UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CAMPUS DE JABOTICABAL

ESTRATÉGIA PARA CONTRIBUIR COM CONTROLE DA *Bremia lactucae* EM ALFACE COM O USO DO SILÍCIO E DO POTÁSSIO

Lívia Tálita da Silva Carvalho

Engenheira Agrônoma

2026

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

ESTRATÉGIA PARA CONTRIBUIR COM CONTROLE DA *Bremia lactucae* EM ALFACE COM O USO DO SILÍCIO E DO POTÁSSIO

Discente: Lívia Tálita da Silva Carvalho

Orientador: Prof. Dr. Renato de Mello Prado

Coorientador: Prof. Dr. Pablo Forlan Vargas

Coorientadora: Profa. Dra. Priscila Lupino Gratão

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutora em Agronomia (Produção Vegetal).

2026

C331e

Carvalho, Lívia Tálita da Silva
Estratégia para contribuir com controle da Bremia lactucae em alface com o uso do silício e do potássio / Lívia Tálita da Silva Carvalho. -- Jaboticabal, 2026
99 p.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Renato de Mello Prado

1. Nutrição de Plantas. 2. Alface. 3. Silício. 4. Potássio. 5. Míldio. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: ESTRATÉGIA PARA CONTRIBUIR COM CONTROLE DA *Bremia lactucae* EM ALFACE COM O USO DO SILÍCIO E DO POTÁSSIO

AUTORA: LÍVIA TÁLITA DA SILVA CARVALHO
ORIENTADOR: RENATO DE MELLO PRADO
COORIENTADORA: PRISCILA LUPINO GRATÃO
COORIENTADOR: PABLO FORLAN VARGAS

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Agronomia (Produção Vegetal), pela Comissão Examinadora:

gov.br Documento assinado digitalmente
RENATO DE MELLO PRADO
Data: 18/03/2024 12:24:30-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. RENATO DE MELLO PRADO (Participaçao Virtual)
Departamento de Ciencias da Producao Agricola / FCAV UNESP Jaboticabal

gov.br Documento assinado digitalmente
FERNANDO CESAR SALA
Data: 23/03/2024 10:41:25-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. FERNANDO CESAR SALA (Participaçao Virtual)
Departamento Biotecnologia e Produção Vegetal e Animal / Universidade Federal de São Carlos (UFSCar) - Araras/SP

gov.br Documento assinado digitalmente
RITA DE CASSIA PANIZZI
Data: 25/03/2024 14:42:17-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Profa. Dra. RITA DE CÁSSIA PANIZZI (Participaçao Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal

Pós-doutoranda KAMILLA SILVA OLIVEIRA (Participaçao Virtual
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal

gov.br) assinado digitalmente
FABRICIO DE AVILA RODRIGUES
Data: 23/03/2024 11:25:17-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Prof. Dr. FABRÍCIO DE ÁVILA RODRIGUES (Participaçao Virtual)
Departamento de Fitopatologia / Universidade Federal de Viçosa (UFV) - Viçosa/MG

Jaboticabal, 15 de março de 2024

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

LÍVIA TÁLITA DA SILVA CARVALHO, nascida em 25 de fevereiro de 1994, na cidade de Garrafão do Norte no Estado do Pará, é filha de Miguel dos Santos Carvalho e Edileuza Ferreira da Silva. Ingressou no curso de Agronomia em abril de 2013, na Universidade Federal Rural da Amazônia-UFRA, graduando-se em março de 2019. Durante a graduação, foi bolsista de Iniciação Científica por dois anos, na área de Irrigação e Drenagem, e por um ano na área de Olericultura. Realizou intercâmbio por um semestre na Universidade de Talca, no Chile, no ano de 2016. Em março de 2019, iniciou o curso de mestrado na Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Jaboticabal, pelo programa de pós-graduação em Agronomia (Produção Vegetal), sob a orientação da Profa. Dra. Leila Trevisan Braz, obtendo o título de mestra em fevereiro de 2021. Em março de 2021 iniciou o curso de doutorado no mesmo programa de pós-graduação, sob a orientação do Prof. Dr. Renato de Mello Prado, tornando-se membra do Grupo de Estudos em Nutrição de Plantas da Unesp (GENPLANT). Faz parte do quadro de funcionários da empresa FELTRIN Sementes desde março de 2023, atuando como assistente de melhoramento e responsável pelo Programa de melhoramento de alface da empresa, entre outros programas. Participa do “Projeto Bremia”, uma parceria liderada pela ABCSEM, que visa o monitoramento constante e estudos de raças do patógeno *Bremia lactucae* no Brasil.

“Ter um objetivo inusitadamente grande é uma infusão de adrenalina que nos dá resistência para superar as inevitáveis turbulências e desafios que acompanham qualquer busca por um objetivo.” (Tim Ferriss)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sua infinita bondade e misericórdia, por estar presente em minha vida, em todos os momentos, e por guiar-me no caminho em direção aos meus objetivos.

Aos meus pais Edileuza Ferreira da Silva e Miguel dos Santos Carvalho, pelo amor, educação e apoio incondicional em meus projetos, o que me fez caminhar até este momento.

Aos meus irmãos Márcio, Marcelo e Cássio, por me fazerem perceber a importância da família, mesmo estando longe.

À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista (UNESP – FCAV), pela oportunidade de realizar o doutorado, pela disponibilidade da estrutura e suporte concedidos, e pelo apoio dos docentes.

Ao meu orientador Prof. Dr. Renato de Mello Prado, pela orientação, dedicação, paciência, e confiança em aceitar o desafio de realizar essa pesquisa juntamente comigo.

Agradecimento especial ao meu coorientador Prof. Dr. Pablo Forlan Vargas, pelo apoio e pela estrutura do laboratório concedida.

À minha coorientadora Profa. Dra. Priscila Lupino Gratão.

Aos meus amigos, pelos quais a amizade será eterna, pois estiveram comigo nos momentos mais tensos, e proporcionaram as melhores alegrias que tive.

Aos colegas do GENPLANT, que me auxiliaram na execução deste projeto e por todo o conhecimento compartilhado.

A todos os colegas do Núcleo de Estudos em Olericultura e Melhoramento (NEOM), pelo companheirismo.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – código de financiamento 001.

À banca examinadora, pelas sugestões e contribuições para a melhoria deste trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Ciências da Produção Agrícola e do Setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais Inauro, Sílvio e Reinaldo

(Tilápia), pela amizade, convivência e auxílio em todos os momentos de que necessitei.

A todos os que, de alguma forma, contribuíram para a minha trajetória até aqui.

Obrigada!

SUMÁRIO

RESUMO iv
ABSTRACT v
CAPÍTULO 1 – Considerações gerais 1
1 Introdução 1
2 Revisão de literatura 3
2.1 A cultura da alface 3
2.2 *Bremia lactucae* 5
2.3 Nutrição de planta como agente de indução de resistência 6
3 Referências 8
CAPÍTULO 2 - Silício aplicado via fertirrigação e foliar como atenuador da *Bremia lactucae* em alface 16
RESUMO 16
ABSTRACT 17
1 Introdução 18
2 Material e métodos 21
2.1 Preparo do inóculo e condições de crescimento 21
2.2 Delineamento experimental 22
2.3 Análises 23
2.3.1 Análise de silício 23
2.3.2 Produção de massa fresca e seca das plantas 24
2.3.3 Eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm) 24
2.3.4 Determinação dos teores de fenóis totais 24
2.3.5 Quantificação de clorofila e de carotenoides 25
2.3.6 Índice de firmeza 25
2.3.7 Teores de açúcares e aminoácidos totais 25
2.3.8 Teor de malonaldeído (MDA) 25
2.3.9 Sistema de defesa enzimático contra estresse oxidativo 26
2.3.9.1 Superóxido dismutase (SOD; EC 1.15.1.1) 26
2.3.9.2 Ascorbato Peroxidase (APX; EC 1.11.1.11) 26
2.3.9.3 Glutationa Peroxidase (GPX; EC 1.11.1.9) 26
2.3.10 Análise da doença 27
2.4 Análise estatística 27

3 Resultados 27
3.2 Integração multivariada das respostas fisiológicas e bioquímicas 37
4 Discussão.....49
4.2 Efeito do Si no teor foliar do elemento em plantas com e sem patógeno 51
4.3 Efeitos do Si em aspectos fisiológicos em plantas com e sem patógeno 52
4.4 Efeito do Si na severidade e na ocorrência da doença 54
4.5 Integração multivariada: conciliando o padrão univariado com a assinatura fisiológica/bioquímica conjunta 55
5 Implicações e perspectivas futuras 56
6 Conclusão 57
7 Referências 58
CAPÍTULO 3 – Uso do potássio como estratégia para manejo da *Bremia lactucae* em cultivares com diferentes reações de resistência ao patógeno 66
RESUMO.....66
ABSTRACT 67
1 Introdução 68
2 Material e métodos.....69
2.1 Inóculo e Cultivares.....69
2.2 Delineamento experimental 71
2.3 Análises 72
2.3.1 Análise de potássio 72
2.3.2 Produção de massa fresca e seca das plantas.....72
2.3.3 Eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm).....73
2.3.4 Determinação dos teores de fenóis totais 73
2.3.5 Quantificação dos teores de clorofila e de carotenoides.....73
2.3.7 Teores de açúcares e aminoácidos totais.....73
2.3.10 Análise da doença 74
2.4 Análise estatística 74
3 Resultados 74
3.1 Integração da multivariada na resposta fisiológica.....81
4 Discussão.....86
4.1 Efeito da deficiência de K e a ocorrência de patógeno.....86
4.2 Efeitos do K em aspectos fisiológicos em plantas com patógeno 88
4.3 Efeito do K na severidade da doença.....89

4.4 Integração multivariada: um gradiente dependente da resistência na separação dos tratamentos 90

6 Conclusão 91

7 Referências 91

ESTRATÉGIA PARA CONTRIBUIR COM CONTROLE DA *Bremia lactucae* EM ALFACE COM O USO DO SILÍCIO E DO POTÁSSIO

RESUMO: As doenças das plantas desempenham um papel limitante importante na produção agrícola, que é mais preocupante em espécies de ciclo curto, especialmente as hortaliças como alface. O míldio da alface causado por *Bremia lactucae* é uma das doenças que mais causa perdas na produção de alface em todo o mundo. Para o controle eficiente dessa doença, é necessário a introdução de estratégias integradas no manejo, que sejam sustentáveis e melhorem o sistema de defesa da planta. A nutrição mineral pode integrar sistemas de manejo mais sustentáveis para controlar doenças de plantas. O K é o nutriente com maior potencial para diminuir a incidência de doenças dos cultivos. O Si é o segundo elemento químico que mais contribui para diminuir incidência de doenças nas plantas, que embora não seja considerado nutriente, mas é um elemento benéfico. No entanto, existem dúvidas se a nutrição de plantas pode ser útil no controle de doenças como o míldio da alface, e em todos os grupos de resistência genética ao patógeno (suscetível, resistência incompleta e resistência completa). Assim, realizou-se essa pesquisa com o objetivo de desvendar como a nutrição de plantas está envolvida nas vias de defesa induzida da cultura da alface, submetida à inoculação com o patógeno *B. lactucae*, estudando os efeitos da aplicação do silício e do potássio. A pesquisa foi dividida em dois estudos, sendo a interação com o Si (capítulo 2) e a interação com o K (capítulo 3). Inicialmente foram avaliados os danos causados pelo patógeno *B. lactucae* em plantas de alface e se o Si atenua esses prejuízos, em dois experimentos, com o Si aplicado via fertirrigação e foliar (experimento I) e somente via fertirrigação (experimento II). O míldio da alface causa danos ao metabolismo fisiológico e o crescimento da planta, mas o uso do Si atenua o efeito destes danos por favorecer os mecanismos de defesa da planta ao ativar o sistema antioxidante e incrementar a capacidade fotossintética e a produção de metabólitos. Posteriormente, avaliou-se o efeito do K em fortalecer as defesas naturais da planta, atenuando os danos causados pelo patógeno *B. lactucae* em cultivares de alface com suscetibilidade (experimento I) e com resistência incompleta (experimento II) e completa (experimento III) ao patógeno. A nutrição potássica adequada é eficiente para diminuir a severidade da doença e deve ser indicada para plantas com suscetibilidade, com resistência incompleta e completa ao patógeno, por diminuir o estresse oxidativo e aumentar antioxidantes, favorecendo a fisiologia e diminuindo metabólitos como açucares e aminoácidos, atrativos ao patógeno. Assim que, a aplicação de Si e o fornecimento adequado de K, podem ser utilizados como estratégia sustentável para melhorar o controle da *B. lactucae* em alface.

Palavras-chave: *Lactuca sativa* L., míldio da alface, nutrição de plantas, resistência induzida.

