; BASSOI; FOLONI, 2017).

3.3. Controle alternativo de doenças

Vários são os problemas em consequência do uso indiscriminado de fungicidas químicos, dentre estes, o aumento dos custos de produção, possibilidade da ocorrência de intoxicação dos aplicadores, contaminação do ambiente pela deriva, lixiviação dos excessos de produtos pulverizados, resíduos de fungicidas nos grãos e seleção de isolados do patógeno resistentes, principalmente quando são utilizados produtos com mecanismos de ação mais específicos (DUARTE et al., 2012).

Todos esses fatores são motivos de preocupação e têm levado a uma procura de estratégias de manejo de doenças, com produtos alternativos eficientes e economicamente

viáveis. Dentre estas alternativas de controle de doenças em plantas destacam-se a aplicação de nutrientes (WORDELL FILHO; DUARTE; RODRIGUES, 2013) e o controle biológico com microrganismos antagonistas, a exemplo da utilização de bactérias dos gêneros *Pseudomonas* do grupo fluorescentes (*P. putida* e *P. fluorescens*), *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp. e representantes da família Enterobacteriaceae (SILVA et al., 2008), apresentando-se como alternativas para a redução ou eliminação do uso de agroquímicos no controle de fitopatógenos (RYAN et al., 2008).

3.3.1. Uso do Silício na proteção de plantas

O Si é considerado um elemento benéfico às plantas e não essencial, pois plantas superiores podem crescer até a maturidade em soluções nutritivas formuladas sem Si (EPSTEIN, 2009). No entanto, em condições desfavoráveis as plantas, o Si auxilia o desenvolvimento e a integridade de muitas espécies, principalmente de monocotiledôneas, como arroz, cana-de-açúcar, cereais de inverno e algumas dicotiledôneas, como pepineiro e tomateiro (BÉLANGER et al., 1995; DATNOFF; DEREN; SNYDER, 1997; SAVANT; SNYDER; DATNOFF, 1997; EPSTEIN, 1999).

Estudos relatam o efeito do Si no crescimento e desenvolvimento das plantas, principalmente, quando este é aplicado via solo. Porém, estudos vem demonstrando sua ação quando aplicados via solução nutritiva e/ou via foliar, tanto em monocotiledôneas quanto em dicotiledôneas (ZAMBOLIM; ZANÃO JUNIOR; VENTURA, 2012).

O Si tem-se destacado no controle de doenças de plantas (DATNOFF; RODRIGUES; SEEBOLD, 2007). Seu efeito no aumento da resistência foi observado em várias espécies vegetais, principalmente em monocotiledôneas (MARSCHENER, 1995; RODRIGUES et al., 2004). O Si também atua reduzindo o estresse das plantas às altas temperaturas, ao déficit hídrico e à toxidez por ferro e manganês (DATNOFF; RODRIGUES; SEEBOLD, 2007).

Estudos realizados em plantas de cana-de-açúcar (considerada planta acumuladora de Si) com mapeamento por raio X, tem demonstrado que houve maior quantidade de Si depositada na epiderme inferior das folhas do que na epiderme superior e no mesófilo, locais em que foi observado menor severidade da ferrugem-marrom (*Puccinia melanocephala*), quando essas plantas foram tratadas com a dose de 2000 mg L⁻¹, o que sugere o papel importante do Si no manejo desta doença na cultura (NAIDOO et al., 2009).

Quanto à atuação do Si na potencialização dos mecanismos de resistência nas plantas, esta ainda não está totalmente esclarecida. A hipótese da formação de uma barreira física, abaixo da cutícula, após a polimerização do ácido monossilícico, explica, parcialmente, o aumento da resistência do arroz à brusone (KIM et al., 2002). Outras evidências da atuação do Si reforçam a hipótese de que este potencializa mecanismos bioquímicos de defesa das plantas e não atua apenas de forma passiva na resistência, como aumento do acúmulo de compostos fenólicos associados com as estruturas de alguns patógenos, o aumento da produção de fitoalexinas, a transcrição de alguns genes, associados com a resistência à brusone e o aumento na atividade de enzimas de defesa (DATNOFF; RODRIGUES; SEEBOLD, 2007).

Em estudos com extratos de folhas de plantas de arroz inoculadas com *Magnaporthe grisea* e tratadas com Si, verificaram que essas plantas possuíam níveis mais altos de fitoalexinas momilactona do que extrato de folhas obtidas de plantas inoculadas com o patógeno e não tratadas com Si. O estímulo mais eficiente da via do terpenoide em plantas tratadas com Si e o aumento nos níveis de momilactonas, parecem ser os fatores que contribuem para o aumento da resistência à brusone em arroz (RODRIGUES et al., 2004).

Quanto às enzimas relacionadas à defesa das plantas, foi observado aumento na atividade de quitinase e β -1,3-glucanase em plântulas de ervilhas tratadas com silicato de potássio, antes das plantas serem inoculadas com *Mycosphaerella pinodes*. O número de lesões quantificadas em plântulas de ervilhas tratadas com Si também foi menor em comparação com plântulas não tratadas com Si (DANN; MUIR, 2002).

3.3.1.1. Composto dióxido de silício

Entre as principais fontes de Si utilizadas nas pesquisas científicas estão os metassilicatos de sódio e de potássio, o ácido silícico, todos com efeitos similares. Para pulverizações foliares no controle de doenças de algumas culturas, como roseiras, a fonte de Si mais usada é o metasilicato de potássio (BÉLANGER et al., 1995). Entretanto no Brasil, essa fonte é pouco disponível no mercado. Assim sendo, escórias de siderurgias, como silicatos de Ca e Mg, encontrados facilmente e comercializados no mercado são as fontes mais importantes de Si. Existem outras fontes, como o termofosfatos magnesianos ou silicofosfatos de magnésio (CURVÊLO, 2012).

Tratando-se da sílica ou dióxido de silício, este é um composto natural formado pelos dois elementos químicos mais abundantes na crosta terrestre, o oxigênio e o silício. Este é encontrado na natureza nas formas amorfa e cristalina, que quando combinadas com metais e óxidos dão origem a silicatos como o talco, feldspato, caulim e mica. Sua forma amorfa, embora não seja inerte, é menos tóxica do que a cristalina, sendo encontrada em rochas vulcânicas vitrificadas, terras diatomáceas não aquecidas, sílica gel, no vidro sintético e na lã de vidro.

3.3.2. Controle biológico com *Bacillus subtilis*

O gênero *Bacillus* spp. se destaca por formar endósporos e apresentar variabilidade de mecanismos antagônicos. Desta forma, a bactéria possui longa manutenção e sobrevivência em nichos ecológicos específicos, com grande versatilidade nos mecanismos de ação para driblar as defesas dos fitopatógenos (SILVA et al., 2008). A espécie *B. subtilis* mostra-se como excelente agente de biocontrole, podendo ser encontrado como PGPR (rizobactérias promotoras de crescimento em plantas), bactérias epifíticas e endofíticas (GUPTA et al., 2000; ONGENA et al., 2005).

Yao et al. (2006) relataram que *B. subtilis* tem sido usado comercialmente para o biocontrole de enfermidades de plantas, bem como para aumentar a produtividade das culturas. Seus efeitos antagônicos podem ser diretos ou indiretos. O efeito direto exercido contra fitopatógenos tem o envolvimento dos mecanismos de antibiose, como a síntese de substâncias antimicrobianas, a competição por espaço e nutrientes e a síntese de compostos voláteis. Enquanto que o efeito indireto é exercido pelo fenômeno de resistência sistêmica induzida (ISR) (LEELASUPHAKUL; HEMMANEE; CHUENCHITT, 2008).

De acordo com Phae e Shoda (1991), o *B. subtilis* se caracteriza por sintetizar mais de 60 tipos de antibióticos, polipeptídeos e endotoxinas. Moléculas estas que podem atuar como eliciadoras da ISR, proporcionando a sistemicidade da resposta de defesa contra patógenos (RYU et al., 2004; ONGENA et al., 2007). Como exemplo temos o trabalho de Ongena et al. (2007) no qual os autores estudaram a síntese de lipopeptídeos da família das surfactinas e fengicinas (metabólicos antifúngicos), pelo isolado 168 de *B. subtilis*, e verificaram que o mesmo atuava no processo de ativação da ISR em plantas de feijão e tomate.

Com o intuito de determinar o papel da surfactina no biocontrole de *P. syringae* em *Arabidopsis* sp. por *B. subtilis*, Bais, Fall e Vivanco (2004) testaram uma estirpe mutante, M1,

com uma deleção do gene surfactina sintase, sendo portanto, deficiente na produção de surfactina. Concluíram que o *B. subtilis* M1 foi ineficaz como agente de biocontrole e também ineficiente na formação de biofilme na superfície das raízes, aferindo, portanto, que a atividade antagônica e a capacidade de formar biofilme está diretamente envolvida com a síntese de surfactina.

3.4. Indução de resistência em plantas

A resistência da planta a um determinado patógeno é definida como sendo a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada de um microrganismo em seu interior, bem como criar condições adversas para a colonização de seus tecidos pelo mesmo (PASCHOLATI, 1995), na qual a resistência natural das plantas à patógenos baseia-se em barreiras e mecanismos de defesa já existentes, independente da chegada do patógeno ao sítio de infecção (BONALDO; PASCHOLATI; ROMEIRO, 2005).

Observa-se também que as plantas possuem outros mecanismos de defesa eficientes na defesa contra fitopatógenos que aparentemente, permanecem inativos ou latentes, os quais são acionados ou ativados após serem expostos aos agentes de indução (BONALDO; PASCHOLATI; ROMEIRO, 2005). Esses mecanismos são geneticamente determinados e sua efetividade mostra-se dependente da expressão dos mesmos no momento certo, magnitude adequada e em uma sequência lógica, após o contato do patógeno com o hospedeiro (STADNIK, 2000).

A indução de resistência (IR) resulta da interação de uma planta com um adequado agente indutor. Entretanto, em todos os casos, a interação com o agente indutor ou eliciador resulta na expressão de defesas e no *priming* (pré-condicionamento) dos tecidos saudáveis, para responder rapidamente à infecção (HAMMERSCHMIDT, 2007), aumentando a capacidade de defesa da planta contra um amplo espectro de patógenos, como: fungos, bactérias e vírus (VAN LOON; BAKKER; PIETERSE, 1998).

A indução de resistência é um processo dinâmico, baseado em barreiras estruturais e bioquímicas da planta, induzidas por inoculação prévia ou concomitante com um indutor. Os indutores podem ser microrganismos saprofitos, metabólitos microbianos, extratos de plantas e/ou agentes químicos (MANANDHAR et al., 1998).

O estado induzido da resistência é demonstrado por um aumento na síntese de produtos de defesa vegetal, tais como: proteínas relacionadas à patogênese (quitinases,

glucanases, peroxidases), fitoalexinas e compostos sinalizadores (HEIL; BOSTOCK, 2002). Sua síntese e acúmulo possuem caráter de resposta ativa e sistêmica em caso de resistência induzida (VAN LOON, 1985).

As substâncias sintetizadas pelas plantas em resposta aos seus mecanismos de resistência podem se acumular nos espaços intercelulares, onde teriam uma ação direta sobre os patógenos e também nos vacúolos, onde teriam ação após eventos de patogênese que culminam com a descompartimentalização destas substâncias (AGNELLI, 2011).

Os mecanismos de resistência das plantas são divididos em duas categorias: mecanismos de defesa pré e pós-formados. Estes são subdivididos ainda em mecanismos que podem ser estruturais, atuando como barreiras físicas ou bioquímicas, que compreendem a produção de substâncias tóxicas ao patógeno ou então, criando condições desfavoráveis para seu crescimento na planta (MAZARO, 2007).

Os mecanismos de defesa pré-formados são os que estão na planta antes da mesma entrar em contato com o patógeno, por exemplos: cutícula, tricomas, fibras vasculares e adaptações nos estômatos. As substâncias químicas como fenóis, alcaloides, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos e cianogênicos, inibidores proteicos, quitinases e β -1,3 glucanases também pertencem à classe dos pré-formados (STANGARLIN et al., 2011).

Os mecanismos de defesa pós-formados são produzidos ou ativados pela presença do patógeno, estando estes ausentes ou em baixos níveis antes da infecção. Exemplos deste tipo de mecanismo são a formação de papilas, halos, lignificação, camada de cortiça, formação de tilose, deposição de goma, compostos bioquímicos como fitoalexinas, proteínas relacionadas à patogênese e espécies reativas de oxigênio (PASCHOLATI, 2011).

A combinação de características de defesa estruturais e bioquímicas que as plantas utilizam contra os patógenos diferem nas distintas interações patógeno-hospedeiro. Tratando-se dos mesmos patógenos e planta hospedeira, as combinações variam com a idade, o tipo de órgão e de tecidos atacados e o estado nutricional da planta, assim como das combinações ambientais (AGRIOS, 2005).

3.4.1. Fitoalexinas

A indução de fitoalexinas está entre os fatores de resistência mais eficientes, pois ocasiona morte repentina de células da planta ao redor dos sítios de infecção (HAMMOND-KOSACK; JONES, 1996) sendo esta produzida localmente, ou seja, sua síntese ocorre nas

células infectadas e nas células sadias adjacentes ao local danificado e/ou por células necrosadas em resposta aos materiais que se difundem das células danificadas. No entanto, estas substâncias não são produzidas durante infecções biotróficas (HARBORNE, 1982; AGRIOS, 2004).

Todas as fitoalexinas são metabólitos secundários derivados predominantemente de duas vias biossintéticas: a via dos fenilpropanóides, que leva à síntese de flavonóides, isoflavonóides, diidrofenantrenos e estilbenos e a via do poliacetato, a qual dá origem aos terpenóides, poliacetilenos e isocumarinas (INGHAM, 1981), podendo acumular-se até níveis suficientes para limitar o crescimento do patógeno sendo também, tóxicas para protoplastos (células vegetais sem parede celular), células animais, bactérias e fungos, as quais possuem ação direta sobre o agressor e/ou indireta, causando a morte do tecido infectado, gerando a lesão típica da Reação de Hipersensibilidade (HR) (DEFFUNE, 2001).

As fitoalexinas são consideradas substâncias antimicrobianas, as quais não estão presentes nas plantas antes da infecção (YAMADA, 2004) porém, seu teor é aumentado como resposta da ação de microrganismos e/ou de agentes físicos e químicos, como resultado da síntese *de novo* de enzimas ou da ativação de um sistema enzimático latente (STOESSL, 1976). Seu modo de ação sobre fungos inclui granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas, refletindo na inibição da germinação e na alongação do tubo germinativo e na redução ou na inibição do crescimento micelial (CAVALCANTI et al., 2005).

Algumas das fitoalexinas melhor estudadas incluem a faseolina em feijão, pisatina em ervilha, gliceolina em soja, alfafa e trevo, rishitina em batata, gossypol em algodão e capsidiol em pimentão (Agrios, 2004) e as fitoalexinas flavonóides da classe das 3-deoxiantocianidinas em sorgo (LOPES, 1993).

A produção de fitoalexina é estimulada no hospedeiro pela presença de certas substâncias do patógeno chamadas elicitores. A maioria destes elicitores são geralmente substâncias de alto peso molecular que são constituintes de parede celular dos fungos, tais como glucanas, quitosanas, glicoproteínas e polissacarídeos. Muitos destes elicitores não são específicos, ou seja, eles estão presentes tanto em raças compatíveis como incompatíveis do patógeno e induzem acumulação de fitoalexina independente da cultivar de planta. Porém, outros elicitores de fitoalexinas são específicos e causam a acumulação de fitoalexinas em certas cultivares compatíveis e cultivares incompatíveis paralelas do mesmo modo que as raças de patógenos próprias destas cultivares (TEIXEIRA, 2011).

3.4.2. Polifenoloxidasas (E.C. 1.10.3.1)

As polifenoloxidasas (PFO) são enzimas que estão amplamente distribuídas em plantas, várias espécies de bactérias, fungos e algas (FLURKEY, 1989), sendo que o nome polifenoloxidase significa “catalisadora da oxidação de diversos fenóis” (SOUZA, 2009). Nas plantas geralmente estão distribuídas em toda sua estrutura, podendo haver variação na concentração de acordo com o órgão/tecido, espécie ou cultivar do vegetal (MAYER; HAREL, 1979), permanecendo na maior parte, inativa no meio intracelular, mantendo-se compartimentalizada dentro dos tilacoides dos cloroplastos e nos vacúolos. Outra parte, em menor quantidade, pode ser encontrada na região extracelular da parede (VAUGHN; LAX; DUKE, 1988).

Estas enzimas tornam-se ativas quando liberadas na membrana dos tilacóides devido ao rompimento causado por dano, senescência, ataque de insetos ou patógenos (MAYER; HAREL, 1991) e, estando envolvida em processos de oxi-redução (MAYER, 1987) promovem a hidroxilação de monohidroxifenol para *o*-hidroxifenol e a desidrogenação deste composto, formando *o*-quinonas, as quais sofreram polimerização não-enzimática com aminoácidos ou proteínas formando, por sua vez, pigmentos marrom, vermelho e preto, responsáveis pelo escurecimento dos tecidos (UNDERHILL; CRITCHLEY, 1995).