STRATEGY TO CONTRIBUTE TO THE CONTROL OF *Bremia lactucae* IN LETTUCE WITH THE USE OF SILICON AND POTASSIUM

ABSTRACT: Plant diseases play an important limiting role in agricultural production, which is more worrying in species with a very short cycle, especially vegetables such as lettuce. Lettuce downy mildew caused by *Bremia lactucae* is one of the diseases that causes the most losses in lettuce production worldwide. To efficiently control this disease, it is necessary to introduce integrated management strategies that are sustainable and improve the plant's defense system. Mineral nutrition can integrate more sustainable management systems to control plant diseases. K is the nutrient with the greatest potential to reduce the incidence of crop diseases. Si is the second chemical element that most contributes to reducing the incidence of diseases in plants, which although not considered a nutrient, is a beneficial element. However, there are doubts whether plant nutrition can be useful in controlling diseases such as lettuce downy mildew, and in all groups of genetic resistance to the pathogen (susceptible, incomplete resistance and complete resistance). Therefore, this research was carried out with the aim of unveiling how plant nutrition is involved in the induced defense pathways of lettuce crops, subjected to inoculation with the pathogen *B. lactucae*, studying the responses to the application of silicon and potassium. The research was divided into two studies, the interaction with Si (chapter 2) and the interaction with K (chapter 3). Initially, the damage caused by the pathogen B. lactucae in lettuce plants and whether Si mitigates these damages were evaluated in two experiments, with Si applied via fertigation and foliar (experiment I) and only via fertigation (experiment II). Lettuce downy mildew causes damage to the plant's physiological metabolism and growth, but the use of Si mitigates the effect of this damage by favoring the plant's defense mechanisms by activating the antioxidant system and increasing photosynthetic capacity and the production of metabolites. Subsequently, the effect of K in strengthening the plant's natural defenses was evaluated, attenuating the damage caused by the pathogen *B. lactucae* in lettuce cultivars with susceptibility (experiment I) and with incomplete (experiment II) and complete (experiment III) resistance. to the pathogen. Adequate potassium nutrition is efficient in reducing the severity of the disease and should be indicated for plants with susceptibility, with incomplete and complete resistance to the pathogen, by reducing oxidative stress and increasing antioxidants, favoring physiology, and reducing metabolites such as sugars and amino acids, which are attractive to the pathogen. Therefore, the application of Si and the adequate supply of K can be used as a sustainable strategy to improve the control of *B. lactucae* in lettuce.

Keywords: *Lactuca sativa* L., lettuce downy mildew, plant nutrition, induced resistance.

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais

1 Introdução

Com o crescente aumento das exigências do mercado na qualidade das hortaliças, a agricultura sustentável tem sido muito enfatizada, no entanto, as doenças das plantas continuam a desempenhar um papel limitante importante na produção agrícola, que é mais preocupante em espécies de ciclo muito curto especialmente as hortaliças como alface.

A faixa ideal de temperatura para a produção da cultura da alface deve ser de 12 a 22°C e umidade relativa do ar entre 60 e 70%. Entretanto, essas condições climáticas também favorecerem a ocorrência do míldio da alface, cujo agente causal é o oomiceto biotrófico *Bremia lactucae* Regel, acarretando grandes prejuízos na cultura e perdas de até 80% na produção (Fall *et al.*, 2015; Su *et al.*, 2007). Devido ao grande potencial de danos e à extrema variabilidade genética, o patógeno *B. lactucae* provoca uma das doenças mais importantes na produção da cultura da alface (Lebeda, Pink e Astley, 2002).

O míldio da alface é uma doença policíclica causada por esporângios transportados pelo ar e pela água (Fall, Heyden, Van Der e Carisse, 2016). O surgimento de novas infecções ocorre em progressão geométrica, resultando em seu rápido avanço até atingir a fase crítica (Vale FXR *et al.*, 2004). Sendo assim, é caracterizado como a doença mais limitante em condições de baixa temperatura e de longos períodos de molhamento foliar (Lebeda, Pink e Astley, 2002; Michelmore e Wong, 2008).

O uso de cultivares resistentes ou de produtos fitossanitários são as medidas utilizadas no controle do míldio da alface, sendo o primeiro menos oneroso ao produtor e praticamente sem risco para o ambiente. No entanto, a crescente capacidade de *B. lactucae* de superar rapidamente resistências específicas de novas cultivares (Brabandt *et al.*, 2014), dificulta aos melhoristas de plantas o controle dessa doença. Por isso, é necessário a introdução de estratégias integradas no manejo do ambiente, que sejam sustentáveis e melhorem o sistema de defesa da planta e aumentem o controle dessa doença.

O tratamento adequado da nutrição mineral pode integrar sistemas de manejo mais sustentáveis para controlar doenças de plantas, e que não prejudiquem o meio ambiente e ao mesmo tempo aumentem o rendimento e melhorem a qualidade do produto (Morales, Santos e Tomazeli, 2012). No entanto, existem dúvidas se a nutrição de plantas pode ser útil no controle de doenças como o míldio da alface em todos os níveis de reação dos genótipos ao patógeno (suscetível, resistência incompleta e resistência completa).

O Si é o elemento químico que mais contribui para diminuir incidência de doenças nas plantas, que embora não seja considerado nutriente, mas é um elemento benéfico, o Si induz diversos efeitos que melhoram o crescimento das plantas sob estresses bióticos (Debona, Rodrigues e Datnoff, 2017), proporcionando maior rigidez estrutural dos tecidos (Silva *et al.*, 2021) e aumenta o metabolismo antioxidante (Han *et al.*, 2016), atuando na preservação dos pigmentos fotossintéticos por ativar os mecanismos de defesa existentes nas plantas (Lima *et al.*, 2011). Portanto, nas últimas décadas têm aumentado muitos estudos envolvendo Si e doenças das culturas, mas predominam estudos em culturas acumuladoras de Si em relação as não acumuladoras como a alface (Prado, 2023), mas isso não indica que essa espécie não absorve o Si. Contudo, é relevante estudos que possam auxiliar no entendimento para potencializar a absorção de Si via raiz e foliar para incrementar a expectativa de benefícios do elemento na planta de alface e especialmente para o controle da doença.

O K é o nutriente com maior potencial para diminuir a incidência de doenças dos cultivos (Prado, 2021), devido ao papel do K na otimização da condutância estomática, ativação enzimática, síntese de proteínas, troca gasosa, translocação de fotoassimilados e resistência ao estresse em diferentes espécies cultivadas (Wang *et al.*, 2013; Zörb, Senbayram e Peiter, 2014).

Diante da falta de pesquisa para compreensão dos efeitos do Si e do K no controle do míldio da alface, hipotetizamos que, o uso do manejo otimizado da nutrição potássica, independentemente do nível de reação da cultivar ao patógeno e da nutrição silicatada, com modo de aplicação que possa maximizar a absorção, podem ser eficientes para contribuir para o controle do míldio nas plantas de alface. Se essa hipótese for aceita deverá surgir mais uma estratégia viável para uso no manejo desta

doença tão importante para a cultura da alface sem risco para o ambiente e especialmente para o consumidor que irá utilizar um alimento mais nutritivo, já que o K e o Si são considerados nutrientes para o ser humano, tendo maior qualidade e estando alinhado com objetivos da produção sustentável, com ausência ou uso mínimo de produtos químicos.

Nesse contexto, o objetivo dessa pesquisa foi estudar as respostas à aplicação do silício e do potássio envolvidas nas vias de reação de defesa induzida da cultura da alface, submetida à inoculação com o patógeno *B. lactucae*.

2 Revisão de literatura

2.1 A cultura da alface

A alface (*Lactuca sativa* L.) é a hortaliça folhosa mais consumida no mundo, possuindo elevada notoriedade no cenário econômico mundial (FAOSTAT, 2020). No Brasil, é cultivada e consumida em todas as regiões, com destaque em volume comercializado na região Sudeste (Marin *et al.*, 2020).

A *L. sativa* L. originou-se de espécies silvestres que ainda são encontradas em regiões com clima temperado, no sul da Europa e na Ásia Ocidental. Pertence à família Asteraceae, subfamília Cichorioideae, tribo Lactuceae, e ao gênero *Lactuca,* no qual são descritas mais de 100 espécies (Filgueira, 2000).

O centro de origem e de domesticação da alface é o sul da Europa e a Ásia Ocidental, sendo cultivada desde 2500 a.C. (Ryder, 1999). Provavelmente com as expedições de Cristóvão Colombo para o Novo Mundo, a alface foi introduzida na América em 1494 e posteriormente no Brasil, pelos imigrantes portugueses, em 1650 (Sala e Costa, da, 2012).

É considerada a hortaliça folhosa mais popular do mundo, destacando-se pelo elevado teor de sais minerais e de vitaminas A, B1, B2 e C, além de conter cálcio e ferro, e de apresentar baixo valor calórico, sendo consumida, principalmente, *in natura*, na forma de saladas (Filgueira, 2000; Silva, Da *et al.*, 2018). A possibilidade de cultivos sucessivos no mesmo ano, o consolidado hábito de consumo alimentar pela população e a demanda sempre crescente do produto são fatores que fazem da

alface a hortaliça folhosa mais produzida no Brasil, conferindo a esta cultura grande importância econômica e social (Sala e Costa, 2016).

A alface é uma planta herbácea, de consistência tenra, apresenta caule diminuto, onde se prendem as folhas (Queiroz, 2017). Devido à cleistogamia, a alface é uma espécie autógama, apresenta inflorescência do tipo capítulo, composta por aproximadamente 10 a 25 floretes ou flores. Cada flor apresenta um óvulo que, subsequentemente, formará um só aquênio (Sala e Nascimento, 2014).

A planta cresce em forma de roseta, em volta do caule, sua raiz é pivotante, com ramificações finas e curtas, podendo as folhas serem lisas ou crespas, formando ou não uma “cabeça”, com coloração em vários tons de verde ou roxa, a depender da cultivar (Filgueira, 2000).

Os principais tipos de alface cultivados no Brasil são crespa, americana, lisa, mimosa, romana e crocante (Sala e Costa, 2016). Até meados da década de 1980, o mercado consumidor no Brasil tinha preferência pela alface-lisa. Posteriormente, houve uma mudança de mercado para o segmento de alface do tipo crespa, e este segmento chegou a representar mais de 50% do mercado brasileiro (Sala e Nascimento, 2014). Entretanto, a alface do grupo varietal americana está em crescente demanda pelos consumidores. Inicialmente, esse segmento tem-se estabelecido para atender às redes de *fast food*. Entretanto, a preferência por esse grupo varietal também vem aumentando pelos consumidores domiciliares (Sala e Costa, 2012). Outro grupo varietal crescente é formado pelas cultivares coloridas, como os segmentos do tipo ‘Crespa roxa’ e ‘Crespa vermelha’, e pelo segmento de alface do tipo ‘Mimosa Roxa’ (Henz e Suinaga, 2009; Sala e Costa, 2012).

A alface é uma planta anual, que floresce sob dias longos e temperaturas altas. A temperatura ideal para o desenvolvimento está na faixa de 15,5ºC a 18,3ºC, apesar de tolerar faixas entre 26,6ºC e 29,4ºC por alguns dias, desde que as temperaturas noturnas sejam baixas (Sanders, 1999). Por ser planta originária de clima temperado, a alface é pouco adaptada a regiões de temperatura elevada e fotoperíodos longos, fazendo com que ocorra a redução do ciclo e seja antecipada a fase reprodutiva (pendoamento), e impedindo que expresse o ápice de seu potencial genético (Bezerra Neto et al*.,* 2005).

2.2 *Bremia lactucae*

A cultura da alface pode ser acometida por diversas doenças, afetando raiz, caule e parte aérea. Quando atacam a parte aérea, a qual é o produto a ser comercializado e consumido, essas doenças tornam-se mais importantes, podendo ser causadas por fungos, bactérias e vírus (Lopes et al., 2010).

O genêro Bremia compreende oomicetos da família Peronosporaceae, sendo a espécie *Bremia lactucae* Regel um parasita biotrófico obrigatório, o qual apenas completa o ciclo de desenvolvimento enquanto o hospedeiro estiver vivo, sendo eles algumas espécies da família Asteraceae (Michelmore RW *et al.*, 1988).

O míldio da alface, causado pelo patógeno *B. lactucae*, tem gerado grandes perdas na produção de alface. Esse patógeno pode infectar a planta em qualquer estádio de desenvolvimento (Dickinson e Crute, 1974). O inóculo inicial geralmente consiste em esporos transportados pelo ar ou pela água, provindos de plantas de alface doentes ou de outros hospedeiros alternativos do gênero *Lactuca*, ou ainda de restos de cultura infectados (Dickinson e Crute, 1974)(Lopes et al., 2010). Este inóculo produzido sobre plantas doentes é capaz de, numa mesma estação de cultivo, infectar novas plantas, e por ser uma doença policíclica, tem sido considerada uma das doenças mais devastadoras dessa cultura (Fall, Heyden, Van Der e Carisse, 2016). Pois, com a progressão geométrica de multiplicação de novas infecções, resulta em rápido avanço até atingir a fase crítica e a perda total da planta (Vale FXR *et al.*, 2004).

A maior incidência de míldio ocorre nas condições de inverno, em regiões de temperatura amena, que coincide com as grandes regiões brasileiras produtoras de alface (Marin *et al.*, 2020). Os efeitos de temperatura e de umidade relativa atuam simultaneamente, interagindo na esporulação de *B. lactucae*. A umidade relativa é um dos fatores ambientais que mais afetam a esporulação de *B. lactucae*, com um mínimo requerido de 80%, e a temperatura para esporulação varia de 4ºC a 20ºC (Su *et al.*, 2007).

As lesões de míldio têm como características a coloração verde-clara ou levemente clorótica, tornando-se amarelas ou necróticas após a esporulação do

fitopatógeno, são irregulares em tamanho e, na maioria das vezes, delimitadas pelas nervuras (van Bruggen e Scherm, 1997). Sob condições ambientais ótimas, esporangióforos e esporângios tornam-se visíveis após uma semana, principalmente na face inferior das folhas. O patógeno ainda é capaz de sobreviver em restos de cultura, e até mesmo em espécies selvagens do gênero *Lactuca*, que são hospedeiros alternativos para o patógeno (Fall, Heyden, Van Der e Carisse, 2016; Souza *et al.*, 2022).

2.3 Nutrição de planta como agente de indução de resistência

As culturas agrícolas enfrentam uma infinidade de e patógenos com diferentes estratégias de infecção e sobrevivência. Por isso, evoluíram mecanismos de defesa pré-formados e induzíveis que visam se proteger de tais infecções (Métraux, 2013). Além disso, o estado nutricional de uma planta tem um grande impacto na suscetibilidade à doença, e isso tem sido explorado para a redução da severidade da doença (Balardin *et al.*, 2006).

O hospedeiro, o patógeno e o ambiente são os três fatores determinantes das doenças das plantas. A combinação no tempo e no espaço destes três elementos determina a ocorrência ou ausência de uma doença, sua intensidade e as perdas econômicas na produção. O hospedeiro (planta cultivada) é a principal fonte nutricional dos patógenos. Os parasitas são nutricionalmente dependentes do hospedeiro e suas populações se desenvolvem em função da disponibilidade de alimento e do ambiente que atuam como catalizadores dos processos biológicos de reprodução (Berger, Sinha e Roitsch, 2007). O estado nutricional é um fator do ambiente que influencia no hospedeiro e que também pode incidir significativamente no processo de infecção dos patógenos, portanto, os nutrientes podem afetar o desenvolvimento das doenças através do seu impacto na fisiologia vegetal e/ou mediante seu efeito sobre os patógenos.

O desequilíbrio e até mesmo o excesso de distintos nutrientes minerais, acarreta influência na relação das plantas a determinadas infecções por patógenos, podendo atenuar ou favorecer a ocorrência de doenças (Balardin *et al.*, 2006). A

interação nutriente-hospedeiro-patógeno é complexa para analisar e nem sempre apresenta o mesmo comportamento, um nutriente em particular, pode influenciar na diminuição da severidade de um determinado patógeno, porém, pode aumentar a intensidade da doença causada por outro patógeno ou não gerar nenhuma mudança (Zambolim, Ventura e Zanão Junior, 2012). A imobilização de nutrientes necessários à síntese de barreiras físico-químicas ou à redução da concentração de elementos nas proximidades dos sítios de infecção podem fazer com que a planta tenha uma resposta de suscetibilidade à doença, ou até mesmo a resistência pode ter sido gerada devido à ausência de nutrientes essenciais para as atividades fisiológicas do patógeno (Huber e Wilhelm, 1988).

Nos últimos anos, a importância da agricultura sustentável aumentou para se tornar uma das questões mais importantes na produção agrícola. Nesse cenário, o controle de doenças de plantas usando pesticidas clássicos levanta sérias preocupações sobre segurança alimentar, qualidade ambiental e resistência a pesticidas. Dessa forma, diante da pressão para produção da alface livre de produtos fitossanitários busca-se estratégias sustentáveis que possa contribuir para o controle da *B. lactucae* na cultura e proporcione aumento na segurança para o consumidor, sendo utilizado indutores de resistência que envolvem a ativação de mecanismos de defesa existentes nas plantas.

Um dos nutrientes mais importantes para diminuir a incidência de doenças é o K, pois favorece metabolismo diminuindo acúmulo de aminoácidos que pode ser fonte de alimento para o patógeno (Prado, 2020). De um modo geral, o aumento das concentrações de potássio nas folhas reduz a suscetibilidade de doenças (Michereff, 2001).

Muitos estudos demonstraram um efeito positivo de um amplo fornecimento de K na resistência a patógenos. Uma suscetibilidade aumentada de plantas deficientes em K à infecção, em particular com patógenos fúngicos foi atribuída ao papel do K no metabolismo primário e no transporte do floema (Römheld e Kirkby, 2010).Como a formação de amido e a carga do floema são prejudicadas em plantas deficientes em K, as concentrações de açúcares solúveis e ácidos orgânicos nos tecidos da parte aérea são aumentadas, sendo fonte de alimento para o patógeno.

Alguns patógenos, como o míldio da alface, entram na planta através dos estômatos, e a percepção de elicitores patogênicos, ou padrões moleculares associados a patógenos, pela célula guarda estomática induz um fechamento completo do poro (Melotto *et al.*, 2006). No entanto, como discutido acima, as plantas deficientes em K são deficientes na regulação estomática. Isto significa que esta primeira linha de defesa contra patógenos provavelmente não será eficiente nessas plantas.

O silício (Si), é considerado um um elemento benéfico que melhora o crescimento das plantas sob estresses bióticos de diferentes patógenos (Debona, Rodrigues e Datnoff, 2017; Islam *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2022).

3 Referências

ABED-ASHTIANI, F.; KADIR, J.; SELAMAT, A.; HANIF, A. H. B.; NASEHI, A. Effect of Foliar and Root Application of Silicon Against Rice Blast Fungus in MR219 Rice Variety. **Plant Pathology Journal**, v. 28 (2), p. 164–171, 2012.

ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 372, p. 1331–1341, 15 maio 2002.

ANDERSON, J. V.; DAVIS, D. G. Abiotic stress alters transcript profiles and activity of glutathione S-transferase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase in Euphorbia esula. **Physiologia Plantarum**, v. 120, n. 3, p. 421–433, 1 mar. 2004.

ASADA, K. Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. **Physiologia Plantarum**, v. 85, n. 2, p. 235–241, 1 jun. 1992.

AWASTHI, R.; BHANDARI, K.; NAYYAR, H. Temperature stress and redox homeostasis in agricultural crops. **Frontiers in Environmental Science**, v. 3, n. MAR, p. 11, 17 mar. 2015.

BALARDIN, R. S.; DALLAGNOL, L. J.; DIDONÉ, H. T.; NAVARINI, L. Influência do Fósforo e do Potássio na Severidade da Ferrugem da Soja Phakopsora pachyrhizi. **Fitopatol. Bras**, v. 31, n. 5, 2006.

BATAGLIA, O. C.; FURLANI, A. M. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; GALLO, J. R. **Métodos de análise química de plantas**. [s.l: s.n.].

BERGER, S.; PAPADOPOULOS, M.; SCHREIBER, U.; KAISER, W.; ROITSCH, T. Complex regulation of gene expression, photosynthesis and sugar levels by pathogen infection in tomato. **Physiologia Plantarum**, v. 122, n. 4, p. 419–428, 1 dez. 2004.

BERGER, S.; SINHA, A. K.; ROITSCH, T. Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant–pathogen interactions. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 15–16, p. 4019–4026, 1 dez. 2007.

BOARETTO, L. F.; CARVALHO, G.; BORGO, L.; CRESTE, S.; LANDELL, M. G. A.; MAZZAFERA, P.; AZEVEDO, R. A. Water stress reveals differential antioxidant responses of tolerant and non-tolerant sugarcane genotypes. **Plant physiology and biochemistry : PPB**, v. 74, p. 165–175, 2014.

BONFIG, K. B.; SCHREIBER, U.; GABLER, A.; ROITSCH, T.; BERGER, S. Infection with virulent and avirulent P. syringae strains differentially affects photosynthesis and sink metabolism in Arabidopsis leaves. **Planta**, v. 225, n. 1, p. 1–12, 29 dez. 2006.

BRABANDT, H.; BAURIEGEL, E.; GÄRBER, U.; HERPPICH, W. B. ΦPSII and NPQ to evaluate Bremia lactucae-infection in susceptible and resistant lettuce cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 180, p. 123–129, 17 dez. 2014.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 7 maio 1976.

BRAZ, L. T.; DINIZ, G. M. M.; CASTOLDI, R.; NUNES, R. C.; GALATTI, F. S.; CAMARGO, M.; MARIN, M. V.; DALPIAN, T.; SOUZA, J. O.; GOMES, R. F.; RABELO, H. O. Monitoring races of Bremia lactucae in the State of São Paulo from 2003 to 2012. **Acta Horticulturae**, v. 1127, p. 325–329, 25 nov. 2016.

CARVALHO, L. T. DA S.; PRADO, R. DE M.; SILVA, J. L. F. DA; FERREIRA, P. M.; ANTONIO, R. I. Impact of Nanotechnology from Nanosilica to Mitigate N and P Deficiencies Favoring the Sustainable Cultivation of Sugar Beet. **Nanomaterials 2022, Vol. 12, Page 4038**, v. 12, n. 22, p. 4038, 17 nov. 2022.

CÁSSIA ALVES, R. DE; SANTOS ZUCCO, M. F. DOS; OLIVEIRA, K. R.; CHECCHIO, M. V.; FRANCO, C. A.; KÖRÖSI, K.; GRATÃO, P. L. Seed Priming with Silicon Improves Plant Resistance to Downy Mildew (Bremia lactucae) in Lettuce Seedlings by Intensifying Antioxidant Defense Systems. **Silicon**, v. 14, n. 18, p. 12721–12731, 1 dez. 2022.

CASTOLDI, R.; CHARLO HCO; DALPIAN T; MELO DM; BOTELHO AP;; BRAZ LT. Identification of new Bremia lactucae races in lettuce in São Paulo state. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 209–213, 2012.

CHOU, H. M.; BUNDOCK, N.; ROLFE, S. A.; SCHOLES, J. D. Infection of Arabidopsis thaliana leaves with Albugo candida (white blister rust) causes a reprogramming of host metabolism. **Molecular Plant Pathology**, v. 1, n. 2, p. 99–113, 1 mar. 2000.

CURVÊLO, C. R. DA S.; RODRIGUES, F. Á.; PEREIRA, L. F.; SILVA, L. C.; DAMATTA, F. M.; BERGER, P. G. Trocas gasosas e estresse oxidativo em plantas de algodoeiro supridas com silício e infectadas por Ramularia areola. **Bragantia**, v. 72, n. 4, p. 346–359, 2013.

DEBONA, D.; RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. Silicon's Role in Abiotic and Biotic Plant Stresses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 55, p. 85–107, 2017.

DICKINSON, C. H.; CRUTE, I. R. The influence of seedling age and development on the infection of lettuce by Bremia lactucae. **Annals of Applied Biology**, v. 76, n. 1, p. 49–61, 1 jan. 1974.

DUBOIS, M.; GILLES, K.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. A Colorimetric Method for the Determination of Sugars. **Nature 1951 168:4265**, v. 168, n. 4265, p. 167–167, 1951.

ECKARDT, N. A. Interconnected Metabolism of Host Plants and Obligate Biotrophic Pathogens. **The Plant Cell**, v. 23, n. 7, p. 2475–2475, 1 jul. 2011.

FAGERIA, N. K.; PRABHU, A. S.; HUBER, D. M.; RODRIGUES, F. A. Potassium and pland diseases. *Em*: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. (Eds.). . **Mineral nutrition and plant disease**. Saint Pau: APS PRESS, 2007. p. 57–78.

FALL, M. L.; HEYDEN, H. VAN DER; BEAULIEU, C.; CARISSE, O. Bremia lactucae infection efficiency in lettuce is modulated by temperature and leaf wetness duration under Quebec field conditions. **Plant Disease**, v. 99, n. 7, p. 1010–1019, 5 jun. 2015.

FALL, M. L.; HEYDEN, H. VAN DER; CARISSE, O. A Quantitative Dynamic Simulation of Bremia lactucae Airborne Conidia Concentration above a Lettuce Canopy. **PLOS ONE**, v. 11, n. 3, p. e0144573, 1 mar. 2016.

FAOSTAT. **Lettuce and chicory crop production.** Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QV/visualize>. Acesso em: 17 abr. 2023.

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

FAWE, A.; MENZIES, J. G.; CHÉRIF, M.; BÉLANGER, R. R. Chapter 9 Silicon and disease resistance in dicotyledons. **Studies in Plant Science**, v. 8, n. C, p. 159–169, 1 jan. 2001.

FILGUEIRA, F. A. REIS. Novo manual de olericultura : agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2000.