Quando ativadas, estas enzimas também realizam a oxidação do ácido clorogênico, em que a reativação da clorogenoquinona poderá limitar o desenvolvimento dos patógenos por acelerar a taxa de morte celular próxima ao sítio de infecção, podendo gerar um ambiente tóxico ao invasor (PETER, 1989). Podem atuar também reduzindo a biodisponibilidade de proteínas para o patógeno, desencadeando a formação de barreiras fenólicas na parede celular (LI; STEFFENS, 2002).

De acordo com Sánchez et al. (2000), a atividade desta enzima pode ser aumentada ou inibida em algumas plantas por estresse como injúria, toxicidade de nitrogênio e ataque de patógenos. Assim sendo, a atividade da polifenoloxidase é elevada em tecidos infectados e apresenta grande importância, pois está envolvida nos mecanismos de defesa e na senescência das plantas (AGRIOS, 2005). Esta enzima também tem sido atribuída um grande número de processos celulares, que inclui a defesa contra pragas e patógenos, controle dos níveis de oxigênio no cloroplasto, síntese de compostos fenólicos e cicatrização de danos (MAYER, 1987).

Através do aumento da atividade da PFO, vários autores comprovam a eficiência desta

no processo de indução de resistência em plantas. Liu et al. (2005), em tratamento pós-colheita de frutos de pêsego com acibenzolar-S-metil (ASM) observaram uma redução da severidade de *Penicillium expansum* em 50%. Em estudos realizados por Itako et al. (2012) estes verificaram que houve incremento na atividade da PFO em folhas de tomateiro não inoculadas com a bactéria *Xanthomonas perforans* após aplicação de Piraclostrobina juntamente com ASM.

3.4.3. Fenilalanina amônia-liase (E.C. 4.3.1.5)

Trata-se de uma enzima tetramérica composta por quatro subunidades diferentes, a qual apresenta a função de catalizar a eliminação não oxidativa da amônia da L-fenilalanina, transformando-a em ácido *trans*-cinâmico, sendo este o primeiro produto formado na rota biossintética dos fenilpropanóides em plantas superiores (JONES, 1984; RITTER; SCHULTZ, 2004), sendo considerada também o ponto de ramificação entre o metabolismo primário (via do ácido chiquimico) e secundário (HERRMANN; WEAVER, 1999).

O ácido *trans*-cinâmico é precursor de muitos compostos fenilpropanóides, os quais desempenham funções essenciais nas plantas (RITTER; SCHULTZ, 2004). Este ácido origina vários fenilpropanóides simples, como os ácidos *p*-cumárico, caféico, ferúlico, sináptico que estão presentes em altas concentrações no interior de células vegetais, na forma conjugada com açúcares, associados a carboidratos presentes na parede celular ou associados à ácidos orgânicos, que por sua vez, estão envolvidos na biossíntese de lignina, compostos antioxidantes, fitoanticipinas, compostos fenólicos antinutritivos (DIXON; PAIVA, 1995), pigmentos como as antocianinas (HOLTON; CARNISH, 1995) e ácido salicílico, conferindo desta forma maior resistência à parede celular e sinalização em respostas de defesa dos vegetais (GERASIMOVA et al., 2005).

Picoli et al., (2010) abordam que o estímulo à produção de etileno tem entre outras consequências a ativação do metabolismo fenilpropanóide dos vegetais, principalmente em função do aumento da atividade de enzimas deste metabolismo, sobretudo da fenilalanina amônia-liase. Assim, diversos estudos demonstram que a atividade da fenilalanina amônia-liase aumenta em resposta a diferentes tipos de estresse, especialmente ao estresse térmico, sendo considerada por muitos autores como “proteína do estresse”, relacionando-se com desenvolvimento de mecanismos de proteção e adaptação de plantas a situações adversas (CHAKRABORTY et al., 2001).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local do experimento

Os testes *in vitro* foram realizados no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Centro-Oeste do Paraná – UNICENTRO, Guarapuava-PR.

Os experimentos à campo foram realizados no ano agrícola de 2016/2017 em duas localidades, ambas possuindo a classificação do clima do tipo Cfb (Clima subtropical úmido) mesotérmico, com verões frescos e sem estação seca definida, segundo a classificação de Köppen (WREGE et al., 2011; IAPAR, 2016), nos quais utilizou-se a cultivar de trigo TBIO Toruk. Um experimento foi conduzido em uma propriedade rural no município de Virmond - PR, com latitude de 25°37' S, longitude de 52°20' W e altitude de 713 metros. Neste experimento a semeadura do trigo foi realizada em 06/06/2016. A densidade de semeadura foi de 315 sementes viáveis m⁻², equivalente à aproximadamente 105 kg de sementes ha⁻¹, com espaçamento entre linhas de 0,17m. Foram utilizados 250 kg ha⁻¹ de NPK da fórmula comercial 10-30-20, de acordo com a análise de solo e exigência da cultura, distribuindo-se no sulco de semeadura. Também foi realizada adubação nitrogenada de cobertura no estágio de perfilhamento, com 130 kg ha⁻¹ de ureia.

O segundo experimento de campo foi na área experimental do Departamento de Agronomia da Universidade Estadual do Centro-Oeste – UNICENTRO, localizada no município de Guarapuava – PR, com latitude 25°41' S, longitude 51°38' W e altitude de aproximadamente 1120 metros. A semeadura foi realizada no dia 20/07/2016, sendo utilizado aproximadamente 120 kg de sementes ha⁻¹, com espaçamento entre linhas de 0,17m. Foram utilizados 300 kg ha⁻¹ de NPK da fórmula comercial 10-30-20, de acordo com a análise de solo e exigência da cultura, distribuindo-se no sulco de semeadura. A adubação nitrogenada de cobertura foi realizada no estágio de perfilhamento, também com 130 kg ha⁻¹ de ureia.

4.2. Testes *in vitro*

Nos testes *in vitro*, os seguintes experimentos foram realizados: teste de crescimento micelial e de indução de fitoalexinas em sorgo, feijão e soja. Os tratamentos utilizados foram: SiO₂, *B. subtilis*; SiO₂ + *B. subtilis*; trifloxistrobina + tebuconazol; trifloxistrobina + protioconazol e testemunha água, sendo os mesmos usados no experimento à campo.

4.2.1. Crescimento micelial

O inóculo do fungo foi obtido à partir de isolados oriundos de Guarapuava, contidos no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Centro Oeste do Paraná, sendo realizado testes de comparação de estrutura para confirmar a identificação.

Os produtos foram diluídos nas concentrações recomendadas para pulverização à campo. Em seguida foram incorporadas em meio BDA (batata-dextrose-ágar) e vertidos em placas de Petri. No tratamento testemunha utilizou-se apenas o meio BDA. Após o resfriamento do meio de cultura, transferiu-se para o centro das placas, discos de micélio de *F. graminearum* medindo 12 mm de diâmetro, retirados de colônias puras com sete dias de crescimento.

As placas de Petri foram incubadas em câmara de crescimento tipo BOD a uma temperatura de 25°C, com fotoperíodo de 12 horas (TEIXEIRA et al. (2001).

Para avaliação do crescimento micelial das colônias fúngicas foram realizadas medições do crescimento radial da colônia em dois eixos ortogonais com paquímetro digital, sendo posteriormente calculada a média. As leituras foram realizadas a cada dois dias, perdurando até o momento em que as colônias da testemunha atingiram as bordas da placa (STANGARLIN et al., 1999). A porcentagem de inibição do crescimento (PIC) do fitopatógeno foi obtida por meio da fórmula: $PIC = [(diâmetro da testemunha - diâmetro do tratamento) / diâmetro da testemunha] \times 100$, para cada tratamento em relação a testemunha.

O delineamento do experimento foi o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com cinco tratamentos e cinco repetições, sendo que a unidade experimental foi uma placa de Petri.

4.2.2. Indução de Fitoalexina em soja

Para verificar a indução de fitoalexinas em soja foi a metodologia proposta por Zeigler e Pontzen (1982). As sementes de soja [*Glycine max* (L.) Merrill], cultivar TMG 7062 foram semeadas em areia esterilizada e mantidas em casa-de-vegetação. Após nove dias, os cotilédones foram destacados, lavados em água destilada, secos e cortados em secção de aproximadamente 1 mm de espessura e 6 mm de diâmetro a partir da superfície inferior do cotilédone.

Foram depositados cinco cotilédones por placa de Petri com papel de filtro esterilizado e umedecido, sendo cada repetição composta por uma placa, onde cada cotilédone recebeu 40 μL de cada tratamento a ser testado. As placas foram mantidas a 25°C no escuro por 20 horas e, após esse período, os cotilédones foram transferidos para um erlenmeyer contendo 15 mL de água destilada esterilizada e mantidos em agitação por uma hora para a extração das fitoalexinas. A leitura foi realizada em espectrofotômetro à 285 nm.

O delineamento do experimento foi o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com sete tratamentos e cinco repetições, sendo: T1 - Testemunha água; T2 - trifloxistrobina + protioconazol; T3 - *B. subtilis*; T4 - trifloxistrobina + tebuconazol; T5 - SiO_2 ; T6 - Quitosana (tratamento positivo) e T7 - SiO_2 + *B. subtilis*. A unidade experimental foi uma placa de Petri contendo cinco cotilédones.

4.2.3. Indução de Fitoalexina em feijão

Para a determinação da fitoalexina faseolina do feijoeiro utilizou-se a metodologia de Dixon et al. (1983), com algumas modificações. Sementes de feijão da variedade IPR -Tuiuiu foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 1% por 5 minutos. Após, foram lavadas em água destilada estéril, semeadas em areia esterilizada por autoclavagem (120 °C por uma hora a 1 atm) e mantidas no escuro a 24 °C durante nove dias. Após nove dias, segmentos de hipocótilos estiolados com 5 cm foram destacados das plântulas, lavados em água estéril e mantidos sobre papel absorvente por 30 minutos. Quatro segmentos de hipocótilo (aproximadamente 1 g) foram pesados e colocados em cada placa de Petri contendo papel germiteste umedecido com água destilada estéril. Os tratamentos nas respectivas concentrações foram pulverizados sobre os hipocótilos. Este ensaio teve como testemunha água destilada.

As placas de Petri foram mantidas a 24°C em escuro por 48 h. Depois desse período, os hipocótilos foram transferidos para tubos de ensaio com 10 mL de álcool 70%, mantidos a 4°C por 48 horas, e agitados por uma hora para extração da fitoalexina. O teor de faseolina foi mensurado indiretamente em espectrofotômetro à 280 nm (BAILEY; BURDEN, 1983).

O delineamento do experimento foi o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com sete tratamentos e cinco repetições, sendo: T1 - Testemunha água; T2 - trifloxistrobina + protioconazol; T3 - *B. subtilis*; T4 - trifloxistrobina + tebuconazol; T5 - SiO_2 ; T6 - Quitosana (tratamento positivo) e T7 - SiO_2 + *B. subtilis*. A unidade experimental foi uma placa de Petri

contendo quatro segmentos de hipocótilo.

4.2.4. Indução de Fitoalexina em sorgo

Sementes de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] foram desinfestadas superficialmente com hipoclorito de sódio 1% por 15 minutos, lavadas em água destilada e então embebidas em água destilada à temperatura ambiente por seis horas. Posteriormente, foram enroladas entre folhas de papel germiteste umedecidas e incubadas no escuro por quatro dias à temperatura de 28 °C. Após este período, as plântulas foram mantidas por quatro horas na luz, visando paralisar a elongação dos mesocótilos (NICHOLSON et al., 1987).

Os mesocótilos obtidos foram excisados 0,5 cm acima do nó escutelar e colocados em tubos de ensaio (três mesocótilos/tubo) contendo uma alíquota de 1 mL de cada tratamento. Os tubos de ensaio foram mantidos em câmara úmida utilizando bandejas e sacos plásticos e mantidos na sala de crescimento à 25 °C sob luz fluorescente (WULFF; PASCHOLAT, 1999). Após 60 h, os mesocótilos foram secos e os cinco milímetros basais de cada mesocótilo foram excisados e descartados. A porção superior (2,5 cm), excetuando-se as folhas foram pesadas, cortadas em pequenos segmentos e colocadas em tubos para microcentrífuga contendo 1,4 mL de metanol 80% acidificado (0,1% HCl; v/v). Os mesocótilos cortados foram mantidos a 4°C no metanol por 96 h para extração dos pigmentos e a absorvância foi determinada em espectrofotômetro à 480 nm (NICHOLSON et al., 1987).

O delineamento do experimento foi o Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC), com sete tratamentos e cinco repetições, sendo: T1 - Testemunha água; T2 - trifloxistrobina + protioconazol; T3 - *B. subtilis*; T4 - trifloxistrobina + tebuconazol; T5 - SiO₂; T6 - Quitosana (tratamento positivo) e T7 - SiO₂ + *B. subtilis*. A unidade experimental foi um tubo de Eppendorf contendo três mesocótilos.

4.3. Experimento à campo

O delineamento dos experimentos foi em Blocos Casualizados (DBC), com cinco tratamentos e quatro repetições. As unidades experimentais constaram de parcelas de 10 linhas de semeadura com 3 m de comprimento e 1,7 m de largura. Sendo considerado como área útil 2 m de comprimento por 1,10 m de largura.

Nas duas localidades, as aplicações dos produtos foram feitas com pulverizador costal manual, sendo os tratamentos: T1 – SiO₂; T2 – *B. subtilis*; T3 – SiO₂ + *B. subtilis*; T4 – trifloxistrobina + protioconazol/trifloxistrobina + tebuconazol; T5 – Testemunha, nos estádios de perfilhamento, alongação, emborrachamento e floração da cultura conforme a Tabela 1.

Tabela 1. Tratamentos e estádios de aplicação utilizados nos experimentos à campo.

Trat./estádios fenológicos	Perfilhamento	Alongação	Emborrachamento	Floração
1	SiO ₂	SiO ₂	SiO ₂	SiO ₂
2	<i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. subtilis</i>
3	SiO ₂ + <i>B. subtilis</i>	SiO ₂ + <i>B. subtilis</i>	SiO ₂ + <i>B. subtilis</i>	SiO ₂ + <i>B. subtilis</i>
4	Trifloxistrobina + Protioconazol	Trifloxistrobina + Tebuconazol	Trifloxistrobina + Protioconazol	Trifloxistrobina + Tebuconazol
5	Testemunha	Testemunha	Testemunha	Testemunha

O produto utilizado no controle biológico foi o Serenade® (*Bacillus subtilis* linhagem QST 713) na dose de 41,04 g.i.a ha⁻¹ (mínimo de 1 x 10⁹ UFC g⁻¹ de ativo). Para o controle químico foram utilizados o Fox® (mistura de trifloxistrobina + protioconazol na dose de 87,5 g.i.a. e 75 g.i.a. ha⁻¹) e Nativo® (mistura de trifloxistrobina + tebuconazol na dose de 70 g.i.a e 140 g.i.a. ha⁻¹) segundo recomendações calendarizadas dos fabricantes. A fonte de dióxido de silício utilizada foi o Agrisil® (98% de SiO₂), na dose de 0,3 kg ha⁻¹. A testemunha foi sem aplicação de tratamento.

Foram avaliados os parâmetros epidemiológicos, morfológicos e bioquímicos da cultura do trigo.

4.3.1. Incidência, severidade de doenças

Para obtenção dos dados de incidência e severidade, e por sua vez, a Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) da mancha-amarela e da giberela na cultura do trigo, foram feitas seis avaliações, realizadas semanalmente à partir do perfilhamento.

A incidência da mancha-amarela foi obtida pelo percentual de folhas com sintomas avaliando-se 100 folhas em um metro do centro da parcela. Enquanto que a incidência de giberela sobre as espigas de trigo foi determinada contando-se 30 espigas do centro de cada

parcela. Para a determinação da porcentagem de incidência para ambas as doenças, utilizou-se a Equação 1 (DEUNER et al., 2015).

$$\text{INC (\%)} = [\text{NFL}/\text{NTFA}] * 100 \quad \text{Equação 1.}$$

Na qual:

INC – Incidência

NFL – Número de espigas/folhas lesionadas

NTFA – Número total de espigas/folhas avaliadas

A severidade da mancha-amarela foi quantificada utilizando-se a escala diagramática de septoriose em trigo proposta por Azevedo (1997), adaptada. Utilizaram-se para tanto, 100 folhas em um metro do centro da parcela.

A severidade da giberela foi determinada contando-se o número de espiguetas infectadas por espiga num total de 30 espigas do centro de cada parcela. Os dados de severidade foram expressos em porcentagem, obtidos do número médio de espiguetas gibereladas em função do número médio de espiguetas por espiga, considerando 100% o total de espiguetas da espiga (DEUNER et al., 2015).

Com os dados obtidos da incidência e severidade da mancha-amarela e da giberela no trigo, foi determinada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), calculado pela equação de integração trapezoidal (Equação 2), descrita em Campbell e Madden (1990).

$$\text{AACPD} = \sum [(y_i + y_{i+1})/2] \times (t_{i+1} - t_i) \quad \text{Equação 2.}$$

Na qual:

y_i = severidade/incidência inicial da doença

y_{i+1} = severidade/incidência final da doença

$t_{i+1} - t_i$ = intervalo de tempo entre as leituras inicial e final

4.3.2. Avaliações morfológicas

Nas avaliações morfológicas foram determinados o número de perfilhos, altura de

plantas, acamamento, data de florescimento, número de espiguetas por espiga, comprimento da espiga, número de grãos por espiga, peso hectolitro (PH), peso de mil grãos, produção kg ha⁻¹.