FORTUNATO, A. A.; RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. Silicon Control of Soil-borne and Seed-borne Diseases. *Em*: RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. (Eds.). . **Silicon and Plant Diseases**. Springer ed. [s.l: s.n.]. p. 53–66.

FURLANI, A. M. C. Nutrição Mineral. *Em*: KERBAUY, G. B. (Ed.). . **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2004. p. 57–58.

GAO, H.; WU, X.; YANG, X.; SUN, M.; XIAO, Y.; PENG, F. Silicon inhibits gummosis in peach via ethylene and PpERF-PpPG1 pathway. **Plant Science**, v. 322, p. 111362, 1 set. 2022.

GASTWIRTH, J. L.; GEL, Y. R.; MIAO, W. The Impact of Levene's Test of Equality of Variances on Statistical Theory and Practice. **https://doi.org/10.1214/09-STS301**, v. 24, n. 3, p. 343–360, 1 ago. 2009.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide Dismutasesl. Occurrence in Higher Plants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309–314, 1 fev. 1977.

GOMES, F. B.; MORAES, J. C. DE; SANTOS, C. D. DOS; GOUSSAIN, M. M. Resistance induction in wheat plants by silicon and aphids. **Scientia Agricola**, v. 62, n. 6, p. 547–551, 1 nov. 2005.

GOUSSAIN, M. M.; MORAES, J. C.; CARVALHO, J. G.; NOGUEIRA, N. L.; MÔNICA, E.; ROSSI, L. **Efeito da Aplicação de Silício em Plantas de Milho no**

Desenvolvimento Biológico da Lagarta-do-Cartucho Spodoptera frugiperda (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)SP Neotropical Entomology. [s.l: s.n.].

GRATÃO, P. L.; MONTEIRO, C. C.; CARVALHO, R. F.; TEZOTTO, T.; PIOTTO, F. A.; PERES, L. E. P.; AZEVEDO, R. A. Biochemical dissection of diageotropica and Never ripe tomato mutants to Cd-stressful conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 56, p. 79–96, 1 jul. 2012.

HAN, Y.; LI, P.; GONG, S.; YANG, L.; WEN, L.; HOU, M. Defense Responses in Rice Induced by Silicon Amendment against Infestation by the Leaf Folder Cnaphalocrocis medinalis. **PLOS ONE**, v. 11, n. 4, p. e0153918, 1 abr. 2016.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189–198, 1 abr. 1968.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants without soil.** (No. 337) ed. [s.l.] The College of Agriculture University of California., 1950.

HUBER, D. M.; WILHELM, N. S. The Role of Manganese in Disease Resistance. *Em*: GRAHAM, R. D.; HANNAM, R. J.; UREN, N. C. (Eds.). . **Manganese in soils and plants**. Australia: KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, 1988. p. 155–167.

HURTADO, A. C.; CHICONATO, D. A.; MELLO PRADO, R. DE; SILVEIRA SOUSA JUNIOR, G. DA; VICIEDO, D. O.; DÍAZ, Y. P.; CALZADA, K. P.; GRATÃO, P. L. Silicon Alleviates Sodium Toxicity in Sorghum and Sunflower Plants by Enhancing Ionic Homeostasis in Roots and Shoots and Increasing Dry Matter Accumulation. **Silicon**, v. 13, n. 2, p. 475–486, 1 fev. 2021.

ILOTT, T. W.; DURGAN, M. E.; MICHELMORE, R. W. Genetics of virulence in Californian population of Bremia lactucae (Lettuce Downy Mildew). **Phytopathology**, v. 77, p. 1381–1386, 1987.

ISLAM, W.; TAUQEER, A.; WAHEED, A.; ALI, H.; ZENG, F. Silicon in plants mitigates damage against pathogens and insect pests. *Em*: PRADO, R. DE M. (Ed.). . **Benefits of Silicon in the Nutrition of Plants** . 1. ed. Berlim: Springer, 2023. v. 1.

JÁKLI, B.; TAVAKOL, E.; TRÄNKNER, M.; SENBAYRAM, M.; DITTERT, K. Quantitative limitations to photosynthesis in K deficient sunflower and their implications on water-use efficiency. **Journal of Plant Physiology**, v. 209, p. 20–30, 1 fev. 2017.

JOBIC, C.; BOISSON, A. M.; GOUT, E.; RASCLE, C.; FÈVRE, M.; COTTON, P.; BLIGNY, R. Metabolic processes and carbon nutrient exchanges between host and pathogen sustain the disease development during sunflower infection by Sclerotinia sclerotiorum. **Planta**, v. 226, n. 1, p. 251–265, 12 jun. 2007.

JONES, L. H. P.; HANDRECK, K. A. Silica In Soils, Plants, and Animals. **Advances in Agronomy**, v. 19, n. C, p. 107–149, 1 jan. 1967.

KHAN, M. R.; SIDDIQUI, Z. A. Use of silicon dioxide nanoparticles for the management of Meloidogyne incognita, Pectobacterium betavasculorum and Rhizoctonia solani disease complex of beetroot (Beta vulgaris L.). **Scientia Horticulturae**, v. 265, p. 109211, 30 abr. 2020.

KORNDÖRFER, G. H.; PEREIRA, H. S.; NOLLA, A. **Análise de silício no solo, planta e fertilizantes**. 2. ed. [s.l.] UFU, 2004.

KRASKA, J. E.; BREITENBECK, G. A. Simple, Robust Method for Quantifying Silicon in Plant Tissue. **http://dx.doi.org/10.1080/00103624.2010.498537**, v. 41, n. 17, p. 2075–2085, 2010.

KRESZIES, T.; KRESZIES, V.; LY, F.; THANGAMANI, P. D.; SHELLAKKUTTI, N.; SCHREIBER, L. Suberized transport barriers in plant roots: the effect of silicon. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 21, p. 6799–6806, 2 dez. 2020.

LAW, C.; EXLEY, C. New insight into silica deposition in horsetail (Equisetum arvense). **BMC Plant Biology**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 29 jul. 2011.

LEBEDA A; PETRŽELOVÁ I. Screening for resistance to lettuce downy mildew (Bremia lactucae). *Em*: MIRANDA M; LEBEDA A (Eds.). . **Mass screening techniques for selecting crops resistant to diseases**. Vienna: International Atomic Energy Agency, 2010. p. 245–256.

LEBEDA, A.; PINK, D. A. C.; ASTLEY, D. Aspects of the Interactions between Wild Lactuca Spp. and Related Genera and Lettuce Downy Mildew (Bremia Lactucae). **Advances in Downy Mildew Research**, p. 85–117, 28 dez. 2002.

LEBEDA, A.; SEDLÁŘOVÁ, M.; PETŘIVALSKÝ, M.; PROKOPOVÁ, J. Diversity of defence mechanisms in plant-oomycete interactions: A case study of Lactuca spp. and Bremia lactucae. **European Journal of Plant Pathology**, v. 122, n. 1, p. 71–89, set. 2008.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, n. C, p. 350–382, 1 jan. 1987.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C.; KNAPP, M. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio R Fd of leaves with the PAM fluorometer. **PHOTOSYNTHETICA**, v. 43, n. 3, p. 379–393, 2005.

LIMA, M. DE A.; CASTRO, V. F. DE; VIDAL, J. B.; ENÉAS-FILHO, J. Aplicação de silício em milho e feijão-de-corda sob estresse salino. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 398–403, 2011.

MANDAL, K.; SARAVANAN, R.; MAITI, S.; KOTHARI, I. L. Effect of downy mildew disease on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in Plantago ovata Forsk. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 116, n. 4, p. 164–168, 31 mar. 2009.

MANSOOR, S.; WANI, O. A.; LONE, J. K.; MANHAS, S.; KOUR, N.; ALAM, P.; AHMAD, A.; AHMAD, P. Reactive Oxygen Species in Plants: From Source to Sink. **Antioxidants 2022, Vol. 11, Page 225**, v. 11, n. 2, p. 225, 25 jan. 2022.

MARIN, M. V.; FRANCO, C. A.; SMILDE, D.; PANIZZI, R. C.; BRAZ, L. T. Distribution of races and virulence factors of Bremia lactucae in the main lettuce production area in Brazil. **Journal of Plant Pathology**, v. 102, n. 2, p. 395–407, 2020.

MELOTTO, M.; UNDERWOOD, W.; KOCZAN, J.; NOMURA, K.; HE, S. Y. Plant Stomata Function in Innate Immunity against Bacterial Invasion. **Cell**, v. 126, n. 5, p. 969–980, 8 set. 2006.

MÉTRAUX, J. P. Systemic Acquired Resistance. **Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition**, p. 627–629, 1 jan. 2013.

MICHELMORE, R.; WONG, J. Classical and molecular genetics of Bremia lactucae, cause of lettuce downy mildew. **European Journal of Plant Pathology**, v. 122, n. 1, p. 19–30, set. 2008.

MICHELMORE RW; ILOTT TW; HULBERT SH; FARRARA BF. The downy mildews. **Genetics of Plant Pathogenic Fungi**, v. 6, p. 53–79, 1988.

MITANI, N.; JIAN, F. M. Uptake system of silicon in different plant species. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 414, p. 1255–1261, 1 abr. 2005.

MOLDES, C. A.; MEDICI, L. O.; ABRAHÃO, O. S.; TSAI, S. M.; AZEVEDO, R. A. Biochemical responses of glyphosate resistant and susceptible soybean plants exposed to glyphosate. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 30, n. 4, p. 469–479, 13 jul. 2008.

MORALES, R. G. F.; SANTOS, I. DOS; TOMAZELI, V. N. Influência da nutrição mineral foliar sobre doenças da parte aérea da cultura do trigo. **Revista Ceres**, v. 59, n. 1, p. 71–76, jan. 2012.

MORIONDO, M.; ORLANDINI, S.; GIUNTOLI, A.; BINDI, M. The Effect of Downy and Powdery Mildew on Grapevine (Vitis vinifera L.) Leaf Gas Exchange. **Journal of Phytopathology**, v. 153, n. 6, p. 350–357, 1 jun. 2005.

NOLLA, A.; KORNDÖRFER, G. H.; COELHO, L. Efficiency of calcium silicate and carbonate in soybean disease control. **Journal of Plant Nutrition**, v. 29, n. 11, p. 2049–2061, 1 nov. 2006.

POZO, J.; URRESTARAZU, M.; MORALES, I.; ANCHEZ, J. S.; SANTOS, M.; DIANEZ, F.; ALVARO, J. E. **Effects of Silicon in the Nutrient Solution for Three Horticultural Plant Families on the Vegetative Growth, Cuticle, and Protection Against Botrytis cinereaHORTSCIENCE**. [s.l: s.n.].

PRADO, R. D. M. **Mineral nutrition of tropical plants**. (1st ed.) ed. [s.l.] Springer International Publishing, 2021.

PRADO, R. DE M. Benefits of Silicon in the Nutrition of Plants. **Benefits of Silicon in the Nutrition of Plants**, p. 1–378, 1 jan. 2023.

RESENDE, R. S.; RODRIGUES, F. Á.; CAVATTE, P. C.; MARTINS, S. C. V.; MOREIRA, W. R.; CHAVES, A. R. M.; DAMATTA, F. M. Leaf Gas Exchange and Oxidative Stress in Sorghum Plants Supplied with Silicon and Infected by Colletotrichum sublineolum. **http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-01-12-0014-R**, v. 102, n. 9, p. 892–898, 10 ago. 2012.

RODRIGUES, F. A.; RESENDE, R. S.; DALLAGNOL, L. J.; DATNOFF, L. E. Silicon potentiates host defense mechanisms against infection by plant pathogens. *Em*: RODRIGUES, F. , D. L. (Ed.). . **Silicon and Plant Diseases**. [s.l.] Springer International Publishing, 2015. p. 109–138.

RÖMHELD, V.; KIRKBY, E. A. Research on potassium in agriculture: Needs and prospects. **Plant and Soil**, v. 335, n. 1, p. 155–180, 27 ago. 2010.

ROYSTON, P. A Remark on Algorithm as 181: The W-Test for Normality. **Journal of the Royal Statistical Society: Series C (Applied Statistics)**, v. 44, n. 4, p. 547–551, 1 dez. 1995.

RYDER, E. J. Lettuce, endive, and chicory. p. 208, 1999.

SAKR, N. The role of silicon (Si) in increasing plant resistance against fungal diseases. **Hellenic Plant Protection Journal**, v. 9, n. 1, p. 1–15, 1 jan. 2016.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. Melhoramento de alface. *Em*: NICK, C.; BORÉM, A. (Eds.). . **Melhoramento de hortaliças**. Viçosa: UFV, 2016. p. 95–127.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. DA. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 187–194, abr. 2012.

SATHE, A. P. *et al.* Role of silicon in elevating resistance against sheath blight and blast diseases in rice (Oryza sativa L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 166, p. 128–139, 1 set. 2021.

SCHARTE, J.; SCHÖN, H.; WEIS, E. Photosynthesis and carbohydrate metabolism in tobacco leaves during an incompatible interaction with Phytophthora nicotianae. **Plant, Cell & Environment**, v. 28, n. 11, p. 1421–1435, 1 nov. 2005.