As avaliações para a variável número de perfilhos (NP) foram realizadas em duas épocas distintas, aos 50 dias após emergência (DAE) e no florescimento (90 DAE). Esta variável foi determinada pela contagem de perfilhos em um metro de duas linhas centrais de cada parcela nas duas épocas de avaliação, em que a última contagem foi somente de perfilhos férteis (NAF) (SCHEEREN, 1984; VALÉRIO et al., 2008).

A altura de plantas foi medida no estádio de maturação das plantas com o auxílio de uma régua graduada, e foi definida como sendo a distância (cm) do nível do solo ao ápice das espigas, excluindo-se as aristas, medindo-se 10 plantas ao acaso e representativas da área útil de cada parcela. O acamamento foi obtido pela percentagem de plantas acamadas por metro linear de cada parcela (SHEEREN, 1984).

Para os componentes do rendimento foi avaliada a data de florescimento, número de grãos por espiga (NGE), número de espiguetas por espiga, comprimento da espiga e o número de grãos por espiga. Estes dados foram obtidos pela média das determinações realizadas em 10 espigas coletadas ao acaso nas linhas centrais de cada parcela. O peso de mil grãos foi estabelecido por meio do valor da pesagem de 250 grãos multiplicados por quatro, em que a umidade foi ajustada à 13% de umidade para o cálculo da produtividade final em kg ha⁻¹ (FIALLOS et al., 2011) e, para estimar o peso do hectolitro, foi retirada uma amostra de 250 mL de cada parcela e pesada.

Biomassa seca de plantas, número de espiguetas por espiga, altura de plantas, comprimento de espigas foram avaliadas no estádio de grão leitoso da cultura. Para determinação da biomassa seca de plantas de trigo, coletou-se 25 plantas ao acaso, em um metro de duas linhas no centro da área útil das parcelas, sendo levadas para secagem em estufa de ventilação forçada, à temperatura de 65°C, até atingirem peso constante (MELERO et al., 2013).

A data de florescimento foi estabelecida quando mais de 50 % das plantas emitiram estruturas reprodutivas (anteras).

O comprimento da espiga foi determinado e classificado de acordo com Scheeren (1984) com algumas adaptações. Foram retiradas as espiguetas do colmo principal de 10 plantas de cada parcela e foi medido total da ráquis (mm), calculando-se a seguir a média. A classificação foi a seguinte: Espigas curtas – média < 75 mm; espigas semicurtas – média ≥ 75 mm e < 85 mm; espigas semilongas – médias ≥ 85 mm e < 95 mm e espigas longas –

média ≥ 95 mm.

4.3.3. Análises bioquímicas

Para as análises bioquímicas foram realizadas coletas de folhas de plantas do centro de cada parcela (aproximadamente 1g) 24 horas antes da segunda aplicação e 24 horas após a quarta aplicação dos tratamentos. Foram feitas análises do conteúdo de proteínas totais e das enzimas Polifenoloxidase (PPO - E.C. 1.10.3.1) e Fenilalanina amônia-liase (FAL - E.C. 4.3.1.5).

O conteúdo de proteínas totais foi determinado pelo método de Bradford (1976). Para isso, foram homogeneizados 600 μL de tampão fosfato 0,01 M (pH 6,0), 200 μL do extrato enzimático e 200 μL de reagente de Bradford (250 mg de corante Coomassie Brilliant Blue G-250, 125 mL de ácido fosfórico (H_3PO_4) e 125 mL de água destilada). A determinação do conteúdo de proteínas foi realizada pela leitura da absorbância à 595 nm em espectrofotômetro. Cada amostra foi formada por três réplicas. A cubeta de referência foi constituída de 800 μL de tampão fosfato 0,01 M (pH 6,0) e 200 μL do reagente. A absorbância foi plotada em curva padrão para proteína. Os resultados foram expressos em $\text{mg proteína}^{-1} \text{ mL amostra}^{-1}$.

A atividade da polifenoloxidase (E.C. 1.10.3.1) foi determinada conforme a metodologia proposta por Duangmal e Apenten (1999). O ensaio constituiu em mensurar a oxidação do catecol convertido em quinona, reação esta mediada pela enzima em estudo. Para tanto, o substrato para enzima foi composto por catecol, na concentração de 20 mM, dissolvido em tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 6,8). A reação foi conduzida misturando-se 900 μL do substrato e 100 μL do extrato enzimático seguida de leituras em espectrofotômetro, a 420 nm. As leituras foram realizadas de forma direta por um período de dois minutos. O diferencial entre a última e a primeira leitura foi utilizado para a determinação da atividade. Os resultados foram expressos em $\Delta \text{ de ABS min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$.

A atividade de fenilalanina amônia-liase (E.C. 4.3.1.5) foi determinada pela quantificação calorimétrica do ácido *trans-cinâmico* liberado pelo substrato fenilalanina, de acordo com a metodologia descrita por Umesha (2006). A mistura da reação foi incubada a 40 °C por duas horas, e esta continha 100 μL do extrato enzimático acrescidos de 400 μL de tampão Tris-HCl 0,025 M (pH 8,8) e 500 μL de solução de L-fenilalanina 0,05 M (825,9 mg diluído em 100 mL de tampão Tris-HCL 0,025 M (pH 8,8)). Ao final desse período foi

adicionado 60 μL de HCl 5 M para cessar à reação, seguindo-se à leitura em espectrofotômetro à 290 nm. A atividade de fenilalanina amônia-liase consistiu da diferença entre a absorbância da mistura contendo amostra e do controle (100 μL de extrato enzimático e 900 μL de tampão Tris-HCl 0,025 M (pH 8,8)), a qual foi plotada em curva padrão para ácido trans-cinâmico e expressa em UABS $\text{min}^{-1} \text{mg proteina}^{-1}$.

4.4. Análise estatística

Os resultados obtidos em todos os testes foram submetidos à análise de variância pelo teste F e quando significativas à análise de comparação de médias pelo teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância. As análises foram realizadas com auxílio do sistema computacional SISVAR (FERREIRA, 2011).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Resultados *in vitro*

No experimento *in vitro* para o crescimento micelial do patógeno, observou-se que os tratamentos com SiO₂ + *B. subtilis*; *B. subtilis*; SiO₂ e testemunha proporcionaram crescimento micelial de 43,38%, 61,45%, 91,22% e 90,03%, respectivamente (Figura 2), em que Leelasuphakul, Hemmane e Chuenchitt (2008) alegam que o antagonismo direto exercido pelo *B. subtilis* contra fitopatógenos tem o envolvimento dos conhecidos mecanismos de antibiose, com a síntese de substâncias antimicrobianas e a competição por espaço e nutrientes e a síntese de compostos voláteis.

Os tratamentos à base de moléculas químicas (trifloxistrobina + protioconazol e trifloxistrobina + tebuconazol), proporcionaram resultado superior em relação aos outros tratamentos *in vitro*, em que inibiram em 100% o crescimento micelial do fitopatógeno (Figura 2).

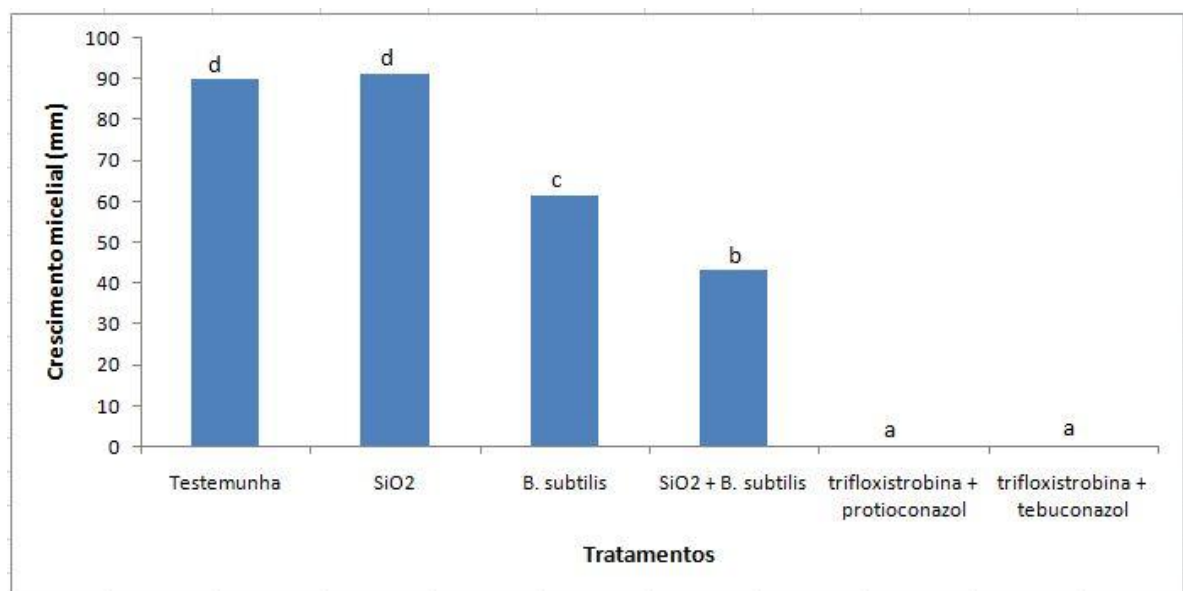


Figura 2. Crescimento micelial de *Fusarium graminearum* submetidos aos tratamentos. Letras iguais não diferem-se entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

O efeito supressor do crescimento micelial de *F. graminearum* ocasionado pelo *B. subtilis* também pode estar relacionado com a síntese de enzimas, como as quitinases e outras, que podem ter ação contra a parede celular fúngica, pois algumas bactérias antagonistas de fungos fitopatogênicos podem produzir estas enzimas (MAVINGUI; HEULIN, 1994).

Avaliando-se a eficiência de estirpes de *B. subtilis* no controle de *F. solani*, *F. sporotrichois* e *F. oxysporum*, patógenos da sementes de cana-de-açúcar, foi verificado que *B. subtilis* reduziu de 50 a 60% o desenvolvimento do micélio do fungo em comparação ao controle através da exposição do patógeno aos metabólitos produzidos pela bactéria (VILLA et al., 2007). Testes realizados por Yuan et al. (2012) avaliaram a ação fungistática e inibidora de germinação de esporos, de compostos voláteis produzidos por *B. amyloliquefaciens* NJN-6 sobre *F. oxysporum* f. sp. *cubense*.

O efeito fungistático de metabólitos não voláteis produzidos por estirpe de *B. amyloliquefaciens* sobre *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* *in vitro*, fazendo-se ainda o isolamento e identificação dos lipopeptídeos presentes nesses metabólitos através da espectrometria de massa e posteriormente testando seus efeitos sobre o patógeno foi verificado por Zhao et al. (2013). Os mesmos verificaram que o lipopeptídeo ‘fengycin’ possui ação sobre a seletividade da membrana fúngica, ocasionando também, mudanças morfológicas da estirpe de *F. oxysporum* f. sp. *spinaciae* e inibição da germinação dos esporos, sugerindo-se que fengycin produzido por *B. amyloliquefaciens* atua pelo menos como agente fungistático sobre o patógeno em estudo.

Quanto ao tratamento com SiO₂, não promoveu efeito significativo, o que era esperado, já que o Si não possui ação direta contra fitopatógenos, assim sendo, o *F. graminearum* pode ter utilizado-o como nutriente (Figura 3). Contudo Brancaglione et al. (2009) verificaram que a argila silicatada inibiu, em meio de cultura, 100% o crescimento bacteriano, em todas as concentrações empregadas (0,5 a 2%), confirmando o efeito positivo de controle do produto sobre as bactérias.

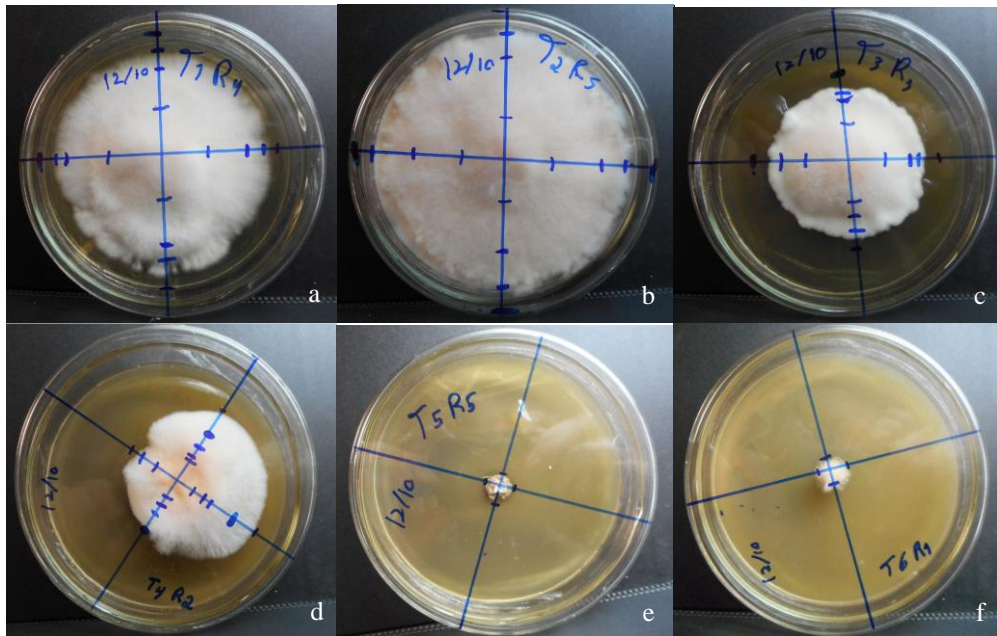


Figura 3. Avaliação do crescimento micelial de *F. graminearum* *in vitro*, no qual os tratamentos foram: testemunha (a), SiO₂ (b), *B. subtilis* (c), SiO₂ + *B. subtilis* (d), trifloxistrobina + protriocanazol (e) e trifloxistrobina + tebuconazol (f).

De acordo com Fuga, Gonçalves e Cunha (2011), mesmo obtendo bons resultados de antagonismo *in vitro*, estes nem sempre são garantias de eficiência em programas de manejo, já que, a eficácia dos antagonistas *in vivo* podem ser insuficientes perante uma série de fatores, uma vez que as condições em laboratório são controladas de forma que o isolado apresente máximo desempenho.

Na indução da fitoalexina gliceolina em cotilédones de soja com SiO₂, verificou-se que o tratamento proporcionou resultado superior aos demais tratamentos (ABS de 0,222 nm peso⁻¹) e inferior apenas, ao tratamento com quitosana, a qual expressou resultado mais significativo, com ABS de 0,264 nm peso⁻¹, diferindo-se do demais tratamentos pelo teste Scott-Knott (P<0,05) (Figura 4). Este resultado demonstra o efeito indutor de resistência em plantas que o SiO₂ possui, sendo importante no manejo integrado de doenças, pois como abordam Gouvea et al. (2011), a gliceolina é um pterocarpanoide (flavonoide), molécula importante para a defesa desta leguminosa contra fitopatógenos, causando a inibição da ativação de enzimas fúngicas, granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares e ruptura da membrana plasmática.

A associação de SiO₂ + *B. subtilis* apresentou redução na indução da síntese de gliceolina (ABS de 0,126 nm peso⁻¹) em relação à testemunha (ABS de 0,182 nm peso⁻¹) (Figura 4). Os demais tratamentos não diferiram-se entre si pelo teste de Scott-Knott (P<0,05), tendo ABS de 0,156; 0,174; 0,174; 0,182 nm peso⁻¹ para os tratamentos

trifloxistrobina + protioconazol, *B. subtilis*, trifloxistrobina + tebuconazol, e testemunha água, respectivamente.

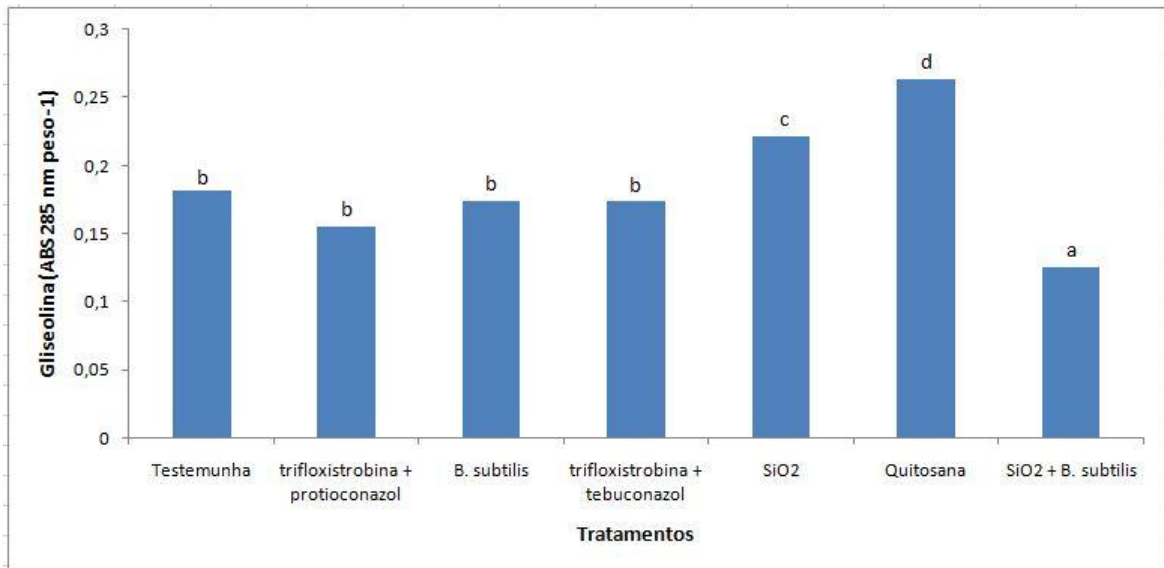


Figura 4. Indução da síntese da fitoalexina gliseolina em cotilédones de soja submetidos aos tratamentos. Letras iguais não diferem-se entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

Para a síntese da fitoalexina em hipocótilos de feijoeiro verificou-se que não houve diferença entre os tratamentos pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$), (Figura 5).

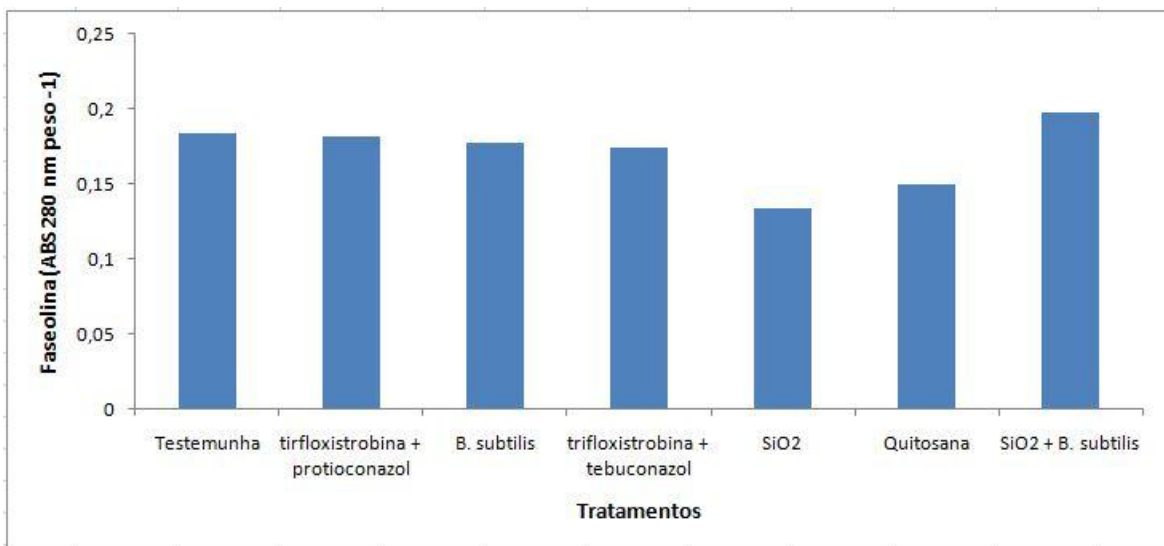


Figura 5. Indução da síntese da fitoalexina faseolina em hipocótilos de feijão submetidos aos tratamentos. Letras iguais não diferem-se entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

Para o complexo de fitoalexinas do sorgo, verificou-se que os tratamentos com *B.*

subtilis e SiO_2 + *B. subtilis* apresentaram maior indução quando comparado com a testemunha, com resultado de ABS de 2,45 nm peso^{-1} e 4,26 nm peso^{-1} , respectivamente, porém não diferiram-se do tratamento químico à base de trifloxistrobina + protioconazol (ABS de 4,03 nm peso^{-1}). Os resultados observados foram inferiores ao tratamento positivo com quitosana, a qual apresentou ABS de 7,97 nm peso^{-1} (Figura 6).

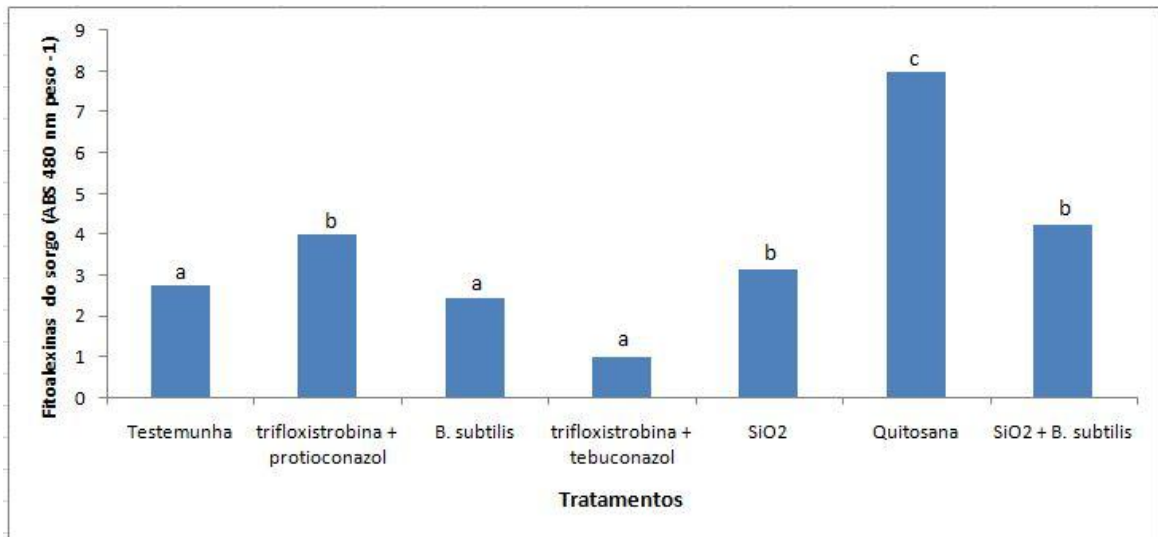


Figura 6. Indução da síntese de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo submetidos aos tratamentos. Letras minúsculas iguais na coluna não diferem-se entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

Na literatura não foram encontrados trabalhos com a utilização de Si como elicitor de fitoalexinas de soja, feijão e sorgo.

Entretanto, resultados positivos foram obtidos por Zanotti et al. (2009) trabalhando com microrganismos, os quais tiveram por objetivo do trabalho avaliar o efeito da aplicação de entomopatógenos sobre a produção de fitoalexinas com a utilização de *B. thuringiensis* (Dipel - dose recomendada 3,3 mL L^{-1}), e observaram que a bactéria induziu a produção de fitoalexina gliceolina em tecido de cotilédones de soja dependentemente da dosagem utilizada.

Em experimentos com outros elicitores bióticos, no caso, extratos aquosos de *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes* e *Pycnoporus sanguineus*, Arruda et al. (2012) observaram que o extrato de *A. blazei* na concentração de 10% foi o tratamento que induziu o maior acúmulo de fitoalexinas (gliceolinas) nos cotilédones da planta, sendo verificado para esse mesmo extrato, acúmulo a partir da concentração de 1%, enquanto que para os extratos com *L. edodes* e *P. sanguineus*, a indução foi observada a partir de 2%. Ressaltam ainda que, a indução de gliceolinas nos cotilédones de soja foi dose dependente, isto é, ocorreu maior acúmulo dessa

substância com o aumento das concentrações de cada extrato aquoso.

Avaliando o efeito de microrganismos na indução da produção de fitoalexinas em mesocótilo de sorgo, Bonaldo (2005) verificou que preparações de *Saccharomyces cerevisiae* (fermento biológico) autoclavadas sequencialmente por 1, 2, 3 e 4 horas (no total de 10 horas) induziram o acúmulo de até dez vezes mais fitoalexinas do que preparações autoclavadas por 4 horas, uma única vez.

5.2. Resultados fitotécnicos de campo

Tanto para o município de Virmond quanto para o município de Guarapuava foi verificado no presente trabalho que não houve diferença pelo teste Scott-Knott ($P < 0,05$) entre os tratamentos utilizados para as variáveis: número de perfilhos aos 50 DAE, aos 90 DAE, massa seca de plantas, número de espiguetas por espiga, altura de plantas e comprimento de espigas (Tabela 2). Entretanto, o comprimento da espiga foi classificado como sendo espigas semi-curtas, na qual a média ficou ≥ 75 mm a < 85 mm, de acordo com Scheeren (1984). Não foi observado acamamento nas plantas de trigo em nenhuma das parcelas.

Com o propósito de testar doses de Si, Lima Filho e Tsai (2007) testaram cinco doses na forma de metassilicato de sódio ($\text{NaSiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$): 0, 10, 25, 50 e 100 mg litro^{-1} em plantas de trigo e aveia branca e verificaram efeito significativo do Si na produção de matéria seca vegetativa da parte aérea, das raízes e da altura das plantas de trigo, principalmente da cultivar BR 40 em que, conforme aumentou-se a dose de Si na solução nutritiva, houve incremento dos valores das variáveis acima citadas. O fornecimento de silício na cultivar de trigo IPR 85 também propiciou aumento significativo no comprimento médio das espigas, abordam. Quanto às respostas da aveia branca, os mesmos relatam que a adição de silício ao substrato não influenciou a altura nem o crescimento vegetativo da parte aérea ou das raízes.

O aumento na acumulação da matéria seca pode ser devido a inúmeros fatores: aumento na fotossíntese, diminuição na respiração, aumento na translocação de fotoassimilados para o local de incorporação, maior potencial de turgor, menor incidência de doenças e pragas, menor taxa de senescência, melhor balanço hormonal e menor ocorrência de temperaturas relacionadas ao decréscimo no potencial de produção (JARRELL; BEVERLY, 1981).

Para à variável número de grãos por espiguetas, houve diferença entre os tratamentos apenas para Virmond, em que o uso de *B. subtilis* e a associação de SiO_2 com *B. subtilis*

proporcionaram valores de 3,26 e 3,24 grãos por espiguetas, respectivamente, não diferindo-se da testemunha (3,23). O melhor resultado foi obtido para o tratamento com fungicidas químicos, tendo este uma média de 3,35 grãos por espiguetas. O tratamento à base de SiO₂ foi inferior em relação à testemunha, com média de 3,13 grãos por espiguetas. Não houve diferença para esta variável em Guarapuava (Tabela 2).

Os resultados obtidos por Lima Filho e Tsai (2007) são contrários aos do presente trabalho, já que os mesmos verificaram que o Si teve um efeito marcante no desenvolvimento reprodutivo do trigo e da aveia branca, avaliado por meio da produção de grãos por planta (número e massa) e massa individual das sementes.

Em relação à altura de plantas para o município de Virmond, os tratamentos alternativos com SiO₂, *B. subtilis* e sua associação no momento da aplicação não tiveram diferença pelo teste Scott-Knott ($P < 0,05$) em relação ao tratamento com fungicidas convencionais (Tabela 2). Porém, todos foram superiores à altura obtida na testemunha, a qual diferiu-se dos demais tratamentos. Para a variável analisada em questão, não houve diferença entre os tratamentos no município de Guarapuava.

Para a massa de mil grãos, houve diferença entre os tratamentos tanto para Virmond quanto para Guarapuava. Em Virmond verificou-se que os tratamentos com a utilização de SiO₂, *B. subtilis*, SiO₂ + *B. subtilis* foram inferiores ao tratamento com fungicidas químicos, no entanto, superiores aos resultados observados para a testemunha, com médias de 35,5, 35,1, 34,3, 37 e 32,22 gramas, respectivamente, (Tabela 2). Para Guarapuava os tratamentos com SiO₂, *B. subtilis*, SiO₂ + *B. subtilis* e trifloxistrobina + proclorazolo/trifloxistrobina + tebuconazol, não tiveram diferença significativa entre si pelo teste Scott-Knott ($P < 0,05$), porém, estes tiveram diferença em relação à testemunha, proporcionando incremento de 11,2%, 10,5%, 8,5% e 13,4% na variável em questão em relação à testemunha, respectivamente, (Tabela 2).

Resultado de incremento do número de grãos por planta e do peso individual destes em relação à testemunha foi verificado por Lima Filho e Tsai (2007). Estes verificaram aumento máximo para o número de grãos de 21%, 38% e 16% para as cultivares BR 18, BR 40 e IPR 85, respectivamente. Quanto ao peso individual médio das sementes, obtiveram incremento de até 25%, 44% e 35% para as cultivares BR 18, BR 40 e IPR 85, respectivamente. Informações estas que ajudam a confirmar que o Si incrementa nos caracteres agrônômicos diretamente relacionados ao aumento da produtividade da cultura, portanto, sendo um elemento importante a se utilizar nos programas de nutrição da cultura do trigo.

Tabela 2. Resultados fitotécnicos da cultura do trigo obtidos à campo para a localidade de Virmond e Guarapuava.

Variáveis	Virmond					Média Geral	CV(%)
	T1	T2	T3	T4	T5		
-						-	-
NP50	2,75 a	2,38 a	2,45 a	2,46 a	2,4 a	2,49	7,83
NP90	2,85 a	3,21 a	3,15 a	3,09 a	3,18 a	3,1	6,78
MS	22,6 a	22,96 a	21,37 a	21,84 a	23,36 a	22,43	9,12
NEE	14,82 a	14,55 a	14,82 a	14,82 a	14,65 a	14,73	1,88
NGE	3,13 a	3,26 b	3,24 b	3,35 c	3,23 b	3,24	1,95
H	69,12 b	68,32 b	67,8 b	67,55 b	65,72 a	67,7	1,48
CE	7,77 a	7,6 a	7,85 a	7,8 a	7,7 a	7,74	2,82
PMS	35,5 b	35,1 b	34,3 b	37 c	32,22 a	34,82	2,01
P	3347,58 a	3406, 2 a	3306, 57 a	3743,69 b	3200,94 a	3401	4,28
PH	71,12 a	71,25 a	70,65 a	75,39 b	68,82 a	71,45	1,86
Guarapuava							
NP50	3,17 a	2,98 a	3,15 a	2,92 a	3,21 a	3,09	7,95
NP90	3,75 a	3,78 a	3,84 a	3,91 a	4,14 a	3,88	7,79
MS	30,28 a	31,56 a	30,31 a	30,63 a	31,58 a	30,87	6,75
NEE	15 a	14,9 a	15,15 a	15 a	15 a	15,01	1,32
NGE	3,25 a	3,25 a	3,22 a	3,27 a	3,25 a	3,25	1,46
H	69,72 a	70,17 a	70,5 a	69,62 a	70,05 a	70,01	0,87
CE	8,12 a	7,97 a	8,3 a	7,97 a	8,05 a	8,08	2,24
PMS	38,85 b	38,6 b	37,9 b	39,6 b	34,92 a	37,97	2,79
P	4168,57 a	4111,67 a	3959,55 a	4644,8 a	3837,65 a	4144,45	9,68
PH	73,56 b	72,96 b	72,24 b	77,4 c	69,52 a	73,14	2,53

Médias seguidas pela mesma letra na linha, não diferem-se entre si pelo teste de Scott – Knott ($P < 0,05$). Sendo T1 – SiO₂; T2 – *Bacillus subtilis*; T3 - SiO₂ + *B. subtilis*; T4 – trifloxistrobina + protioconazol/trifloxistrobina + tebuconazol; T5 – Testemunha. As variáveis analisadas foram: 1) Número de perfilhos aos 50 dias após a emergência; 2) Número de perfilhos aos 90 dias após a emergência; 3) Massa seca (g); 4) Número de espiguetas por espiga; 5) Número de grãos por espiguetas; 6) Altura de plantas na Antese (cm); 7) Comprimento de espiga (cm); 8) Massa de mil grãos (g); 9) Produtividade (kg ha⁻¹); 10) Peso Hectolitro (PH).

Em estudos objetivando avaliar as alterações fotossintéticas de plantas de trigo mediante aplicação de Si em condições de estresse hídrico, foi verificado que o elemento

proporcionou aumento na taxa de CO₂ assimilável pelas folhas mediante o estresse e aumento da concentração das enzimas relacionadas ao estresse hídrico, diminuindo o impacto do estresse pela planta (GONG et al., 2008).

Com relação à produtividade estimada de trigo, foi verificada diferença entre os tratamentos apenas para Virmond. Os tratamentos SiO₂, *B. subtilis*, SiO₂ + *B. subtilis* e testemunha não diferiram-se entre si pelo teste Scott-Knott (P<0,05). Kuhn (2007) estudando o indutor *B. cereus*, verificou que este alterou muito pouco o metabolismo do feijoeiro, não interferindo na produtividade, porém melhorou a qualidade da produção.

A melhor produtividade foi obtida com a utilização de fungicidas químicos convencionais, os quais proporcionaram incremento de produtividade de 14,5% em relação à testemunha (Tabela 2) para Virmond. Enquanto que, para Guarapuava não houve diferença para produtividade entre os tratamentos.

Resultados semelhantes foram obtidos por Freitas et al. (2011), que avaliaram o efeito de doses (130, 260, 390 e 520 g ha⁻¹) e épocas (2, 5 e 8 folhas expandidas) de aplicação de silício, via foliar, nas características agrônômicas e na produtividade do milho, cultivado no ano agrícola 2007/2008. As variáveis analisadas foram altura das plantas, inserção da primeira espiga, diâmetro de colmo, índice de clorofila foliar, teor foliar de silício, número de grãos por espiga, massa de 1000 grãos e produtividade de grãos. Verificaram que o Si aplicado via foliar influenciou somente no teor foliar deste elemento, não interferindo de forma significativa nas outras variáveis analisadas.