SEDLÁŘOVÁ, M.; LUHOVÁ, L.; PETŘIVALSKÝ, M.; LEBEDA, A. Localisation and metabolism of reactive oxygen species during Bremia lactucae pathogenesis in Lactuca sativa and wild Lactuca spp. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 45, n. 8, p. 607–616, 1 ago. 2007.

SILVA, D. L. DA; MELLO PRADO, R. DE; TENESACA, L. F. L.; SILVA, J. L. F. DA; MATTIUZ, B.-H. Silicon attenuates calcium deficiency by increasing ascorbic acid content, growth and quality of cabbage leaves. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1770, 19 dez. 2021.

SILVA, J. L. F. DA; PRADO, R. DE M.; ALVES, T. L.; LATA-TENESACA, L. F.; SOARES, M. B. New strategy for silicon supply through fertigation in sugarcane integrating the pre-sprouted seedling phase and field cultivation. **Scientific Reports 2023 13:1**, v. 13, n. 1, p. 1–10, 21 jan. 2023.

SILVA, J. S. DA; SILVA PAZ, V. P. DA; SOARES, T. M.; ALMEIDA, W. F. DE; FERNANDES, J. P. Production of lettuce with brackish water in NFT hydroponic system. **Semina:Ciencias Agrarias**, v. 39, n. 3, p. 947–962, 1 maio 2018.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1 jan. 1965.

SONG, X. P.; VERMA, K. K.; TIAN, D. D.; ZHANG, X. Q.; LIANG, Y. J.; HUANG, X.; LI, C. N.; LI, Y. R. Exploration of silicon functions to integrate with biotic stress tolerance and crop improvement. **Biological Research 2021 54:1**, v. 54, n. 1, p. 1–12, 8 jul. 2021.

SOUZA ALONSO, T. A. DE; SILVA, D. L. DA; MELLO PRADO, R. DE; SOARES, P. L. M.; TENESACA, L. F. L.; FERREIRA, R. J. Silicon promotes the control of Meloidogyne incognita in lettuce by increasing ascorbic acid and phenolic compounds. **Journal of Pest Science**, p. 1–14, 8 jan. 2022.

SOUZA, L. N.; MARIN, M. V.; FRANCO, C. A.; SILVA, E. H. C.; CAPRIO, C. H.; PANIZZI, R. C.; BRAZ, L. T.; LEBEDA, A. Monitoring virulence and sexual compatibility in Brazilian Bremia lactucae populations. **Plant Pathology**, v. 71, n. 2, p. 446–457, 1 fev. 2022.

SOUZA OSÓRIO, C. R. W.; TEIXEIRA, G. C. M.; BARRETO, R. F.; CAMPOS, C. N. S.; LEAL, A. J. F.; TEODORO, P. E.; MELLO PRADO, R. DE. Macronutrient deficiency in snap bean considering physiological, nutritional, and growth aspects. **PLOS ONE**, v. 15, n. 6, p. e0234512, 1 jun. 2020.

SU, H.; BRUGGEN, A. H. C. VAN; SUBBARAO, K. V.; SCHERM, H. Sporulation of Bremia lactucae Affected by Temperature, Relative Humidity, and Wind in Controlled Conditions. **https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.4.396**, v. 94, n. 4, p. 396–401, 5 fev. 2007.

VALE FXR; JESUS JR WC; LIBERATO JR; SOUZA CA. Natureza das Epidemias. *Em*: VALE FXR; JESUS JR WC; ZAMBOLIM L (Eds.). . **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas.** Belo Horizonte: Editora Perffil, 2004. p. 21–46.

WANG, L.; NING, C.; PAN, T.; CAI, K. Role of Silica Nanoparticles in Abiotic and Biotic Stress Tolerance in Plants: A Review. **International Journal of Molecular Sciences 2022, Vol. 23, Page 1947**, v. 23, n. 4, p. 1947, 9 fev. 2022.

WANG, M.; ZHENG, Q.; SHEN, Q.; GUO, S. The Critical Role of Potassium in Plant Stress Response. **International Journal of Molecular Sciences 2013, Vol. 14, Pages 7370-7390**, v. 14, n. 4, p. 7370–7390, 2 abr. 2013.

WANG, R.; GAO, M.; JI, S.; WANG, S.; MENG, Y.; ZHOU, Z. Carbon allocation, osmotic adjustment, antioxidant capacity and growth in cotton under long-term soil drought during flowering and boll-forming period. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 107, p. 137–146, 1 out. 2016.

WHAN, J. A.; DANN, E. K.; AITKEN, E. A. B. Effects of silicon treatment and inoculation with Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum on cellular defences in root tissues of two cotton cultivars. **Annals of Botany**, v. 118, n. 2, p. 219–226, 1 ago. 2016.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C.; RICKETTS, R. E. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, n. 948, p. 209–214, 1 jan. 1955.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A.; ZANÃO JUNIOR, L. A. **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. Viçosa, MG: [s.n.].

ZELLNER, W.; TUBAÑA, B.; RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. Silicon's Role in Plant Stress Reduction and Why This Element Is Not Used Routinely for Managing Plant Health. **Plant Disease**, v. 105, n. 8, 1 ago. 2021.

ZÖRB, C.; SENBAYRAM, M.; PEITER, E. Potassium in agriculture – Status and perspectives. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, n. 9, p. 656–669, 15 maio 2014.

CAPÍTULO 2 - Silício aplicado via fertirrigação e foliar como atenuador da *Bremia lactucae* em alface

RESUMO - O míldio da alface causado por *Bremia lactucae* é uma das doenças que mais causa perdas na produção de alface em todo o mundo. Uma abordagem sustentável para o controle desta doença seria a indução da resistência sistêmica adquirida com o fornecimento de Si, mas as pesquisas sobre esse tema são escassas. Para isso, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar se o Si atenua os danos causados pelo patógeno *B. lactucae* em plantas de alface e os mecanismos de defesa envolvidos. A pesquisa foi realizada em condição controlada com plantas de alface cultivada em vasos com areia a partir de dois experimentos arranjados em esquema fatorial 2x2. Para o experimento I os tratamentos foram: ausência (sem inoculação) e presença do patógeno (1,0 x 10^4 esporângios por mL^{-1}) combinado com a ausência (-Si) (0 mmol L^{-1}) e a presença de Si (+Si) via fertirrigação (2,0 mmol L^{-1} de Si) complementado com aplicação foliar (8,0 mmol L^{-1} de Si). Para o experimento II, os tratamentos foram: ausência (sem inoculação) e a presença de patógeno (1,0 x 10^4 esporângios por mL^{-1}) combinado com a ausência (-Si) (0 mmol L^{-1}) e presença de Si (+Si) apenas via fertirrigação (2,0 mmol L^{-1}). As análises realizadas foram: teor de Si, produção de massa seca e fresca das plantas, eficiência quântica do fotossistema II, fenóis totais, índice de firmeza, teor de clorofila e carotenoides, teores de açúcares e aminoácidos totais, atividades das enzimas SOD, APX e GPX e a severidade da doença. Realizamos análise multivariada (PCA, mapa de calor com agrupamento hierárquico, coordenadas paralelas e matriz de correlação par a par) de forma independente no R. O estresse oxidativo causado pelo míldio em plantas de alface causa danos ao metabolismo fisiológico e o crescimento da planta e o uso do Si atenua o efeito destes danos por favorecer os mecanismos de defesa da planta ao ativar o sistema antioxidante e incrementar a capacidade fotossintética e a produção de metabólitos. Este trabalho inclui uma estratégia sustentável a partir do uso do Si para o controle do míldio em plantas de alface.

Palavras-chave: Antioxidante, Estresse biótico, metabólitos, míldio da alface.

Silicon applied via fertigation and foliar as an attenuator of *Bremia lactucae* in lettuce

ABSTRACT - Lettuce downy mildew caused by *Bremia lactucae* is one of the diseases that causes the most losses in lettuce production worldwide. A sustainable approach to control this disease would be the induction of systemic resistance acquired through the supply of Si, but research on this topic is scarce. To this end, this work was carried out with the aim of evaluating whether Si attenuates the damage caused by the pathogen *B. lactucea* in lettuce plants and the defense mechanisms involved. The research was carried out in controlled conditions with lettuce plants grown in pots with sand from two experiments arranged in a factorial scheme 2x2. For experiment I, the treatments were: absence (without inoculation) and presence of the pathogen (1,0 x 10^4 sporangia by mL^{-1}) combined with the absence (-Si) (0 mmol L^{-1}) and the presence of Si (+Si) via fertigation (2,0 mmol L^{-1} of Si) complemented with foliar application (8,0 mmol L^{-1} of Si). For experiment II, the treatments were: absence (without inoculation) and presence of pathogen (1,0 x 10^4 sporangia by mL^{-1}) combined with the absence (-Si) (0 mmol L^{-1}) and presence of Si (+Si) only via fertigation (2,0 mmol L^{-1}). The analyzes carried out were Si content, production of dry and fresh mass of plants, quantum efficiency of photosystem II, total phenols, firmness index, chlorophyll and carotenoid content, total sugar and amino acid content, activities of SOD, APX enzymes and GPX and disease severity. a multivariate analysis (PCA, hierarchical-clustering heatmap, parallel coordinates, pairwise correlation matrix) was performed independently in R. Oxidative stress caused by downy mildew in lettuce plants causes damage to the physiological metabolism and growth of the plant and the use of Si attenuates the effect of this damage by favoring the plant's defense mechanisms by activating the antioxidant system and increasing photosynthetic capacity and production of metabolites. This work includes a sustainable strategy using Si to control downy mildew in lettuce plants.

Keywords: Antioxidant, biotic stress, metabolites, lettuce downy mildew

1 Introdução

O míldio da alface, cujo agente causal é o oomiceto biotrófico obrigatório *Bremia lactucae* Regel, é uma das doenças mais significativas desta cultura (Lebeda, Pink e Astley, 2002; Michelmore e Wong, 2008). Esse patógeno coloniza a epiderme das folhas pelas hifas intercelulares promovendo danos no metabolismo da planta especialmente na fase fotoquímica da fotossíntese (Lebeda A e Petrželová I, 2010). Isso ocorre porque o patógeno promove estresse oxidativo causando a morte celular na região da infecção devido ao excesso de espécies reativas de oxigênio (ERO) funcionando como estratégia para diminuir o avanço do patógeno na planta (Curvêlo *et al.*, 2013), mas isso é pouco estudado em *B. lactucae* em plantas de alface (Lebeda *et al.*, 2008). No início da infecção de *B. lactucae* em condições ambientais ótimas para o patógeno, ainda sem sintoma visível já é possível verificar prejuízos na eficiência quântica do fotossistema II (Brabandt *et al.*, 2014) e pode levar a menores teores de açúcares solúveis visto em plantas de *Plantago ovata* com míldio (Mandal *et al.*, 2009), possivelmente devido a diminuição da taxa fotossintética.

Para evitar avanço da doença nas plantas de alface existem diferentes mecanismos conhecidos, sendo mais usual o uso de produtos fitossanitários e cultivares resistentes. A alta frequência de uso de fungicidas, embora poucos sejam registrados para a alface, pode induzir resistência ao patógeno e haver persistência de resíduos no ambiente e risco a saúde do consumidor, pois trata-se de uma espécie de ciclo de produção muito curto. Por outro lado, o uso de cultivares com razoável longevidade de resistência a essa doença tem forte limitação pois o patógeno possui grande variabilidade genética, genes de resistência ou fatores de resistência identificados são frequentemente específicos da raça, e sua resistência é frequentemente quebrada devido à exposição contínua ao patógeno, o que torna esses genes rapidamente ineficazes (Braz *et al.*, 2016; Michelmore RW *et al.*, 1988).

Dessa forma, diante da pressão para produção da alface livre de produtos fitossanitários busca-se estratégias sustentáveis que possa contribuir para o controle da *B. lactucae* na cultura e proporcione aumento na segurança para o consumidor, sendo utilizado indutores de resistência que envolvem a ativação de mecanismos de defesa existentes nas plantas. Entre estes, insere-se o silício (Si), um elemento

benéfico que melhora o crescimento das plantas sob estresses bióticos (Debona, Rodrigues e Datnoff, 2017; Islam *et al.*, 2023; Wang *et al.*, 2022).

O Si proporciona efeitos importantes, um seria o físico, constituindo uma barreira mecânica ao aumentar a rigidez estrutural dos tecidos foliares (Silva *et al.*, 2021) que prejudicaria processo de infecção foliar do patógeno. Isso se deve ao processo de biossilificação a partir da deposição de sílica (SiO_2 n.H_2O) abaixo da cutícula na parede celular das células da epiderme visto em muitas espécies, especialmente em poáceas como milho (Goussain *et al.*, 2002) e arroz (Sathe *et al.*, 2021). Esse processo de biossilicificação ocorre a partir de uma solução insaturada de Si $(OH)_4$ [Si ≤ 2 mM) onde a calose poderia induzir Si $(OH)_4$ a se autocondensar e formar sílica amorfa (Law e Exley, 2011). Existem dúvidas se esse nível de biossilicificação em plantas de alface possa aumentar o nível de rigidez na folha o suficiente para diminuir a penetração do patógeno na folha e a evolução da doença, fatos que necessitam serem pesquisados.

O outro efeito do Si como atenuador de doença é o bioquímico, pois como há o acúmulo de ERO sob o estresse, as plantas são capazes de desintoxicar a oxidação excessiva por complexos mecanismos enzimáticos (Mansoor *et al.*, 2022), incluindo as enzimas SOD, APX e GPX (Cássia Alves, de *et al.*, 2022) e não enzimáticos a partir do aumento de compostos antioxidantes como os carotenoides e compostos fenólicos visto em plantas de trigo (Gomes *et al.*, 2005). Inclusive esses compostos antioxidantes podem diminuir por serem metabolizados formando outros compostos visto em plantas de algodão suscetíveis a *Fusarium oxysporum* (Whan, Dann e Aitken, 2016).

O Si, ao melhorar o metabolismo antioxidante (Han *et al.*, 2016) em plantas com estresse tem-se a preservação dos pigmentos fotossintéticos (Lima *et al.*, 2011) favorecendo o aparato fotossintético. Inclusive é possível a formação de compostos inibitórios para o patógeno pelo fato do Si induzir aumento da transcrição de genes específicos e ser sinalizador na biossíntese de fitoalexinas, e fenilpropanóides (Fawe *et al.*, 2001; Nolla, Korndörfer e Coelho, 2006).

Os estudos com Si na atenuação de estresse se concentram em espécies consideradas acumuladoras de Si em relação as plantas não acumuladoras (<5 g kg^{-1}) como a cultura da alface (Jones e Handreck, 1967). Essa hortaliça tem absorção de

Si relativamente baixa e a maior parte do elemento benéfico na planta concentra-se nas raízes. Uma estratégia para aumentar o acúmulo do Si nas folhas de plantas não acumuladoras do elemento é combinar seu fornecimento via raiz e folha pois tem relatos indicando que diminui estresses abióticos na planta (Hurtado *et al.*, 2021) e possivelmente poderia atenuar estresse biótico ao melhorar sua ação benéfica, mas isso precisa ser comprovado. As informações sobre os efeitos promissores do Si em doenças das plantas são conhecidas para muitas culturas (Fortunato, Rodrigues e Datnoff, 2015; Rodrigues *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2013), incluindo a cultura da alface diminuindo a incidência da *Botrytis cinerea* (Pozo *et al.*, 2015) e *Meloidogyne incognita* (Souza Alonso *et al.*, 2022). No entanto, faltam estudos relacionando o efeito isolado do Si na severidade da *B. lactucae* em plantas de alface.

Para maior compreensão dos mecanismos de ação do Si no míldio da cultura da alface é importante conhecer antes a extensão dos danos fisiológicos dessa doença na hortaliça que é pouco conhecido e por ser espécie que tem restrição para absorção deste elemento é urgente esforços da pesquisa para aumentar conteúdo deste elemento nas folhas.

Neste cenário, hipotetizamos que (a) a inoculação com *B. lactucae* em plantas de alface diminui o crescimento da cultura porque é capaz de promover o estresse oxidativo diminuindo rigidez dos tecidos e o teor de compostos inibidores do patógeno e ainda prejudica aspectos fisiológicos da cultura; (b) o uso do Si é suficiente para diminuir a severidade da *B. lactucae* da alface, especialmente se houver maior absorção do elemento ao combinar a aplicação via radicular com a via foliar; (c) Se isso ocorrer a expectativa é que os mecanismos de ação do Si para o controle da doença se deve a diminuição do estresse oxidativo ao aumentar compostos antioxidantes e ao mesmo tempo tem-se a biossilificação e maior rigidez dos tecidos foliares e a manutenção da eficiência fotossintética, favorecendo a produção de aminoácidos e açúcares totais.

Sendo aceitas essas hipóteses será comprovado o papel do Si para a atenuação da *B. lactucae* em plantas de alface, portanto, recomenda-se a inclusão deste elemento no sistema de produção da hortaliça para garantir o cultivo sustentável da cultura sem risco ao ambiente e ao consumidor beneficiando parte importante da

população mundial dada a ampla distribuição do cultivo desta hortaliça em muitos países.

Assim, realizou-se esse trabalho com o objetivo de avaliar a reação da alface ao ataque do patógeno *B. lactucea,* após a aplicação do Si, e se o Si atenua os danos causados pelo patógeno e desvendar os mecanismos de ação envolvidos.

2 Material e métodos

2.1 Preparo do inóculo e condições de crescimento

O trabalho foi realizado na Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal. Foi utilizado um inóculo da raça SPBI:01 de *Bremia lactucae*, que foi multiplicado usando sementes da alface cultivar Solaris do tipo crespa, que apresenta suscetibilidade ao patógeno (Castoldi *et al.*, 2012). Essa mesma cultivar foi utilizada na condução dos experimentos.

Foram realizados dois experimentos, ambos foram conduzidos em duas fases: uma na fase de formação e crescimento das plantas em casa de vegetação, e outra após o crescimento das plantas, com a inoculação do patógeno em câmara úmida, sendo fornecido o Si em ambas as fases. Os dados de temperatura e de umidade relativa do ar no interior da casa de vegetação e da câmara úmida foram registrados diariamente durante o desenvolvimento dos experimentos com o auxílio de um termo-higrômetro (U23-001, Sigma Sensors, Brasil) (Figura 1).

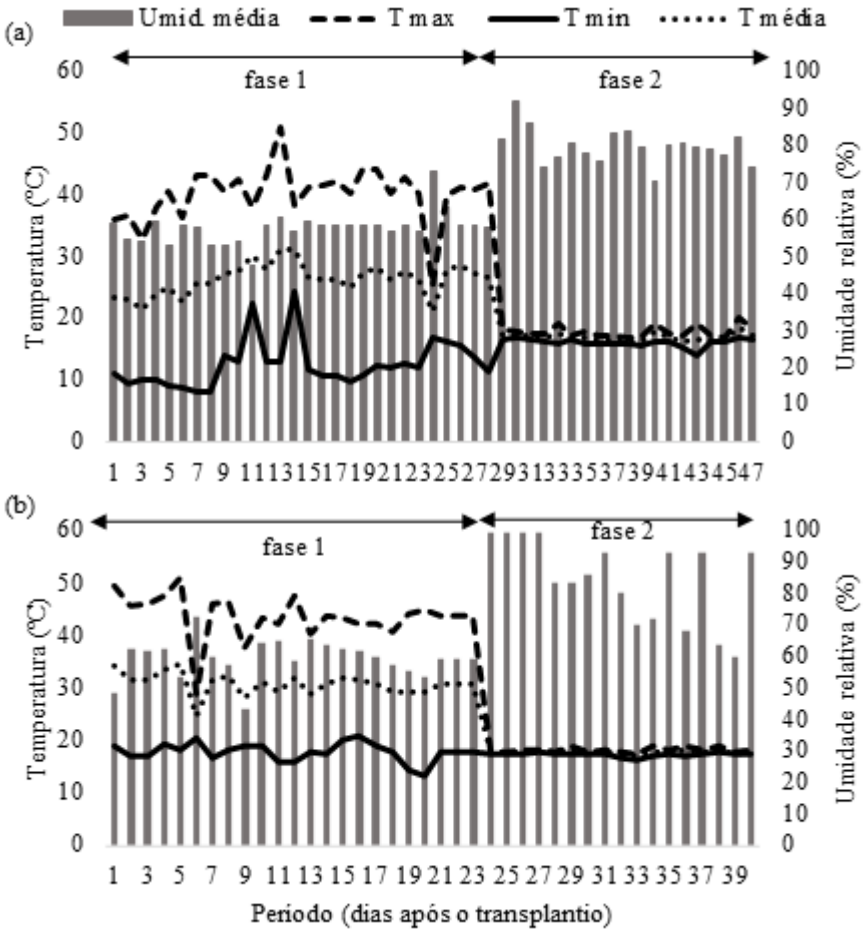


Figura 1. Temperatura máxima (T max), mínima (T min) e média (T média), e umidade relativa (Umid. média) do ar na casa de vegetação (fase 1) e na câmara úmida (fase 2), durante o período do experimento I (a) e II (b).

2.2 Delineamento experimental

Em ambos os experimentos, os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2x2, dispostos em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições.

Para o experimento I os tratamentos foram: ausência de patógeno (sem inoculação) e presença de patógeno (1,0 x 10^4 esporângios por mL^{-1}) combinado com a ausência de silício (-Si) (0 mmol L^{-1}) e a presença de silício (+Si) (2,0 mmol L^{-1} de Si) aplicado via fertirrigação na superfície do vaso e complementado com pulverização foliar (8,0 mmol L^{-1} de Si). Foram realizadas 3 aplicações foliares, com intervalos de 4 dias. Utilizou-se como fonte de Si o silicato de potássio (128 g L^{-1} Si e 126 g L^{-1} K_2O, pH 12); sendo realizado o equilíbrio da quantidade de potássio presente na fonte do

fertilizante silicatado no tratamento que não recebeu o elemento (-Si), utilizando uma solução de cloreto de potássio.

Para o experimento II, os tratamentos foram: ausência de patógeno (sem inoculação) e a presença de patógeno (1,0 x 10^4 esporângios por mL^{-1}) combinado com a ausência (-Si) (0 mmol L^{-1}) e presença de Si (+Si) (2,0 mmol L^{-1}) aplicado apenas via fertirrigação na superfície do vaso. Utilizou-se da fonte nanosílica (Si: 168,3 g/L; área superficial específica: 300m2/g; pH: 10,5; Densidade: 1,2 g cm^{-3}; Na2O: 0,5%; Viscosidade: 7cP).

Realizou-se fornecimento contínuo da solução nutritiva de (Hoagland e Arnon, 1950), tendo a força iônica da solução aumentada gradativamente iniciando com 10% e a partir de 20 dias após o transplantio atingiu 100% permanecendo até final do experimento, sendo feito lixiviação do substrato para evitar salinização. O valor do pH da solução nutritiva foi ajustado para 5,5±0,2.

As aplicações foliares foram realizadas com auxílio de um pulverizador manual, sendo utilizado água deionizada para o preparo da solução, que foi realizada momentos antes da pulverização com Si, e o valor pH ajustado em 6,5±0,2.

A unidade experimental constitui em uma planta em um vaso de 3,8 dm^3 preenchido com areia lavada em ambos os experimentos. Inicialmente realizou-se a semeadura da alface cultivar Solaris em bandejas de plástico de 72 células contendo vermiculita. O transplantio das mudas para o vaso foi realizado 29 e 33 dias após a semeadura para o experimento I e II, respectivamente.

As plantas foram expostas ao patógeno por 18 e 13 dias para o experimento I e II, respectivamente. O patógeno foi inoculado nas plantas de acordo com a técnica de (Ilott, Durgan e Michelmore, 1987), utilizando-se de esporângios lavados de tecidos infectados do hospedeiro e agitados em água deionizada. A concentração do inóculo foi ajustada para 1,0 x 10^4 esporângios por mL^{-1} com a contagem dos esporângios em Câmera de Neubauer com o uso de microscópio óptico (Marin *et al.*, 2020).

2.3 Análises

2.3.1 Análise de silício

O teor de Si na parte aérea e na raiz foi determinado a partir da massa seca, de acordo com a metodologia descrita por Kraska e Breitenbeck (Kraska e Breitenbeck, 2010), a qual consiste no método da digestão úmida, pela adição de

peróxido de hidrogênio e hidróxido de sódio, com a reação induzida em estufa a 120°C. A leitura do extrato foi realizada em espectrofotômetro (B442, Micronal®, Brasil) a 410 nm (Korndörfer, Pereira e Nolla, 2004).

2.3.2 Produção de massa fresca e seca das plantas

As plantas foram separadas em parte aérea e raiz, posteriormente realizou-se a pesagem utilizando a balança analítica (precisão de 0,001 g) para a obtenção da massa fresca.

Para a realização da análise de massa seca, as plantas foram lavadas em água corrente, solução detergente (0,1% v/v), solução de ácido clorídrico (0,3% v/v) e água deionizada. O material vegetal foi seco em estufa de circulação forçada de ar (65±5°C), até atingir massa constante e em seguida obteve-se a massa seca da parte aérea e da raiz das plantas.

2.3.3 Eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm)

Foi realizada a leitura das medidas fotossintéticas da eficiência quântica do fotossistema II (PSII), na primeira folha completamente desenvolvida usando um fluorômetro portátil (Os30P +, Opti-Sciences Inc., EUA) (Lichtenthaler, Buschmann e Knapp, 2005).