Para o peso hectolitro (PH), foi observado diferença entre os tratamentos para ambas as localidades. Para Virmond os tratamentos alternativos utilizados a base de SiO₂, *B. subtilis* e sua associação não apresentaram diferença pelo teste de Scott-Knott (P<0,05) em relação à testemunha, em que as médias foram de 71,12; 71,25; 70,65; 68,82, respectivamente (Tabela 2). Ciciliano et al. (2014) avaliando diferentes fontes de Si adicionados ao substrato, cinzas de casca de arroz e Caulin, também não verificaram diferença significativa entre as fontes e a testemunha para a variável peso hectolitro e peso de mil sementes para a cultura do trigo.

O tratamento com fungicidas convencionais diferiu-se dos demais tratamentos, resultando em PH superior (75,39). Em experimentos realizados por Pereira Junior et al. (2010), foi verificado que doses de Si na cultura da soja (*Glycine max* L.) não tiveram influência significativa sobre as características agrônômicas e também sobre a produtividade final da cultura.

Para Guarapuava foi observado que os tratamentos SiO₂, *B. subtilis* e SiO₂ + *B. subtilis* foram superiores à testemunha, com média de PH de 73,56; 72,96; 72,24; 69,52,

respectivamente. O tratamento com os fungicidas químicos proporcionaram PH superior aos demais tratamentos para ambas as localidades, sendo de 75,39 e 77,4 para Virmond e Guarapuava, respectivamente (Tabela 2).

Foi verificado em estudos que o número de sementes por planta (NSP) de trigo apresentou comportamento quadrático, assim como o rendimento de sementes por planta (RSP) e o peso hectolítrico (PH) testando-se diferentes fontes de Si (cinzas de casca de arroz e Caulin). Sendo observado ainda que, o aumento das doses de silício proporcionou aumento do NSP até a dose de 1800 kg ha⁻¹ e decréscimo até a dose de 2500 kg ha⁻¹, sendo que esse efeito pode ter ocorrido devido à fitotoxicidade causada pelas fontes (CICILIANO et al., 2014). Os mesmos verificaram que os dados obtidos referentes ao peso de mil sementes apresentaram comportamento linear decrescente com o aumento das doses, com redução de 2% na massa de sementes com o aumento das doses de ambas as fontes estudadas.

Para a AACPDI da mancha-amarela para a localidade de Virmond, os tratamentos à base de SiO₂, *B. subtilis* e associação destes não diferiram-se entre si, no entanto, foram superiores que a testemunha, proporcionando valores inferiores à esta em 34,1%, 27,4% e 24,5%, respectivamente, diferindo-se da mesma pelo teste de Scoot-Knott (P<0,05). O resultado mais significativo foi obtido com a utilização dos fungicidas a base de trifloxistrobina + protioconazol/trifloxistrobina + tebuconazol, o qual reduziu em 60,2% a AACPDI da mancha-amarela em relação à testemunha (Figura 7A).

Quanto a AACPDS da mancha-amarela em Virmond, observou-se que os tratamentos com SiO₂, *B. subtilis*, SiO₂ + *B. subtilis* e trifloxistrobina + protioconazol/trifloxistrobina + tebuconazol, tiveram valores inferiores ao da testemunha em 55,1%, 39,4%, 43,9% e 80%, respectivamente, diferindo-se estatisticamente da mesma (Figura 7B). A utilização de SiO₂ proporcionou a AACPDS da mancha-amarela inferior aos tratamentos com *B. subtilis* e SiO₂ + *B. subtilis* em 15,7% e 11,2%, respectivamente, tendo diferença significativa pelo teste Scott-Knott (P<0,05). Entretanto, o tratamento que proporcionou a AACPDS 80% inferior ao da testemunha foi à utilização de trifloxistrobina + protioconazol/trifloxistrobina + tebuconazol (Figura 7B).

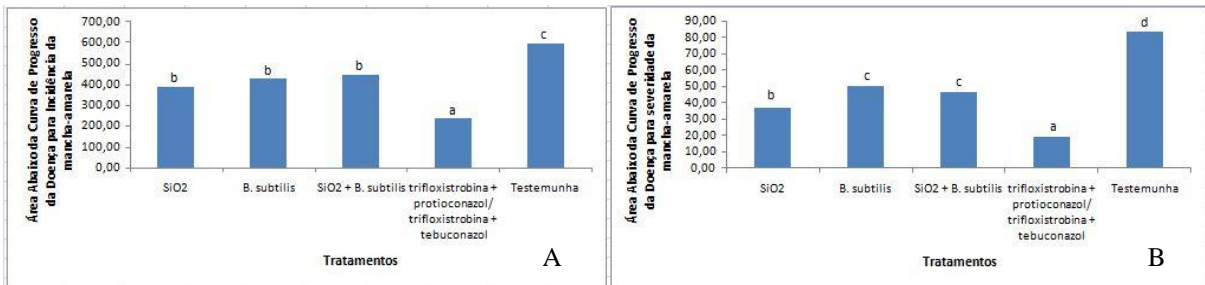


Figura 7. AACPD da incidência (A) e severidade (B) da mancha-amarela da cultura do trigo para Virmond-PR. Letras iguais não diferiram-se entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

Para a AACPDI de giberela sobre as espigas de trigo não houve diferença entre os tratamentos pelo teste Scott-Knott ($P < 0,05$) (Figura 8A). A AACPDI nos tratamentos com o uso de SiO₂, *B. subtilis*, SiO₂ + *B. subtilis*, trifloxistrobina + protioconazol/trifloxistrobina + tebuconazol e testemunha foram de 112; 136,5; 140; 98 e 161, respectivamente.

Quanto a AACPDS de giberela nas espigas de trigo, houve redução significativa para os tratamentos à base SiO₂, *B. subtilis*, SiO₂ + *B. subtilis*, os quais não diferiram-se do tratamento químico (Figura 8B), entretanto, proporcionaram redução da severidade em relação à testemunha de 29,1%, 36%, 40,1% e 45,1%, respectivamente.

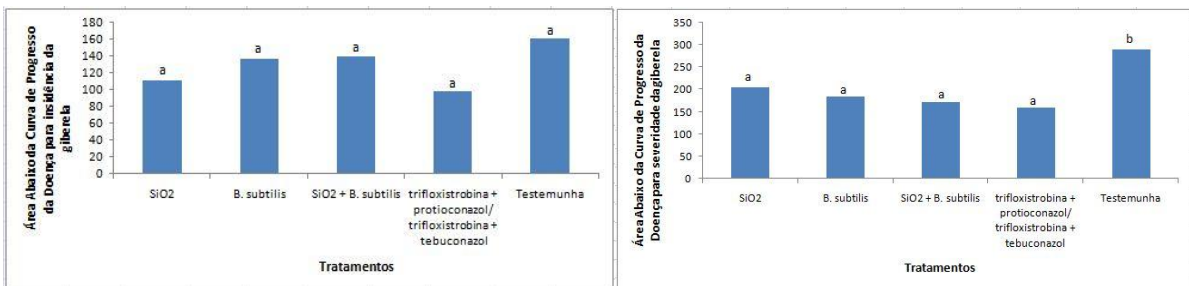


Figura 8. AACPD da incidência (A) e severidade (B) da giberela da cultura do trigo para Virmond-PR. Letras iguais não diferem-se entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

No município de Guarapuava, para a AACPDI da mancha-amarela, os tratamentos com SiO₂, *B. subtilis* e SiO₂ + *B. subtilis*, não diferiram-se entre si e da testemunha pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). O tratamento que resultou em menor incidência (61% inferior em relação à testemunha) foi com a utilização de produtos químicos (Figura 9A), a base de trifloxistrobina + protioconazol/trifloxistrobina + tebuconazol.

Para a AACPDS da mancha-amarela, os tratamentos que tiveram resultados interessantes foram com *B. subtilis* e SiO₂, os quais proporcionaram redução desta variável em relação à testemunha de 73,1% e 74,81%, respectivamente (Figura 9B). Observou-se que

o tratamento químico à base de trifloxistrobina + protioconazol/trifloxistrobina + tebuconazol proporcionou resultado inferior de severidade da doença sobre as plantas de trigo em relação à testemunha de 85,7% (Figura 9B). A maior severidade foi observada na testemunha, a qual diferiu dos demais tratamentos pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

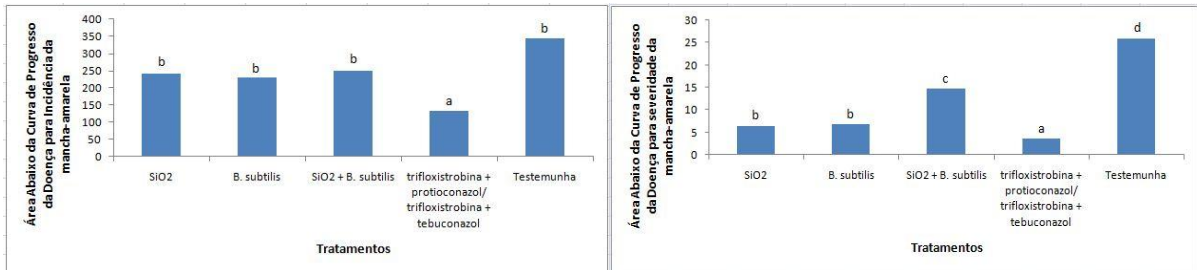


Figura 9. AACPD da incidência (A) e severidade (B) da mancha-amarela da cultura do trigo para Guarapuava-PR. Letras iguais não diferem-se entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

Verificou-se que tanto para a AACPDI quanto para a AACPDS de giberela nas espigas de trigo na localidade de Guarapuava-PR, não houve diferença em nenhum dos tratamentos, com exceção da AACPDS da giberela para a testemunha, sendo esta de 168,86 (Figura 10B), superior aos demais tratamentos em 26,6%, 36,5%, 44,9% e 32,7% para SiO₂, *B. subtilis*, SiO₂ + *B. subtilis* e trifloxistrobina + protioconazol/trifloxistrobina + tebuconazol, respectivamente.

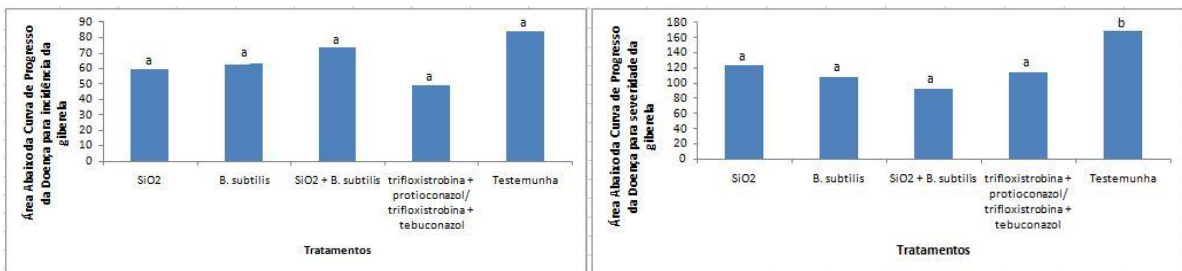


Figura 10. AACPD da incidência (A) e severidade (B) da giberela da cultura do trigo para Guarapuava-PR. Letras iguais não diferem-se entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

No presente estudo evidenciou-se o efeito do Si na redução do desenvolvimento das doenças do trigo. Em que a forma pela qual o elemento afeta o desenvolvimento das doenças em plantas é resultado principalmente, da ação deste no tecido do hospedeiro proporcionando impedimento físico, pois, quando absorvido pelos vasos do xilema pode proporcionar maior acúmulo de compostos fenólicos e lignina no local da injúria dificultando por sua vez, a atividade de fitopatógenos nos tecidos vegetais (CHÉRIF et al., 1992; BLUM, 1968).

De acordo com Santos e May de Mio (2007), o efeito preventivo de Si consiste na proteção da planta pela aplicação do produto antes da exposição a um patógeno e o efeito curativo se dará com a reparação/diminuição dos efeitos causados pelo patógeno à planta. Assim, o Si aumenta a rigidez das células das folhas das plantas, resultando em maior dificuldade de penetração do patógeno e conseqüentemente, menor capacidade de causar infecção e lesões sobre o limbo foliar (CAI et al., 2009).

Em ensaio conduzido em casa de vegetação com o objetivo de avaliar o efeito do Si no progresso da mancha-marrom (*B. sorokiniana*), na folha bandeira de duas cultivares de trigo, verificou-se que a aplicação de Si apresenta efeito positivo no sentido de aumentar a resistência da folha bandeira da cultura à infecção ocasionada pelo patógeno, além de garantir alta produção de grãos, uma vez que a folha bandeira apresenta importante função fisiológica ao longo do ciclo da planta (DOMICIANO et al., 2010).

Com a aplicação foliar de silicato de potássio, nas doses de 35 g L⁻¹ a pH 10,5 e 35 g L⁻¹ a pH 5,5 foi observado redução significativa na severidade da ferrugem do cafeeiro (*Hamileia vastatrix*) (PEREIRA et al., 2009). Em experimento realizado no Estado do Tocantins, avaliando-se a eficiência da aplicação de diferentes fontes de Si (silicato de cálcio, silicato de cálcio e magnésio e silicato de potássio), aplicando-se em solos deficientes desse elemento na cultura do arroz, verificou-se redução da severidade da mancha-parda e da incidência da brusone das panículas, no entanto, respostas diferentes foram observadas de acordo com a fonte utilizada. O silicato de cálcio foi mais eficiente na redução efetiva da mancha-parda e brusone, não prejudicando a produtividade final. Porém, o silicato de magnésio e o de potássio não mostraram-se eficientes no controle das doenças, afetando significativamente a produtividade final, supondo-se que essa diferença de eficiência entre as fontes de Si esteja relacionada à quantidade do elemento presente no material (SANTOS et al., 2011).

Wordell Filho, Duarte e Rodrigues (2013) aplicando silicato de potássio na dose de 40g L⁻¹ sobre duas cultivares de trigo (Safira e Quartzito) em dois estádios de desenvolvimento, sendo estes, final da alongação e espigamento, observaram que o tratamento com silicato de potássio não foi eficiente na redução da AACPD da mancha-amarela e da AACPD da ferrugem da folha, nas duas cultivares utilizadas.

O controle das doenças de trigo proporcionado por *B. subtilis*, foi semelhante ao tratamento com Si. O *Bacillus* spp. são potencialmente capazes de sintetizar uma ampla gama de metabolitos com atividade antifúngica quando aplicado como agente de controle biológico de várias doenças de plantas. O efeito do *B. subtilis* provavelmente se deve a sua ação direta

sobre esporos ou membranas celulares de estruturas do fungo, através da síntese de substâncias antimicrobianas e/ou pela competição por espaço e nutrientes (LEELASUPHAKUL; HEMMANEE; CHUENCHITT, 2008), reduzindo o potencial de infecção e conseqüentemente a severidade da doença.

A espécie *B. subtilis* têm atividade antifúngica, uma vez que podem sintetizar substâncias de forma não ribossômica através do processo multi-enzimas. Há estudos que comprovam a ação de compostos pertencentes à lipopeptídeos cíclicos como iturina, surfactina e fengicinas presentes em *B. subtilis* no controle de *F. graminearum*. Observa-se também que, possivelmente as fengicinas afetam a membrana celular do patógeno, alterando sua permeabilidade, resultando na liberação do conteúdo celular (STEIN, 2005). Além disso, *Bacillus* spp. pode produzir um amplo espectro de compostos antimicrobianos não peptídicos tais como policétidos, aminosugar e fosfolípido (STEIN 2005; ZHAO et al. 2014).

Observou-se que o *B. megaterium* (BM1) e *B. subtilis* (BS43, BSM0 e BSM2) reduziram significativamente o crescimento de fungos e a germinação de esporos de *F. graminearum*. Em condições de campo, os tratamentos com antagonista BM1 foram os mais efetivos, reduzindo a incidência e severidade da fusariose em 93 e 54%, respectivamente, e a produção de DON em 89,3% (PAN et al., 2015).

Em trabalho realizado por Santos et al. (2006) o *B. megaterium* pv. *cerealis* (RAB7) proporcionou redução da incidência (89,1%), do índice de doença (92,7%), elevou o período de incubação da mancha-aquosa do meloeiro (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*) de 9,8 para 11,9 dias e reduziu a AACPD de 3,36 para 0,17.

No presente trabalho os fungicidas tiveram uma considerável expressividade no controle de doenças e análises fitotécnicas, com destaque para as estrobilurinas, pois estas, podem promover maior longevidade foliar e melhor utilização do nitrogênio, proporcionando maior produtividade e qualidade de grãos, já que as doenças foliares comprometem a remobilização do nitrogênio das folhas para os grãos. (NAVARINI; BALARDIN, 2012).

5.3. Atividade enzimática

Para a atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) no município de Virmond-PR para a primeira avaliação, realizada com amostras de folhas coletadas 24 horas antes da segunda aplicação dos tratamentos, no estágio de alongação do trigo, observa-se que a sua atividade estava mais alta para os tratamentos com SiO₂ e *B. subtilis* (Figura 11A), os quais

diferiram-se dos demais tratamentos pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). Os tratamentos com $\text{SiO}_2 + B. subtilis$, trifloxistrobina + proclonazol/trifloxistrobina + tebuconazol e testemunha não diferiram-se entre si, proporcionando resultado de atividade da FAL inferior aos demais tratamentos.

Na segunda avaliação, realizada com amostras de folhas coletadas após a quarta aplicação dos tratamentos, no estágio de enchimento de grãos do trigo, não houve diferença estatística entre os tratamentos. Observa-se maior média de atividade da FAL ($2,9 \text{ UABS min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$) para o tratamento com SiO_2 , enquanto que a menor média ($0,83 \text{ UABS min}^{-1} \text{ mg proteína}^{-1}$) da atividade da enzima foi observada para o tratamento da associação de SiO_2 com *B. subtilis* (Figura 11B).

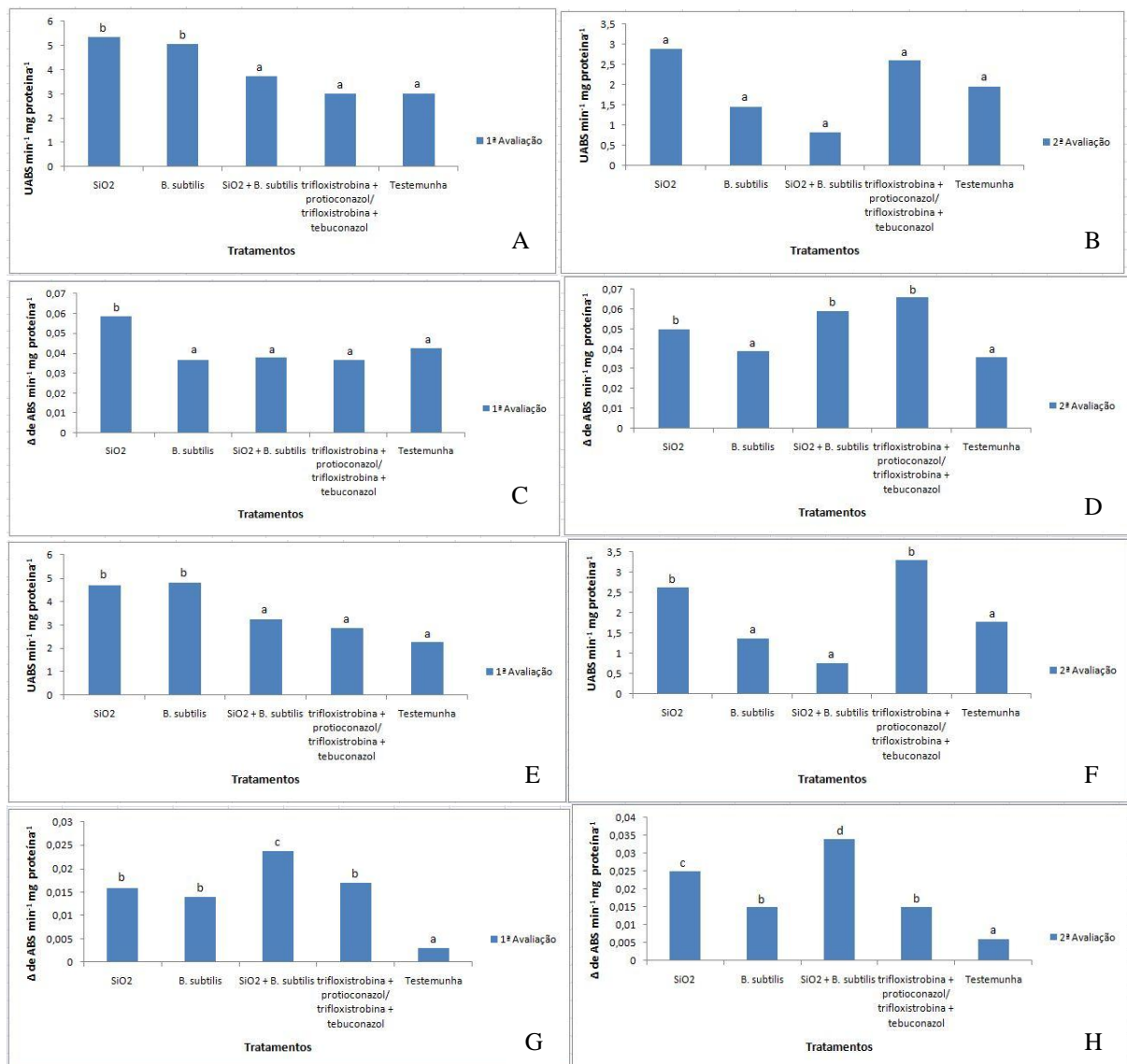


Figura 11. Atividade da Fenilalanina amônia-liase (A e B) e Polifenoloxidase (C e D) para Virmond-PR e, atividade da Fenilalanina amônia-liase (E e F) e Polifenoloxidase (G e H) para Guarapuava-PR. Resultados obtidos em diferentes épocas de avaliação na cultura do trigo. Letras iguais não diferem-se entre si pelo teste de

Scott-Knott ($P < 0,05$).

Com a utilização de SiO_2 houve aumento da atividade da polifenoloxidase (PFO) 14 dias após a primeira aplicação dos tratamentos (24 horas antes da segunda aplicação), no estágio de alongação. Para o tratamento com SiO_2 a atividade foi de $0,059 \Delta$ de $\text{ABS min}^{-1} \text{mg prote\u00edna}^{-1}$ (Figura 11C), diferindo-se dos demais, os quais não tiveram diferença estatística entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). Assim, com o aumento da atividade da PFO, têm-se a contribuição desta para a defesa da planta pela produção de formas oxidativas de quinonas, o que pode inativar as enzimas pectolíticas produzidas pelos patógenos (HINDUMATHY, 2012).

Na segunda avaliação, realizada com as amostras obtidas após a quarta aplicação dos tratamentos, no estágio de enchimento de grãos da cultura do trigo, observa-se uma maior atividade da PFO para os tratamentos com trifloxistrobina + protioconazol/trifloxistrobina + tebuconazol, $\text{SiO}_2 + B. subtilis$ e SiO_2 , sendo de $0,066$; $0,059$ e $0,05 \Delta$ de $\text{ABS min}^{-1} \text{mg prote\u00edna}^{-1}$ (Figura 11D), respectivamente, demonstrando portanto, um possível efeito de indução de resistência que a utilização de SiO_2 proporciona através do aumento da atividade de enzimas relacionadas à defesa das plantas às doenças.

Para Guarapuava, na primeira avaliação da atividade da enzima FAL, 24 horas antes da segunda aplicação dos tratamentos, observa-se que a atividade da enzima estava mais alta com a utilização de SiO_2 e *B. subtilis*, diferindo-se dos demais pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$), sendo a atividade de $4,74$ e $4,85 \text{ UABS min.}^{-1} \text{mg prote\u00edna}^{-1}$ (Figura 11E). Para os tratamentos com $\text{SiO}_2 + B. subtilis$, trifloxistrobina + protioconazol/trifloxistrobina + tebuconazol e SiO_2 a atividade da FAL estava em $3,28$; $2,87$ e $2,27$, respectivamente.

Na segunda avaliação da atividade da FAL, obtida a partir de amostras coletadas após a quarta aplicação dos tratamentos, no estágio de enchimento de grãos do trigo, verificou-se maior atividade nos tratamentos com SiO_2 e com trifloxistrobina + protioconazol/trifloxistrobina + tebuconazol, diferindo-se dos demais pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$), os quais tiveram atividade de $2,62$ e $3,3 \text{ UABS min.}^{-1} \text{mg prote\u00edna}^{-1}$, respectivamente (Figura 11F). Os tratamentos com *B. subtilis*, $\text{SiO}_2 + B. subtilis$ e testemunha não diferem-se entre si e expressaram atividade da FAL de $1,38$; $0,75$ e $1,78 \text{ UABS min.}^{-1} \text{mg prote\u00edna}^{-1}$, respectivamente.

Para a primeira avaliação da PFO para a localidade de Guarapuava, obteve-se a maior atividade para o tratamento com a associação de $\text{SiO}_2 + B. subtilis$, sendo esta de $0,024 \Delta$ de $\text{ABS min}^{-1} \text{mg prote\u00edna}^{-1}$, a qual diferiu dos demais tratamentos. Não houve diferença

estatística entre os tratamentos com a utilização de SiO₂, *B. subtilis* e trifloxistrobina + protioconazol/trifloxistrobina + tebuconazol, sendo a atividade da enzima para estes tratamentos de 0,016; 0,014 e 0,017 Δ de ABS min⁻¹ mg proteína⁻¹, respectivamente. A testemunha apresentou menor atividade da enzima em relação aos outros tratamentos (Figura 11G), tendo atividade de 0,003 Δ de ABS min⁻¹ mg proteína⁻¹.

Na segunda avaliação da PFO para a localidade de Guarapuava, sendo esta realizada a partir de amostras de folhas coletadas após a quarta aplicação dos tratamentos, no estágio de enchimento de grãos do trigo, verificou-se aumento expressivo da atividade da PFO para o tratamento SiO₂ + *B. subtilis*, em que a atividade foi de 0,034 Δ de ABS min⁻¹ mg proteína⁻¹ (Figura 11H). O uso do SiO₂ também teve aumento da atividade da enzima, sendo este inferior ao observado para a associação de SiO₂ + *B. subtilis* e superior aos demais tratamentos, no qual a atividade foi de 0,025 Δ de ABS min⁻¹ mg proteína⁻¹.

Na presente pesquisa observou-se que as plantas tratadas com SiO₂ apresentaram menor AACPDs da mancha-amarela, podendo ter sido devido ao aumento da atividade das enzimas FAL e PFO. Resultados similares foram obtidos por Mazaro et al. (2009), os quais tiveram como propósito avaliar o efeito do tratamento de sementes com o indutor de resistência quitosana sobre o tombamento de plântulas de beterraba e tomate. Estes verificaram redução da incidência de tombamento de plântulas para a cultura da beterraba e tomate, sendo as doses mais eficientes de 1,1 e 2,5% respectivamente, proporcionando também aumento da atividade da enzima FAL, tendo relacionado a atividade da enzima com a ocorrência da doença.

Evidenciou-se neste trabalho também que tanto para Virmond quanto para Guarapuava os controles alternativos à base de SiO₂, *B. subtilis* e sua associação proporcionaram efeito sobre a AACPDs da giberela, assim como o controle à base de produtos químicos convencionais, os quais não apresentaram diferença estatística entre si. No entanto, diferiram-se da testemunha. Estes resultados demonstram que no caso do SiO₂, o mesmo pode ter atuado sobre os mecanismos de resistência da planta, pelo aumento da atividade das enzimas, em que a resistência induzida sistêmica pode ter interferido no processo infeccioso e no desenvolvimento do patógeno nas espigas de trigo.

Foi observado que tanto para a primeira quanto para a segunda avaliação da atividade das enzimas FAL e PFO no município de Virmond e Guarapuava, principalmente com o a utilização de SiO₂, houve efeito sobre os mecanismos de indução de resistência devido a maior atividade das enzimas em relação à testemunha. Observando-se também efeito do elemento sobre a AACPD da incidência e severidade da mancha-amarela e da giberela. Foi

observado que com a atividade das enzimas na testemunha inferior, houve maior incidência e severidade da mancha-amarela e giberela na cultura do trigo.

Estudos realizados por Liang et al. (2005) demonstraram que a aplicação foliar de Si, sob a forma de metasilicato de potássio (K_2SiO_3), ao contrário do seu fornecimento via raiz, não contribuiu para aumentar a atividade das enzimas Peroxidase (POX), Polifenoloxidase (PFO), Fenilalanina amônia-liase (FAL) e Quitinase (QUI) em plantas de pepino com sintomas de oídio. Datnoff et al. (2007) observaram que os mecanismos de defesa são potencializados desde que o Si seja passiva e/ou ativamente absorvido pelas raízes da planta para atingir elevados teores na folha.

Resultados em que o uso do agente biológico *B. cereus* interferiu na atividade de enzimas de defesa foi observado em plantas de feijoeiro. O agente ocasionou aumento na atividade da peroxidase de forma atenuada e tendeu a aumentar a atividade de proteases, reduzindo o teor de proteínas nas folhas, porém sem prejudicar a produtividade. A atividade da POX não foi alterada em função do indutor utilizado, no caso *B. cereus*, bem como em função do número de aplicações ao longo do ciclo da cultura (KUHN, 2007).

Com a aplicação foliar de silicato de potássio, nas doses de 35 g L^{-1} a pH 10,5 e 35 g L^{-1} a pH 5,5 foi observado redução significativa na severidade da ferrugem do cafeeiro (*Hamileia vastatrix*), porém, não foi observado potencialização da atividade de seis enzimas de defesa avaliadas, sendo estas: quitinases, β -1,3-glucanases, peroxidases, polifenoloxidases, lipoxigenases e fenilalanina amônia-liases (PEREIRA et al., 2009).

O *B. subtilis* e trifloxistrobina + protioconazol/trifloxistrobina + tebuconazol não diferiram-se entre si na avaliação da PFO em Guarapuava na segunda avaliação, no entanto, proporcionaram resultados superiores ao da testemunha, diferindo-se da mesma (Figura 11H). Kuhn (2007) estudando o indutor *B. cereus* em plantas de feijoeiro, verificou que este ocasionou aumento na atividade de peroxidase de forma atenuada e aumentou a atividade de proteases, reduzindo o teor de proteína nos grãos e aumentando o teor de amido nestes.

Na presente pesquisa observou-se que as plantas tratadas com SiO_2 apresentaram menor AACPDS da mancha-amarela e giberela, o que provavelmente se deu pelo aumento da atividade das enzimas FAL e PFO, provavelmente em função da ativação da resistência sistêmica induzida, a qual pode ter interferido no processo infeccioso e no desenvolvimento dos patógenos nas folhas e espigas de trigo, porém sem interferir significativamente nas características agronômicas da cultura.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que o SiO_2 e *B. subtilis* contribuem positivamente no manejo integrado de doenças da cultura do trigo, interferindo em caracteres estruturais (enrijecimento das células da epiderme) e agronômicos da planta (altura de plantas, peso de mil sementes e peso hectolitro) ou ainda, tendo ação sobre o patógeno, como foi observado nos testes *in vitro*.

O tratamento com produtos químicos convencionais foram mais eficiente no controle das doenças à campo, reduzindo a incidência e a severidade das doenças estudadas, proporcionando incremento de produtividade.

Os tratamentos com produtos alternativos, isolados ou em associação, demonstraram ter algum efeito sobre a supressão de doenças na cultura do trigo, seja de forma direta ou indireta, através da formação de barreira física e biofilmes.

Quanto à indução de resistência nas plantas, todos os tratamentos apresentaram algum efeito sobre a indução, tanto a base de produtos químicos convencionais quanto a base de produtos alternativos, que no caso foi o SiO_2 e *B. subtilis*, no entanto, são necessários estudos mais aprofundados para esclarecimento de tais resultados.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGNELLI, A. R. **Potencial de agentes indutores de resistência para o controle da bactéria *Candidatus Liberibacter asiaticus* em plantas cítricas**. FUNDECITRUS, 2011, 56 p. (Dissertação), Pós-Graduação em Fitosanidade, Araraquara, 2011.
- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5^a ed. New York: Academic, 922 p. 2005.
- ARRUDA, R.S.; MESQUINI, R.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; NASCIMENTO, J.F. Efeito de extratos de cogumelos na indução de fitoalexinas e no controle de oídio da soja em casa de vegetação. **Biosci. J.**, Uberlândia, v.28, n.2, p.164-172, 2012.
- AZEVEDO, L. A. S. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. São Paulo. 1997.
- BAILEY, J.A.; BURDEN, R.S. Biochemical changes and phytoalexin accumulation in *Phaseolus vulgaris* following cellular browning caused by tobacco necrosis virus. **Physiological Plant Pathology**, v. 3, n. 1, p. 171-177, 1983.
- BAIS, H.P.; FALL, R.; VIVANCO, J.M. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of *Arabidopsis* roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. **Plant Physiology**, v. 134, p. 307–319, 2004
- BARROS, B.C.; CASTRO, J.L.; PATRÍCIO, F.R.A. Resposta de cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.) ao controle químico das principais doenças fúngicas da cultura. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 3, p. 239-246, 2006.
- BÉLANGER, R.R.; BOWEN, P.A.; EHRET, D.L.; MENZIES, J.G. Soluble silicon: Its role in crop and disease management of greenhouse crops. **Plant Disease**, v.70, p. 329-335, 1995.
- BÉLANGER, R.R.; BENHAMOU, N.; MENZIES, J.G. Cytological evidence of an active role of silicon in wheat resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*). **Phytopathology**, n. 93, p. 402-412, 2003.
- BOLLER, W.B.; FORCELINI, C.A.; HOFFMANN, L.L; CASA, R.T. **Tecnologia de aplicação de fungicidas – parte II**. Revisão anual de patologia de plantas, v. 16, p. 85-132, 2008.
- BONALDO, S.M.; PASCHOLATI, S.F.; ROMEIRO, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**, Piracicaba: FEALQ, p.11-28, 2005.
- BONALDO, S.M. **Efeito de *Saccharomyces cerevisiae* na síntese de fitoalexinas em sorgo, na germinação e formação de apressórios por fungos fitopatogênicos e na proteção de pepino a *Colletotrichum lagenarium* e sorgo a *Colletotrichum sublineolum***. 150p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2005.
- BLUM, A. Anatomical phenomena in seedlings of sorghum varieties resistant to the sorghum shoot fly *Atherigonavarva soccata*. **Crop Science**, v.8, p.388-391, 1968.
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram

quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

BRANCAGLIONE, P.; SAMPAIO, A.C.; FISCHER, I.H.; ALMEIDA, A.M.; FUMIS, T.F. eficiência de argila silicatada no controle de *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae*, *in vitro* e em mudas de maracujazeiro-amarelo. **Revista Brasileira Fruticultura**, v.31, n.3, p. 718-724, 2009.