2.3.4 Determinação dos teores de fenóis totais

Os teores de fenóis totais foram determinados segundo o método proposto por Singleton e Rossi (Singleton e Rossi, 1965). Para a extração 0,1 g de folhas frescas foram coletados (discos foliares), e transferidos para tubos tipo falcon, com capacidade para 15 mL, e envoltos com papel alumínio (a extração e a reação colorimétrica ocorreram no escuro), foram adicionados 2 mL de metanol concentrado, e aquecidas em banho-maria a 25°C, por 3 horas. Posteriormente, as amostras foram filtradas e adicionados 3 mL da solução de metanol. Para a reação colorimétrica, 1 mL do extrato filtrado foi coletado e transferido para um tubo tipo falcon com capacidade para 15 mL, foram envoltos em papel alumínio, o volume foi completado com adição de 10 mL de água deionizada e 0,5 mL de Folin-Ciocauteau 2 N. A solução foi mantida em repouso por 3 minutos. Logo após decorrido o tempo, foram adicionados 1,5 mL

de carbonato de sódio 20%, devendo permanecer em repouso por 2 horas. Após esse período foi realizada leitura em espectrofotômetro a 765 nm.

2.3.5 Quantificação de clorofila e de carotenoides

A quantificação dos pigmentos de clorofila e de carotenoides foi realizada pesando-se 0,025 g das folhas e com a extração de acordo com a metodologia proposta por Lichtenthaler (Lichtenthaler, 1987), com leituras a 663 nm para a clorofila a (Chl a), 647 nm para a clorofila b (Chl b) e 470 nm para carotenoides, realizadas em espectrofotômetro de Beckman DU 640, sendo os teores definidos com base na massa fresca.

2.3.6 Índice de firmeza

O índice de firmeza das folhas foi obtido realizando uma leve perfuração na primeira folha completamente desenvolvida usando um penetrômetro digital (Fruit firmness tester, Tr®, Itália), realizou-se três leituras para obtenção da média, os resultados foram expressos em Newton (N).

2.3.7 Teores de açúcares e aminoácidos totais

Foi realizada a extração de 0,100 g de material vegetal com metanol e clorofórmio, a fase aquosa da extração foi usada para a determinação dos teores de açúcares e aminoácidos totais. Foi utilizado o método do fenol sulfúrico para a determinação dos teores de açúcares solúveis totais (Dubois *et al.*, 1951). Foi utilizado o método de Yemm e Cocking (Yemm, Cocking e Ricketts, 1955) para quantificar os teores de aminoácidos solúveis totais.

2.3.8 Teor de malonaldeído (MDA)

Para determinação do teor de MDA, utilizou-se a estimativa do conteúdo de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, conforme descrito por Heath e Packer (Heath e Packer, 1968). O conteúdo de malondialdeído foi determinada em espectrofotômetro (DU640, Beckman, USA) a 535 e 600 nm. Os dados foram calculados utilizando um coeficiente de extinção de 1,55 x 10^{-5} mol^{-1} cm^{-1} (Gratão *et al.*, 2012), sendo apresentados em nMol g^{-1} de MF.

2.3.9 Sistema de defesa enzimático contra estresse oxidativo

Para realizar a análise enzimática, inicialmente foi realizada a quantificação das proteínas totais. Para isso, as amostras foram maceradas em N_2 líquido, homogeneizadas em tampão de extração contendo 100 mmol·L^{-1} de tampão fosfato de potássio (pH 7,5), 1 mmol·L^{-1} de ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), 3 mmol·L^{-1} de DL-ditiotreitol e 5% (p/v) polivinilpolipirrolidona insolúvel (Boaretto *et al.*, 2014). O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 xg por 30 minutos, e o sobrenadante foi armazenado a -80 ° C para análises posteriores. A concentração de proteínas totais foi determinada seguindo o método de Bradford (Bradford, 1976).

2.3.9.1 Superóxido dismutase (SOD; EC 1.15.1.1)

A atividade da superóxido dismutase foi determinada a partir da medida da inibição da redução fotoquímica do cloreto de nitro azul tetrazólio, que foi realizado em uma câmara de reação iluminada por uma lâmpada fluorescente de 15W, a 25°C, seguindo Giannopolitis e Ries (Giannopolitis e Ries, 1977). A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 560 nm e os resultados foram expressos em SOD U mg^{-1} de proteína.

2.3.9.2 Ascorbato Peroxidase (APX; EC 1.11.1.11)

A atividade da ascorbato peroxidade foi determinado a partir do monitoramento da ascorbato em 290 nm (Moldes *et al.*, 2008). Os resultados foram expressos em nMol de ascorbato mim^{-1} mg^{-1} de proteína.

2.3.9.3 Glutationa Peroxidase (GPX; EC 1.11.1.9)

A atividade da GPX foi determinada pela adição de extrato vegetal a um meio de reação consistindo em fosfato de potássio 100 mM tampão (pH 7,0), 3 mM de EDTA, 0,24 U GR/mL, 10 mM de GSH. Essa mistura foi incubada a 37°C por 10 minutos. A reação foi catalisada pela adição de 1,5 mM de NADPH e 1,5 mM de H_2O_2. A oxidação do NADPH foi monitorada por 5 min a 340 nm. A atividade da enzima foi calculada usando o coeficiente de extinção molar de 6,22 mM^{-1} cm^{-1} (Anderson e Davis, 2004) . Os resultados da leitura de GPX foram expressos em µmol min^{-1} mg^{-1} de proteína.

2.3.10 Análise da doença

Para avaliação da severidade da doença foi empregado uma escala diagramática com notas de 0 a 3, onde: 0 (ausência de esporangióforos visíveis nas folhas), 1 (esporulação limitada com esporangióforos esporádicos), 2 (menos de 50% da folha coberta por esporangióforos), e 3 (mais de 50% da área da folha coberta por esporangióforos) (Dickinson e Crute, 1974).

2.4 Análise estatística

Os dados foram submetidos a testes de preposição (normalidade de Shapiro-Wilk e homogeneidade de Levene) (Royston, 1995) (Gastwirth, Gel e Miao, 2009) e, posteriormente, análise de variância ($p < 0,05$) e teste de Student (LSD) ($p \leq 0,05$). Cabe destacar que o objetivo não foi comparar os dois experimentos. Para todas as variáveis estudadas adotou-se estudo fatorial, exceto para severidade da doença míldio, que foi considerado apenas o tratamento Si dentro da condição das plantas doentes. Utilizou-se o software SAS (versão 9.4) para realizar as análises estatísticas. Para complementar essa estrutura de análise univariada, foi realizada uma análise multivariada (PCA, mapa de calor com agrupamento hierárquico, coordenadas paralelas e matriz de correlação par a par) de forma independente no R (pacotes FactoMineR, factoextra, GGally e pheatmap), utilizando os mesmos dados, previamente padronizados (escalonamento para variância unitária) dentro de cada experimento.

3 Resultados

A inoculação do patógeno em relação a sua ausência e sem Si, ou seja, nas plantas que não receberam o elemento benéfico houve incremento do teor de Si na parte aérea (Figura 2a-c), mas não afetou o teor do elemento na raiz (Figura 2b-d) das plantas dos experimentos I e II. No entanto, o fornecimento de Si nas plantas com e sem inoculação com patógeno aumentou o teor deste elemento na parte aérea (Figura 2a-c) e na raiz (Figura 2b-d) das plantas dos experimentos I e II.

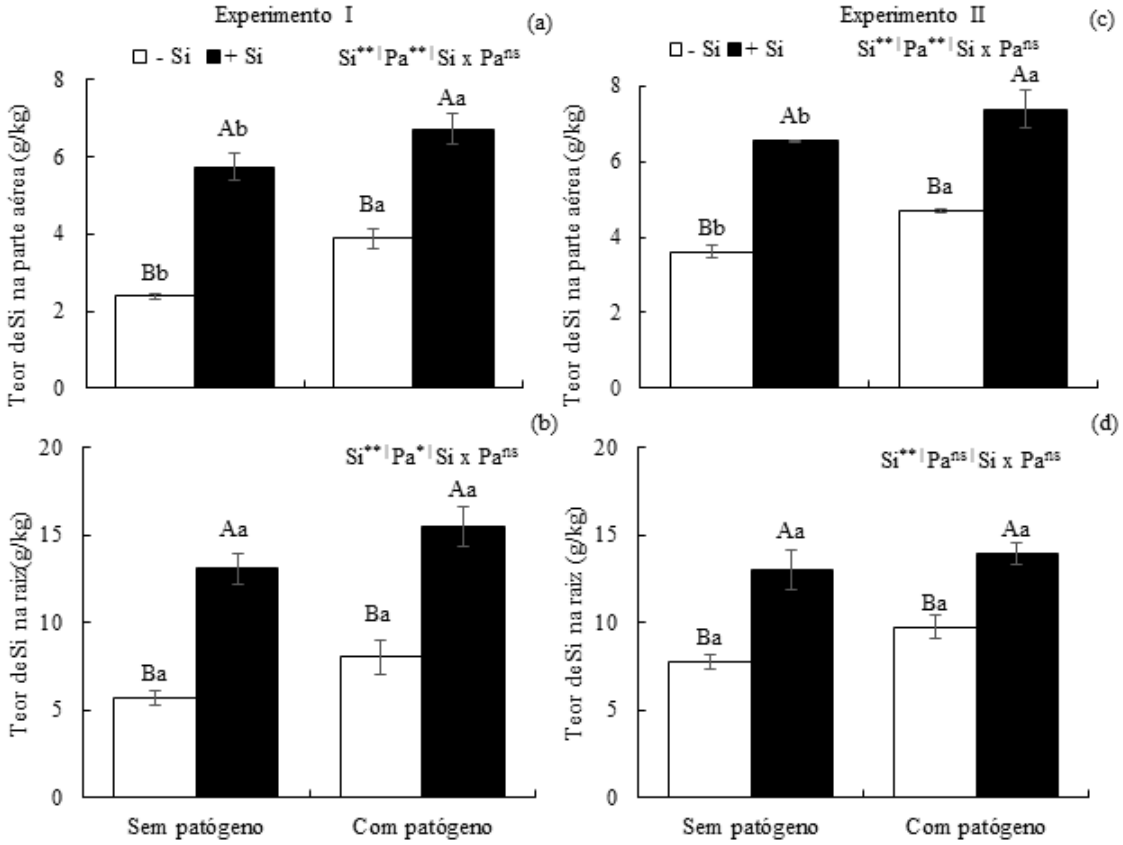


Figura 2. Teor de silício (Si) na parte aérea e na raíz de plantas de alface em função da inoculação com o patógeno *B. lactucae* sem Si (-Si) e com Si (+Si) com aplicação via raiz + foliar (experimento I) (a,b) e apenas via raiz (experimento II) (c,d). Letras maiúsculas indicam diferença entre Si na mesma condição do patógeno (Pa), e letras minúsculas indicam diferença entre patógeno na mesma condição de Si pelo teste de Student (LSD). ** e *: significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, ns: não significativo.

A inoculação com o patógeno nas plantas em relação a sua ausência aumentou o teor de MDA, apenas nas plantas que não receberam o Si visto nos dois experimentos. Por outro lado, a adição de Si no meio de cultivo diminuiu o teor de MDA apenas nas plantas inoculadas com o patógeno nos dois experimentos (Figura 3a-d).

A inoculação com o patógeno nas plantas em relação a sua ausência diminuiu o índice de firmeza das folhas apenas nas plantas do experimento I cultivadas sem Si na solução nutritiva (Figura 3b-e). No entanto, o fornecimento de Si promoveu o aumento do índice de firmeza foliar, tanto na presença quanto na ausência do patógeno, nas plantas dos dois experimentos (Figura 3b-e).

A inoculação com o patógeno em relação a sua ausência nas plantas que não receberam o Si diminuiu os valores de Fv/Fm nas plantas dos dois experimentos (Figura 3c-f). No entanto, o fornecimento de Si em relação a sua ausência aumentou esses valores mantendo uma taxa de eficiência fotoquímica semelhante à das plantas sem inoculação nos dois experimentos (Figura 3c-f).