CAI, K.; GAO, D.; CHEN, J.; LUO, S. Mini- Review: Probing the mechanisms of silicon-mediated pathogen resistance. **Plant Signaling & Behavior**, v. 4, p. 1-3, 2009.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to Plant Disease Epidemiology**. John Wiley & Sons. New York, United States of America, 1990.

CASA, R.T.; REIS, E.M.; BLUM, M.M C.; BOGO, A.; SCHEER, O.; ZANATA, T. Danos causados pela infecção de *Gibberella zeae* em trigo. **Fitopatologia brasileira**. v. 29, n. 3, p. 289-293, 2004.

CAVALCANTI, L.S.; BRUNELLI, K.R.; STANGARLIN, J.R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L.S. et al. (Eds). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. FEALQ. Cap.4. p.81-124, 2005.

CARNEIRO, L.M.T.A.; BIAGI, J.D.; FREITAS, J.G.; CARNEIRO, M.C.; FELÍCIO, J.C. Diferentes épocas de colheita, secagem e armazenamento na qualidade de grãos de trigo comum e duro. **Bragantia**, v. 64, n. 1, p. 127-137, 2005.

CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R.A. **Ecofisiologia de cultivos anuais: trigo, milho, soja, arroz e mandioca**. São Paulo: Livraria Nobel S.A., 1999.

CENTRO INTERNACIONAL DE MEJORAMIENTO DE MAÍZ Y TRIGO - CIMMYT. **Translating the Vision of Seeds of Innovation into a Vibrant Work Plan. Business Plan 2006-2010**. El Batán, México, 2005. Disponível em: <<http://www.cimmyt.org/index.php>>. Acesso em: 03 out. 2011.

CICILIANO, T.L.; FONSECA, D.Â.R.; RUFINO, C.A.; OLIVEIRA, S.; BRUNES, A.P.; VILLELA, F.A. Adubação silicatada em trigo: qualidade e rendimento de sementes. **Revista de La Facultad de Agronomía**. v.113, p. 94-99, 2014.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, quarto levantamento, safra 2011/2012**. 2012. 38p. <http://www.conab.gov.br/olalacms/uploads/arquivos/120110105302boletimgraos4olevantamento.pdf>. Acesso em: 30/abr./2016.

CONAB. **Acomp. safra bras. grãos**, Safra 2014/15, v.2, n.9. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/15_06_11_09_00_38_boletim_graos_junho_2015.pdf> Acesso em 26/maio/2016.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Trigo no Brasil: série histórica**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&&Pagina_objcmsconteudos=3#A_objcms>

conteudos> Acesso 09/jun./2016.

CONAB. **Proposta de preços mínimos - SAFRA 2013/14: Produtos de Inverno, Regionais e Leite.** Disponível em :<
http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_11_22_15_42_37_pm_imverno_13_14.pdf> Acesso 07/ jun. /2016.

CURVÊLO, C.R.S. **Análises fisiológicas e bioquímicas da resistência do algodão à mancha de ramulária mediada pelo silício**, UFV, 2012, 115p. Tese (Doutorado). Pós-graduação em Fitotecnia, Viçosa, 2012.

CHAN, Y. K.; SAVARD, M.E.; REID, L.M.; CYR, T.; MCCORMICK, W.A.; SEGUIN, C. Identification of lipopeptide antibiotics of a *Bacillus subtilis* isolate and their control of *Fusarium graminearum* diseases in maize and wheat. **Bio Control.**, v. 54, p. 567-574, 2009.

CHAKRABORTY, U.; DUTTA, S.; CHAKRABORTY, B. Drought induced biochemical changes in Young tea leaves. **Indian Journal of Plant Physiology**, 6:103-106, 2001.

CHÉRIF, M.; MENZIES, J. G.; BENHAMOU, N.; BÉLANGER, R. R. Studies of silicon distribution in wounded and *Pythium ultimum* infected cucumber plants. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.41, p.371-385 1992.

CRAIGHEAD, J.E. Diseases associated with exposure to silica and nonfibrous silicate minerals. Silicosis and Silicate Disease Committee. **Arch Pathol Lab Medicine**, v.7, n.112, p. 673-720, 1988

DANN, E.K.; MUIR, S.B. Peas grown in media with elevated plant-available silicon levels have higher activities of chitinase and β -1,3-glucanase, are less susceptible to a fungal leaf spot pathogen and accumulate more foliar silicon. **Australasian Plant Pathology**, v.31, p. 9-13, 2002.

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

DATNOFF, L.E.; RODRIGUES, F.A.; SEEBOLD, K.W. Silicon and Plant Nutrition. In: DATNOFF, L.E.; ELMER, W.H. HUBER, D.M. **Mineral Nutrition and Plant Disease**. Saint Paul MN, APS Press. p. 233-246, 2007.

DEFFUNE, G.: Semioquímicos, fitoalexinas e resistência sistêmica vegetal na agricultura orgânica: a explicação dos defensivos agrícolas. In: **Hortibio: 1º Congresso Brasileiro de Horticultura Orgânica, Natural, Ecológica e Biodinâmica**. Resumos. Botucatu-SP: Agroecológica, p. 33-43, 2001.

DEUNER, C.C.; VIANA, E.; CAMARA, J.N.; REIS, E.M. Resistência de cultivares de trigo à giberela mediante inoculação artificial em espiguetas. **Summa Phytopathologica**, v.41, n.3, p.202-206, 2015.

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

- DIXON, R.A.; PAIVA, N.L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **Plant Cell**, v.7, p.1085-1097, 1995.
- DOMICIANO, G.P.; RODRIGUES, F.A.; MOREIRA, W.R.; OLIVEIRA, H.V.; VALE, X.R.; XAVIER FILHA, M.S. Silício no progresso da mancha-marrom na folha bandeira do trigo. **Tropical Plant Pathology**, v.35, n.3, p.186-189, 2010.
- DUANGMAL, K.; APENTEN, R. K. O. A comparative study of poliphenoloxidasas from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, Barking, v. 64, p. 351-359, 1999.
- DUARTE, H.S.S.; ZAMBOLIM, L.; MIZUBUTI, E.S.G.; PADUA, J.G.; RIBEIRO JUNIOR, J.I.; CARMO, E.L.; NOGUEIRA JUNIOR, A.F. The field resistance of potato cultivars to foliar late blight and its relationship with foliage maturity type and skin type in Brazil. **Australasian Plant Pathology**, v. 41, p.139-155, 2012.
- DUNLAP, C.A.; SCHISLER, D.A.; PRICE, N.P.; VAUGHN, S.F. Cyclic Lipopeptide Prolife of Three *Bacillus subtilis* Strains; Antagonists of *Fusarium* Head Blight. **The Journal of Microbiology**, v. 49, n. 4, p. 603-609, 2011.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivo cultivos**, 2016. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/trigo/cultivos>>. Acesso em: 23 de maio de 2016.
- EPSTEIN, E. Silicon. **Annual review of plant physiology and plant molecular biology**, v.50, p.641-664, 1999.
- EPSTEIN, E. Silicon: its manifold roles in plants. **Annals of Applied Biology**, v. 155, p. 155-160, 2009.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia (UFLA)**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FERNANDES, J.M.C.; PICININI, E.C. **Controlando as doenças de trigo na hora certa. Passo Fundo: Embrapa Trigo**, 1999. (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico Online, 22). Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_co22.htm> Acesso em: 10/ Nov./2017.
- FERNANDEZ-ALVAREZ, M. LLOMPART, M.; LAUNAS, J.P.; LORES, M.; GARCIA-JARES, C.; CELA, R. DAGNAC, T. Simultaneous determination of traces of pyrethroids, organochlorines and other main plant protection agents in agricultural soils by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1188, n. 2, p. 154-163, 2008.
- FIALLOS, F.R.G; BOLLER, W.; FERREIRA, M.C.; DURÃO, C.F. Eficiência de fungicidas no controle de doenças foliares na cultura do trigo, em resposta à aplicação com diferentes pontas de pulverização. **Scientia Agropecuaria**, v.2, p.229-237, 2011.
- FUGA, C.A.G; GONÇALVES, D.C.; CUNHA, W.V. Inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* por *Bacillus* spp. “*in vitro*”, **UNIPAM**, n.8, vol.1, p.

188-194, 2011.

FREITAS, L.B.; COELHO, E.M.; MAIA, S.C.M.; SILVA, T.R.B. Adubação foliar com silício na cultura do milho. **Revista Ceres**, v.58, n.2, p.262-267, 2011.

FLURKEY, W.H. Polypeptide composition and amino-terminal sequence of broad bean polyphenoloxidase. **Plant Physiology**, Rockville, v.91, p.481-483, 1989.

GERASIMOVA, N.G.; PRIDVOROVA, S.M.; OZERETSKOVSKAYA, O.L. Role of L-phenylalanine ammonia-lyase in the induced resistance and susceptibility of potato plants. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v.41, p.103-105, 2005.

GONG, H.J.; CHEN, K.M.; ZHAO, Z.G.; CHEN, G.C.; ZHOU, W.J. Effects of silicon on defense of wheat against oxidative stress under drought at different developmental stages. **Biologia Plantarum**, v.52, n.3, p.592-596, 2008.

GOULART, A. C. P.; SOUSA, P. G.; URASHIMA, A. S. Danos em trigo causados pela infecção de *Pyricularia grisea*. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.33, n.4, p.358-363, 2007.

GUPTA, V.P.; BOCHOW, H.; DOLEJ, S.; FISCHER, I. Plant growth-promoting *Bacillus subtilis* strain as potential inducer of systemic resistance in tomato against *Fusarium* wilt. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, v.107, p.145-154, 2000.

GOUVEA, A.; ZANOTTI, J.; LUCKMANN, D.; PIZZATTO, M.; MAZARO, S.M.; POSSENTI, J.C. Efeito de extratos vegetais em soja sob condições de laboratório e campo. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.6, n.2, p.70-78, 2011.

HAMMOND-KOSACK, K.E.; JONES, J.D. G. Resistance gene-dependent plant defense responses. **Plant Cell**, Baltimore, v.8, p.1773-1791, 1996.

HAMMERSCHMIDT, R. Introduction: definitions and some history. In: WALTERS, D.; NEWTON, A.; LYON, G. (Ed.). **Induced resistance for plant defence: a sustainable approach to crop protection**. Oxford: Blackweel, p.1-9, 2007.

HARBORNE, J.B. Introduction to Ecological Biochemistry. 2^aed. **Academic Press**, p.227-264, 1982.

HEIL, M.; BOSTOCK, R.M. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defences. **Annal sof Botany**, v.89, p.503-512, 2002.

HERRMANN, K.M.; WEAVER, L.M. The shikimate pathway. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. v.50, p.473-503,1999.

HINDUMATHY, C.K. The defense activator from yeast for rapid induction of resistance in susceptible pearl millet hybrid against downy mildew disease. **International Journal of Agriculture Sciences**, v.4, p.196-201, 2012.

HOLTON, T.A.; CORNISH, E.C. Genetic and biochemistry of anthocyanin biosynthesis. **Plant Cell**, Bltimore, v.7, p.1071-1083, 1995.

INSTITUTO AGRONÔMICO DO PARANÁ – IAPAR. **Cartas Climáticas do Paraná**.
Online. Disponível em: < <http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=863>
> Acesso em: 12 jun. 2016.

INGHAM, J.L. Phytoalexin induction and its taxonomic significance in the Leguminosae (subfamily Papilionoideae). **Proteccion Internat Legume Cont Kew**. p.599-626, 1981.

ITAKO, A.T.; TOLENTINO JÚNIOR, J.B.; SILVA JÚNIOR, T.F.; SOMAN, M.J.; MARINGONI, A.C. Effect of chemicals on the bacterial spot (*Xanthomonas perforans*) and the activation of pathogenesis-related proteins in tomato. **Idesia**, v.30, n.2, p.85-92, 2012.

JARRELL, W.M.; BEVERLY, R.B. Dilution effect in plant nutrition studies. **Advances in Agronomy**, v.34, p.197-224, 1981.

JONES, D.H. Phenylalanina amoníe-lyase: regulation of its induction, and its role in plant development. **Phytochemistry**, Oxisford, v.23, p.1349-1359, 1984.

KIM, S.G.; KIM, K.W.; PARK, E.W.; CHOI, D. Silicon-induced cell wall fortification of rice leaves: a possible cellular mechanism of enhanced host resistance to blast. **Phytopathology**, v.92, p.1095-1103, 2002.

KUHN, O.J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgares*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de crescimento e produção**. 138p. Tese (Doutorado em Fitopatologia). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2007.

LEELASUPHAKUL, W.; HEMMANEE, P.; CHUENCHITT, S. Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.48, p.113-121, 2008.

LIANG, Y.C.; SUN, W.C.; SI, J.; RÖMHELD, V. Effects of foliar and root applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus*. **Plant Pathology**, v.54, p.678- 685, 2005.

LIMA FILHO, O.F. Aspecto Gerais sobre silício em solos, plantas e animais. In: RODRIGUES, F.A. **Silício na Agricultura – Anais do V Simpósio Brasileiro sobre silício na agricultura**. Viçosa, MG: UFV, 2010.

LIMA FILHO, O.F.; TSAI, S.M. **Crescimento e produção do trigo e da aveia branca suplementados com silício**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Agropecuária Oeste, p.34, 2007.

LI, L.; STEFFENS, J.C. Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic tomato plants results in enhanced bacterial disease resistance. **Planta**, Berlin, v.215, p.239-247, 2002.

LIU, H.; JIANG, W.; BI, Y.; LUO, Y. Postharvest BTH treatment induces resistance of peach (*Prunus persica* L. cv. Jiubao) fruit to infection by *Penicillium expansum* and enhances activity of fruit defense mechanisms. **Postharvest Biology and Technology**, v.35, p.263-269, 2005.

LOPES, A. M. Q. Fitoalexinas em sorgo- papel na interação com fungos fitopatogênicos. **Summa Phytopathologica**, v.19, n.1, p.59-61, 1993.

MANANDHAR, H.K.; LYNGS JORGENSEN, H.J.; MATHUR, S.B.; SMEDEGAARD-PETERSEN, V. Suppression of rice blast by preinoculation with avirulent *Pyricularia oryzae* and the nonrice pathogen *Bipolaris sorokiniana*. **Phytopathology**, v.88, p.735-739, 1998.

MAPA - **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/trigo>>. Acesso em: 21/ Jun./ 2016.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Projeções do Agronegócio: Projeções de longo prazo**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politica-agricola/projecoes-do-agronegocio/projecoes-do-agronegocio-2017-a-2027-versao-preliminar-25-07-17.pdf>> Acesso em: 20/set./2017.

MARSCHENER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London, Academic. p.899, 1995.

MAYER, A.M.; HAREL, E. Polyphenol oxidases in plants. **Phytochemistry**, Oxford, v.18, p.193-215, 1979.

MAVINGUI, P.; HEULIN, T. *In vitro* chitinase and antifungal activity of a soil, rhizosphere and rhizoplane population of *Bacillus polymyxa*. **Soil Biology & Biochemistry**, v.26, p.801-803, 1994.

MAYER, A.M. Polyphenoloxidases in plants: recent progress. **Phytochemistry**, n.26, p.11-20, 1987.

MAYER, A.M.; HAREL, E. Phenoloxidases and their significance in fruit and vegetables. In: FOX, P.F. **Food enzymology**. p.373-398, 1991.

MAZARO, S.M. **Indução de resistência a doenças em morangueiro pelo uso de elicitores**. 2007, 105 p. Tese (Doutorado na área de Produção Vegetal), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

MAZARO, S.M.; WAGNER JÚNIOR, A.; SANTOS, I.; CITADIM, I.; POSSENTI, J.C.; GOUVÊA, A. Controle do tombamento de plântulas de beterraba e tomate pelo tratamento de sementes com quitosana. **Pesquisa Agropecuária brasileira**, v.44, n.11, p.1424-1430, 2009.

MEHTA, Y.R. Manejo integrado de enfermidades del trigo. Santa Cruz de la Sierra, **Imprenta Landivar**, p. 314, 1993.

MELERO, M.M.; GITTI, D.C.; ARF, O.; RODRIGUES, R.A.F. Coberturas vegetais e doses de nitrogênio em trigo sob sistema plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.43, n.4, p.343-353, 2013.

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

MESTERHAZY, A.; BARTÓK, T. Control of Fusarium head blight of wheat by fungicides and its effect on the toxin contamination of the grains. **Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer**, v.49, p.181-198, 1996.

MCKEE, G.; RANSOM, J.; MCMULLEN, M. Determinants of adoption of scab management techniques. In: National fusarium head blight forum, Hyatt Regency Milwaukee, Milwaukee, WI. **Proceedings**, p.86-89, 2010.

NAIDOO, P.V.; McFARLANE, S.A.; KEEPING, M.G.; CALDWELL, P.M. Deposition of silicic acid in leaves of sugarcane (*Saccharum* spp. Hybrids) and its effect on the severity of brown rust caused by *Puccinia melanocephala*. **Proceedings of the South African Sugarcane Technologists' Association**, v.82, p.542-546, 2009.

NAVARINI, L.; BALARDIN, R.S. Doenças foliares e o controle por fungicidas na produtividade e qualidade de grãos de trigo. **Summa Phytopathologica**, v.38, n.4, p.294-299, 2012.

NICHOLSON, R.L.; KOLLIPARA, S.S.; VICENT, J.R.; LYONS, P.C.; CADENA-GOMEZ, G. Phytoalexin synthesis by the sorghum mesocotyl in response to infection by pathogenic and nonpathogenic fungi. **Proceedings of the National Academy Science, USA**, v. 84, p. 5520-5524, 1987.

OKUYAMA, L. A. Doenças do trigo e influência na qualidade. In: **Sistema FAEP: Técnicas para a Produção de Trigo no Paraná**, p.15-6, 2010.

OLIVEIRA, G.M. Controle da ferrugem da folha do trigo (*Puccinia triticina*) em diferentes momentos de aplicação de fungicida. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 80, n. 4, p. 436-441, 2013.

ONGENA, M.; DUBY, F.; JOURDAN, E.; BEAUDRY, T.; JADIN, V.; DOMMES, J.; THONART, P. *Bacillus subtilis* M4 decreases plant susceptibility towards fungal pathogens by increasing host resistance associated with differential gene expression. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 67, p. 692-698, 2005.

ONGENA, M.; JOURDAN, E.; ADAM, A.; PAQUOT, M.; BRANS, A.; JORIS, B.; ARPIGNY, J.-L.; THONART, P. Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants. **Environmental Microbiology**, v. 9, p. 1084-1090, 2007.

PAN, D.; MIONETTO, A. TISCORNIA, S.; BETTUCCI, L. Endophytic bacteria from wheat grain as biocontrol agents of Fusarium graminearum and deoxynivalenol production in wheat. **Mycotoxin Research**, v.3, p. 137-143, 2015.

PANISSON E.; REIS, E.M.; BOLLER, W. Quantificação de danos causados pela giberela em cereais de inverno, na Safra 2000, em Passo Fundo, RS*. **Fitopatologia brasileira**, v. 28, p. 189-192, 2003.

PASCHOLATI, S. F. Fitopatógenos: arsenal enzimático. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia. Princípios e conceitos**. São

Paulo: Ceres, v. 1, p. 343-364, 1995.

PASCHOLATI, S. F. Fisiologia do parasitismo: como as plantas se defendem dos patógenos. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de Fitopatologia I - Princípios e Conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, p. 593-633. 2011.

PAULITZ, T.C. *Fusarium* head blight: a re-emerging disease. **Phytoprotection**. v. 80, p. 127-133, 1999.

PEREIRA, S.C.; RODRIGUES, F.A.; CARRÉ-MISSIO, V.; OLIVEIRA, M.G.A.; ZAMBOLIM, L. Efeito da aplicação foliar de silício na resistência à ferrugem e na potencialização da atividade de enzimas de defesa em cafeeiro. **Tropical Plant Pathology**, v.34, n.4, p.223-230, 2009.

PEREIRA JÚNIOR, P.; REZENDE, P.M.; MALFITANO, S.C.; LIMA, R.K.; CORRÊA, L.V.T.; CARVALHO, E.R. Efeito de doses de silício sobre a produtividade e características agronômicas da soja [*Glycine max* (L.) Merrill]. **Ciência e Agrotecnologia**, v.34, n.4, p.908-913, 2010.

PETER, M.G. Chemical Modifications of Biopolymers by Quinones and Quinone Methides. **Angewandte Chemie International Edition in English**, Weinheim, v. 28, p. 555-570, 1989.

PICININI, E.C.; FERNANDES, J.M.C.; IGNACZAK, J.C. Effect of propiconazole spraying on yields of wheat and barley in southern Brazil during 1981 to 1992. **International Congress of Plant Pathology**, v. 6, Montreal, 1993.

PICOLI, A.A.; BEZERRA FARIA, D.; JOMORI, M.L.L.; KLUGE, R.A. Avaliação de biorreguladores no metabolismo secundário de beterrabas inteiras e minimamente processadas. **Bragantia**, v.69, n.4, p.983-988, 2010.

POZZA, A.A.; ALVES, E.; POZZA, E.A.; CARVALHO, J.G.; MONTANARI, M.; GUIMARÃES, P.T.G.; SANTOS, D.M. Efeito do silício no controle da cercosporiose em três variedades de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, p.185-18, 2004.

PHAE, C.; SHODA, M. Investigation of optimal conditions for foam separation of iturin an antifungal peptide produced by *Bacillus subtilis*. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 71, p. 118-121, 1991.

REIS, E.M. **Doenças do trigo III: giberela**. 2ª ed. São Paulo, 1988.

REIS, E. M.; FORCELINI, C. A. Controle cultural. In: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Ceres, p.710-716, 1995.

REIS, E.M.; CASA, R.T.; MEDEIROS, C.A. **Diagnose, patometria e controle de doenças de cereais de inverno**. Londrina-ES, p. 94, 2001.

REIS, E.M.; CARMONA, M. **Fusariosis del trigo – Biología, epidemiología y estrategias para su manejo**. Ed. Gráfica Condal, p. 26, 2002.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; FORTELINI, C.A. Doenças do trigo (*Triticum aestivum* L.). In

KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. v. 2, 4^a ed. São Paulo: Ceres, p. 333-351, 2005.

REIS, E.M.; CASA, R.T. **Doenças dos cereais de inverno: diagnose, epidemiologia e controle**. 2.ed. Lages: Graphel, p.176, 2007.

REIS, E.M.; BARUFFI, D.; REMOR, L. AND ZANATTA, M. Decomposition of corn and soybean residues under field conditions and their role as inoculum source. **Summa phytopathologica**, v. 37, n. 1, p. 65-67, 2011.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; DANELLI, A.L.D. **Doenças do Trigo – Mancha-amarela da folha**. Passo Fundo: Bayer CropScience. 20 ed., p.18, 2011.

REIS, E. M.; CASA, R.T. Doenças do trigo. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia: Doenças de plantas cultivadas**. 5^o Ed. São Paulo: Ceres, p.737-745, 2016.

RITTER, H.; SCHULZ, G.E. Structural basis for the entrance into the phenylpropanoid metabolism catalyzed by phenylalanine ammonia-lyase. **Plant Cell**, Btlmore, v.16, p.3426-3436, 2004.

RODRIGUES, F.A.; MCNALLY, D.J.; DATNOFF, L.E.; JONES, J.B, LABBÉ, C.; BENHAMOU, N.; MENZIES, J.G.; BÉLANGER, R.R. Silicion enhances the accumulation of diterpenoid phytoalexins in rice: a potential mechanism for blast resistance. **Phytopathology**, v. 94, p. 177-183, 2004.

RYAN, R.P.; GERMAINE, K.; FRANKS, A.; RYAN, D.J.; DOWLING, D.N. Bacterial endophytes: recent developments and applications. **FEMS Microbiology Letters**, v. 278, p.1-9, 2008.

RYU, C.M.; FARAG, M.A.; HU, C.-H.; REDDY, M.S.; KLOEPPER, J.W.; PARÉ, P.W. Bacterial Volatiles Induce Systemic Resistance in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 134, p. 1017–1026, 2004.

SANTANA, F.M.; LAU, D.; MACIEL, J.L.N.; FERNANDES, J.M.C.; COSTAMILAN, L.M. **Manual de identificação de doenças do trigo**. Embrapa trigo, 1^a ed. p.43, 2012.

SAVANT, N.K.; SNYDER, G.H.; DATNOFF, L.E. Silicon management and sustainable rice production. **Advances in Agronomy**, v.58, p.151-199, 1997.

SÁNCHEZ, E.; SOTO, J. M.; GARCÍA, P. C.; LÓPEZ-LEFEBRE, L. R.; RIVERO, R. M.; RUIZ, J. M.; ROMERO, L. Phenolic compounds and oxidative metabolism in green bean plants under nitrogen toxicity. **Journal of Plant Physiology**, v.27, p.973-978, 2000.

SANTANA, F. M.; CLEBSCH, C. C.; LAZZAROTTO, A. **Avaliação da eficiência de controle da mancha-amarela em duas cultivares de trigo da Embrapa Trigo, safra 2010**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2010. 16 p. html. (Embrapa Trigo. Documentos Online, 127). Disponível: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do127.htm>. Acesso: 01/set./2017.

SANTOS, E.R.; GOUVEIA, E.R.; MARIANO, R.L.R.; SOUTO-MAIOR, A.M. Biocontrol of bacterial fruit blotch of melon by bioactive compounds produced by *Bacillus* spp. **Summa Phytopathologica**, v.32, n.4, p.376-378, 2006.

SANTOS, H.A.A.; MAY de MIO, L.L. Controle preventivo e curativo da ferrugem do álamo em viveiro. **Floresta**, Curitiba, PR, v. 37, n. 3, p.315-325, 2007.

SANTOS, G.R.; CASTRO NETO, M.D.; RAMOS, L.N.; SARMENTO, R.A.; KORNDÖRFER, G.H.; IGNÁCIO, M. Effect of silicon sources on rice diseases and yield in the State of Tocantins, Brazil. **Acta Scientiarum**, v.33, n.3, p.451-456, 2011.

SANTOYO, G.; DEL O.M.; GOVINDAPPA, M. Mechanisms of biocontrol and plant growth-promoting activity in soil bacterial species of *Bacillus* and *Pseudomonas*: a review. **Biocontrol Sci. Technol**, v. 22, p. 855-872, 2012.

SILVA, S.R.; BASSOI, M.C.; SOLONI, J.S.S. **Informações técnicas para trigo e triticale - safra 2017**. Londrina: Embrapa soja, p.242, 2017.

SOUZA, A. V. **Tratamento térmico na manutenção da qualidade de lichias armazenadas sob refrigeração**. USP. 2009. 67p. Dissertação de Mestrado em Agronomia/Horticultura, Botucatu, 2009.

SUTTON, J.C. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. Canadian Journal of **Plant Pathology**, v. 4, p. 195-209, 1982.

STADNIK, M. **Indução de resistência a oídios**. In: CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA, Campinas. Anais do Congresso Paulista de Fitopatologia, v. 23, p. 176-181. 2000.

STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biociência & Desenvolvimento**, n. 11, p. 16-21, 1999.

STANGARLIN, J. R.; KUHN, O.J.; TOLEDO, M.V.; PORTZ, R.L.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; PASCHOLATI, S.F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p 18-46, 2011.

STEIN, T. *Bacillus subtilis* antibiotic: structures, syntheses and specific functions. **Molecular Microbiology**, v.56, p.845-857, 2005.

STOESSL, A. Secondary Plant metabolites in plant disease resistance part II, Phytoalexins. **Fitopatologia brasileira**, v.11, p.25-53, 1976.

SCHEEREN, P.L. **Instruções para utilização de descritores de trigo (*Triticum* sp.) e triticale (*Triticum* sp.)**. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, p. 32, 1984.

TEIXEIRA, H.; CHITARRA, L.G.; ARIAS, S.M.S.; MACHADO, J.C. Efeito de diferentes fontes de luz no crescimento e esporulação *in vitro* de fungos fitopatogênicos. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 6, p. 1314-1320, 2001.

- TEIXEIRA, R.A. **Mecanismos de resistência a fito doenças**. UFG, 2011, 27p. Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Goiânia, 2011.
- TONIN, R.B.; REIS, E.M.; AVOZANI, A. Incidência de *Drechslera* spp. em folhas de trigo. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, p. 135-140, 2009.
- TUITE, J., SHANER, G.; EVERSON R.J. Wheat scab in soft red 01123 winter wheat in Indiana in 1986 and its relation to some quality measurements. **Plant Disease**, n.74, p. 959-962, 1990.
- UMESHA, S. Phenylalanine ammonia-lyase activity in tomato seedlings and its relations to bacterial cankered disease resistance. **Phytoparasitica**, v. 34, n. 1, p. 68-71, 2006.
- UNDERHILL, S.J.R.; CRITCHLEY, C. Cellular localization of polyphenoloxidase and peroxidase activity in Litchi chinensis Sonn pericarp. **Journal Plant Physiology**, n.22, p.627-632, 1995.
- USDA. **World Agricultural Supply and Demand Estimates (WASDE)**. Disponível em: <<http://www.usda.gov/oce/commodity/wasde/latest.pdf>> Acesso em: 04/ago./2016.
- USDA. **World agricultural production**. Disponível em: <<http://www.usda.gov/wps/portal/>> Acesso: 04/ago./2016.
- VAN LOON, L.C. Pathogenesis-related proteins. **Plant Molecular Biology**. Dordrecht. v.4, p.111-116, 1985.
- VAN LOON, L.C.; BAKKER, P.A. H.M.; PIETERSE, C.M.J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.36, p.453-483, 1998.
- VALÉRIO, I.P.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C.; MACHADO, A.A.; BENIN, G.; SCHEEREN, P.L. SOUZA, V.Q.; HARTWIG, I. Desenvolvimento de afixos e componentes do rendimento em genótipos de trigo sob diferentes densidades de semeadura. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.43, n.3, p.319-326, 2008.
- VAUGHN, K. C.; LAX, A. R.; DUKE, S. O. Polyphenol oxidases: the chloroplast oxidase with no established function. **Physiologia Plantarum**, Lund, v.72, p.659-665, 1988.
- VIANA, E.; DEUNER, C.C. Sobrevivência. In: REIS, E.M. Seminário sobre Giberela em Cereais de Inverno. **Coletânea de Trabalhos**. Passo Fundo: Berthier, p.43-54, 2011.
- VILLA, P.; ALFONSO, I.; RIVERO, M. J.; GONZÁLEZ, G. Evaluación de cepas de *Bacillus subtilis* bioantagonistas de hongos fitopatógenos del. **Redalyc**. p.52-56, 2007.
- WANG, Y.Z. Epidemiology and management of wheat scab in China. **Anais, Fusarium head scab: global status and future prospects**, Mexico, p.97-105, 1997.
- WEGULO, S. N.; BOCKUS, W.W.; NOPSA, J.F.H.; PEIRES, K.H.S.; DOWELL, F.E. Management of Fusarium head blight of wheat and barley. **Crop Protection**, v.73, p.100 - 107, 2015.

WORDELL FILHO, J.A.; DUARTE, H.S.S.; RODRIGUES, F. A. Efeito da aplicação foliar de silicato de potássio e de fungicida na severidade da ferrugem da folha e da mancha-amarela do trigo. **Revista Ceres**, Viçosa, v.60, n.5, p.726-730, 2013.

WULFF, N.A.; PASCHOLATI, S.F. Caracterização parcial de elicitores de fitoalexina em sorgo isolados de *Saccharomyces cerevisiae*. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, n.3, p.428-435, 1999.

WREGE, M. S.; STEINMETZ, S.; REISSER JUNIOR, C.; ALMEIDA, I. R. **Atlas climático da Região Sul do Brasil: Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul**. 1. Pelotas: Embrapa Clima Temperado; Colombo: Embrapa Florestas, p.336, 2011.

YAMADA, T. **Resistência de plantas às pragas e doenças: pode ser afetada pelo manejo da cultura?** IPNI, 2004.

YAO, A.; BOCHOW, H.; KARIMOV, S.; BOTUROV, U.; SANGINBOY, S.; SHARIPOV, A. EFFECT OF FZB 24® *Bacillus subtilis* as a biofertilizer on cotton yields in field tests. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v.39, p.323-328, 2006.

YUAN, J.; LI, B.; ZHANG, N.; WASEEM, R.; SHEN, Q. Production of bacillomycin- and macrolactin-type antibiotics by *Bacillus amyloliquefaciens* NJN-6 for suppressing soilborne plant pathogens. **Journal of Agriculture Food Chemistry**. v.60, p. 2976-2981, 2012.

ZANOTTI, J.; GOUVEA, A.; PIZZATTO, M.; MAZARO, S.M.; POSSENTI, J.C.; VENTURINI, T.; API, I.; Indução de Resistência a Oídio (*Microsphaera diffusa*) em Soja (*Glycine max* (L.) Merr.) Mediada por Entomopatógenos. **Revista Brasileira de Agroecologia**. v.4, n.2, 2009.

ZAMBOLIM, L.; ZANÃO JUNIOR, L.A.; VENTURA, J.A. Mecanismos de ação do silício na redução de doenças de plantas. In: ZAMBOLIM, L.; JUNIOR, L.A.Z.; VENTURA, J.A. **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. 1ª Ed. Minas Gerais, Suprema Gráfica e Editora, p.255-285, 2012.

ZHAO, Z.; WANG, Q.; WANG, K.; BRIAN, K.; LIU, C.; GU, Y. Study of the antifungal activity of *Bacillus vallismortis* ZZ185 *in vitro* and identification of its antifungal components. **Bioresource Technology**, v.101, p.292-297, 2010.

ZHAO, P.; QUAN, C.; WANG, Y.; WANG, J.; FAN, S. *Bacillus amyloliquefaciens* Q-426 as a potential biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f. sp. *spinaciae*. **Journal of Basic Microbiology**, v.54, p.448-456, 2013.

ZHAO, M.; SUN, P.F.; DU, L.N.; WANG, G.; JIA X.M.; ZHAO, Y.H. Biodegradation of methyl red by *Bacillus* sp. strain UN2: decolorization capacity, metabolites characterization, and enzyme analysis. **Environ Sci Pollut Res Int**, v.9, p. 6136-6145, 2014.