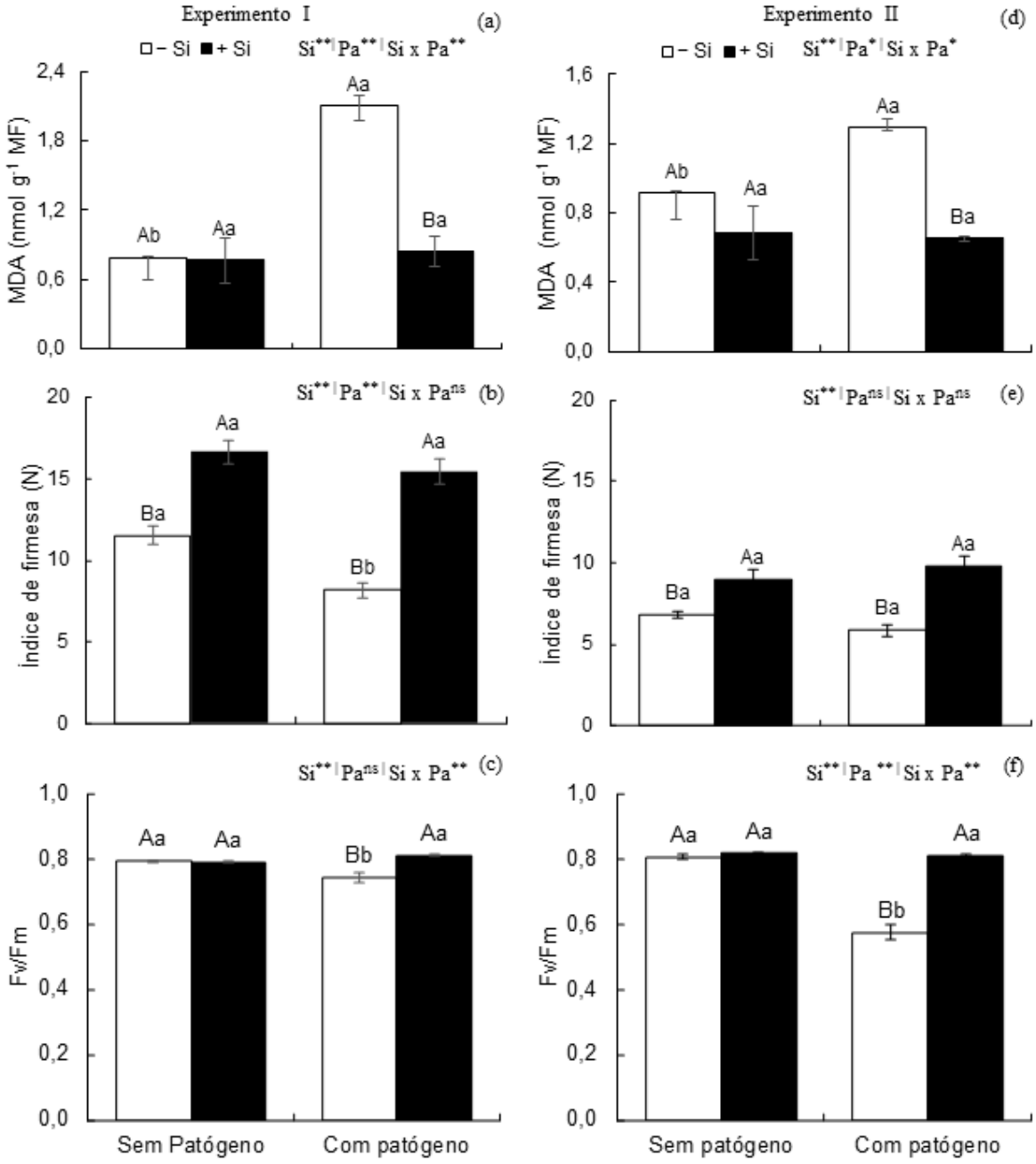


Figura 3. Conteúdo de MDA, índice de firmeza e eficiência quântica do PSII (Fv/Fm) em plantas de alface em função da inoculação com o patógeno *B. lactucae* sem Si (-Si) e com Si (+Si) com aplicação via raiz + foliar (experimento I) (a, b, c) e apenas via raiz (experimento II) (d, e, f). Letras maiúsculas indicam diferença entre Si na mesma condição do patógeno, e letras minúsculas indicam diferença entre patógeno na

mesma condição de Si pelo teste de Student (LSD). ** e *: significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, ns: não significativo.

A presença do patógeno nas plantas em relação a sua ausência, e nas plantas que não receberam Si diminuiu o teor de fenóis totais nas plantas dos dois experimentos (Figura 4 a-d). O fornecimento do Si para as plantas não afetou o teor de fenóis totais das plantas inoculadas com o patógeno nos dois experimentos (Figura 4a-d).

A inoculação das plantas com o patógeno diminuiu o teor de clorofila total e de carotenoides nas plantas sem o fornecimento de Si, nos dois experimentos (Figura 4b-c-e-f). O fornecimento do Si aumentou os teores de clorofila total e de carotenoides nas plantas inoculadas, restrito as plantas do experimento I (Figura 4b-c), não indicando efeito nas plantas do experimento II (Figura 4e-f).

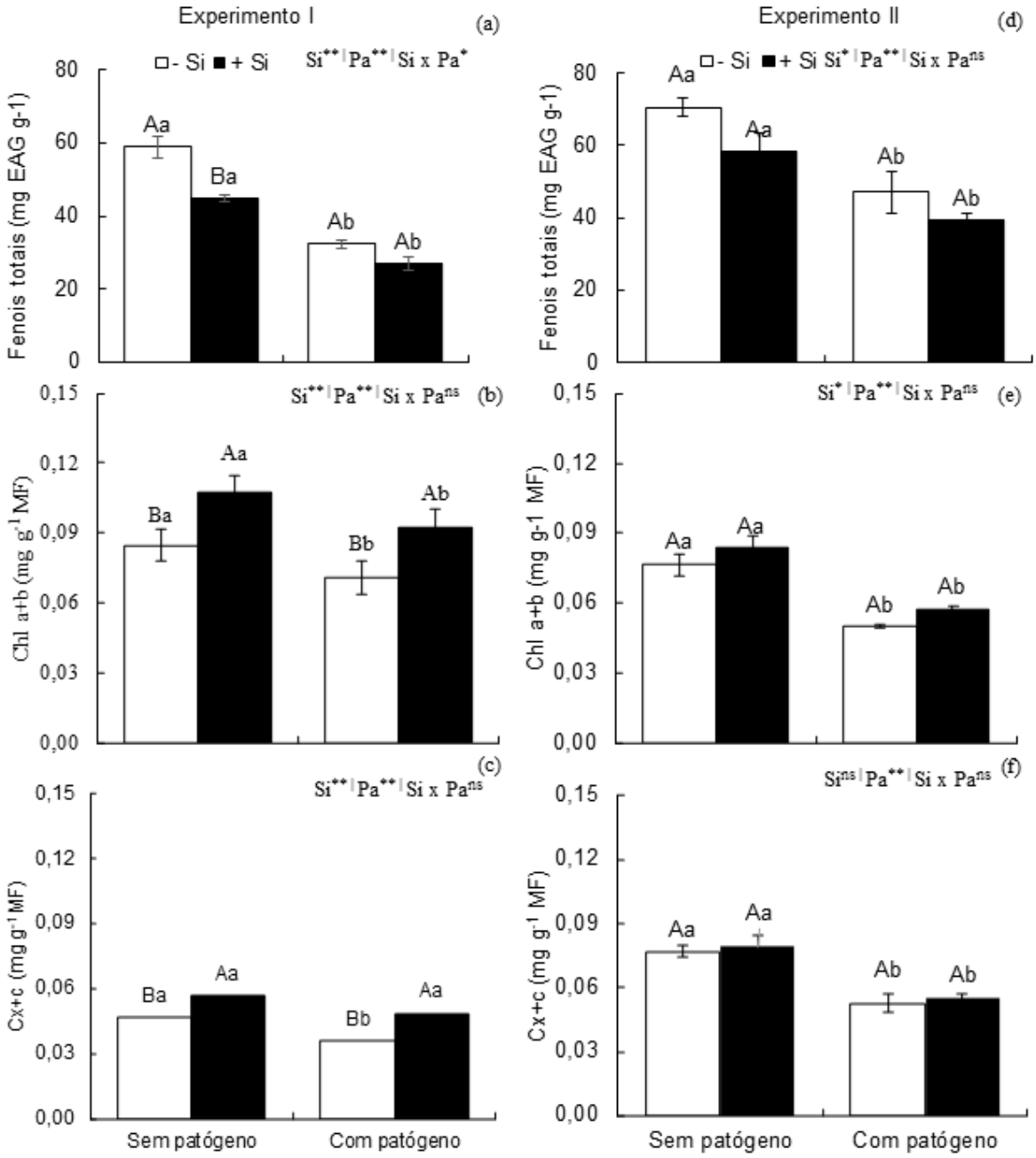


Figura 4. Fenóis totais, clorofila total e carotenoides em plantas de alface em função da inoculação com o patógeno *B. lactucae* sem Si (-Si) e com Si (+Si) com aplicação via raiz + foliar (experimento I) (a, b, c) e apenas via raiz (experimento II) (d, e, f). Letras maiúsculas indicam diferença entre Si na mesma condição do patógeno, e letras minúsculas indicam diferença entre patógeno na mesma condição de Si pelo teste de Student (LSD). ** e *: significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, ns: não significativo.

A inoculação com o patógeno em relação a sua ausência diminuiu a quantidade de aminoácidos totais nas plantas cultivadas com e sem Si para os dois experimentos

(Figura 5a-c). Em contrapartida, o fornecimento do Si aumentou a quantidade de aminoácidos totais nas plantas inoculadas com o patógeno nos dois experimentos (Figura 5a-c).

A presença do patógeno nas plantas em relação a sua ausência com e sem fornecimento do Si causou diminuição do conteúdo de açúcares totais na planta nos dois experimentos (Figura 5b-d). No entanto, nas plantas inoculadas, o fornecimento do Si aumentou o conteúdo de açúcares totais nas plantas dos dois experimentos (Figura5b-d).

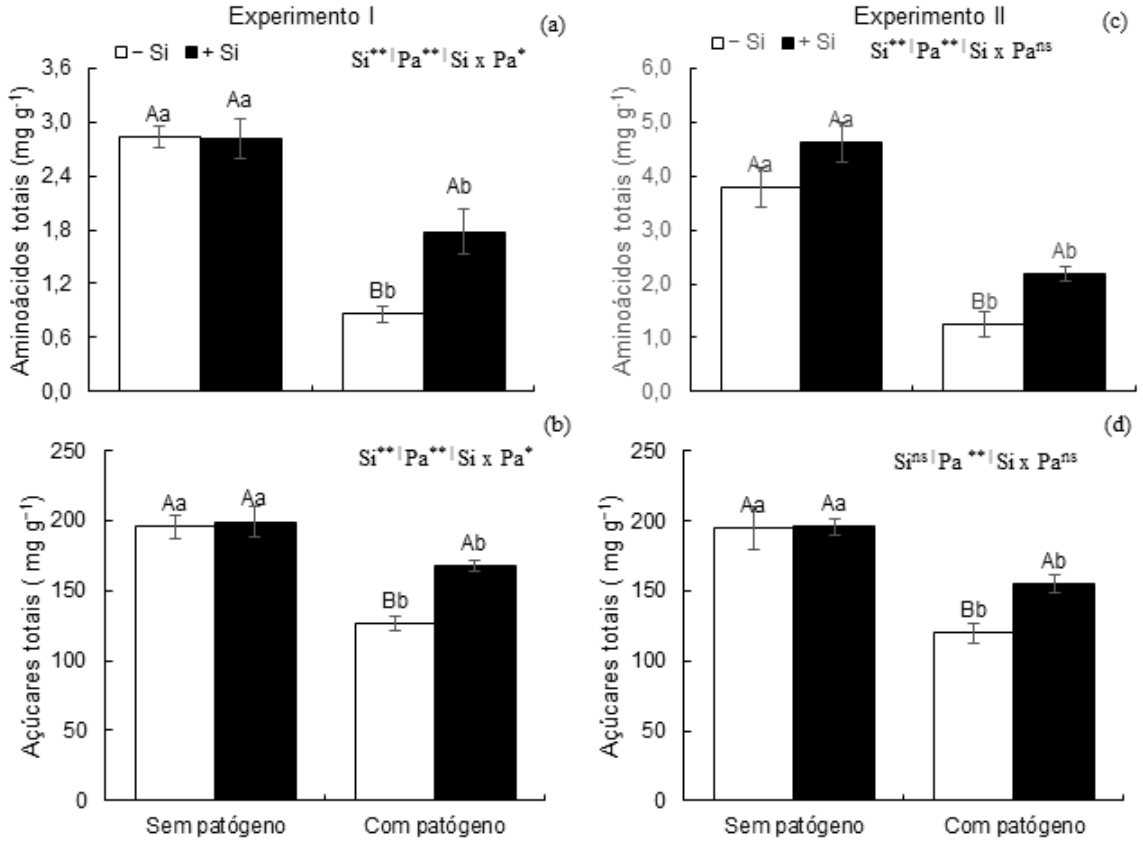


Figura 5. Aminoácidos totais e açúcares totais em plantas de alface em função da inoculação com o patógeno *B. lactucae* sem Si (-Si) e com Si (+Si) com aplicação via raiz + foliar (experimento I) (a, b, c) e apenas via raiz (experimento II) (d, e, f). Letras maiúsculas indicam diferença entre Si na mesma condição do patógeno, e letras minúsculas indicam diferença entre patógeno na mesma condição de Si pelo teste de Student (LSD). ** e *: significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, ns: não significativo.

Na ausência de Si, a inoculação das plantas com patógeno aumentou a atividade das enzimas SOD, APX e GPX nos dois experimentos (Figura 6). No

entanto, na presença do patógeno, o fornecimento do Si diminuiu a atividade das enzimas nas plantas nos dois experimentos (Figura 6).

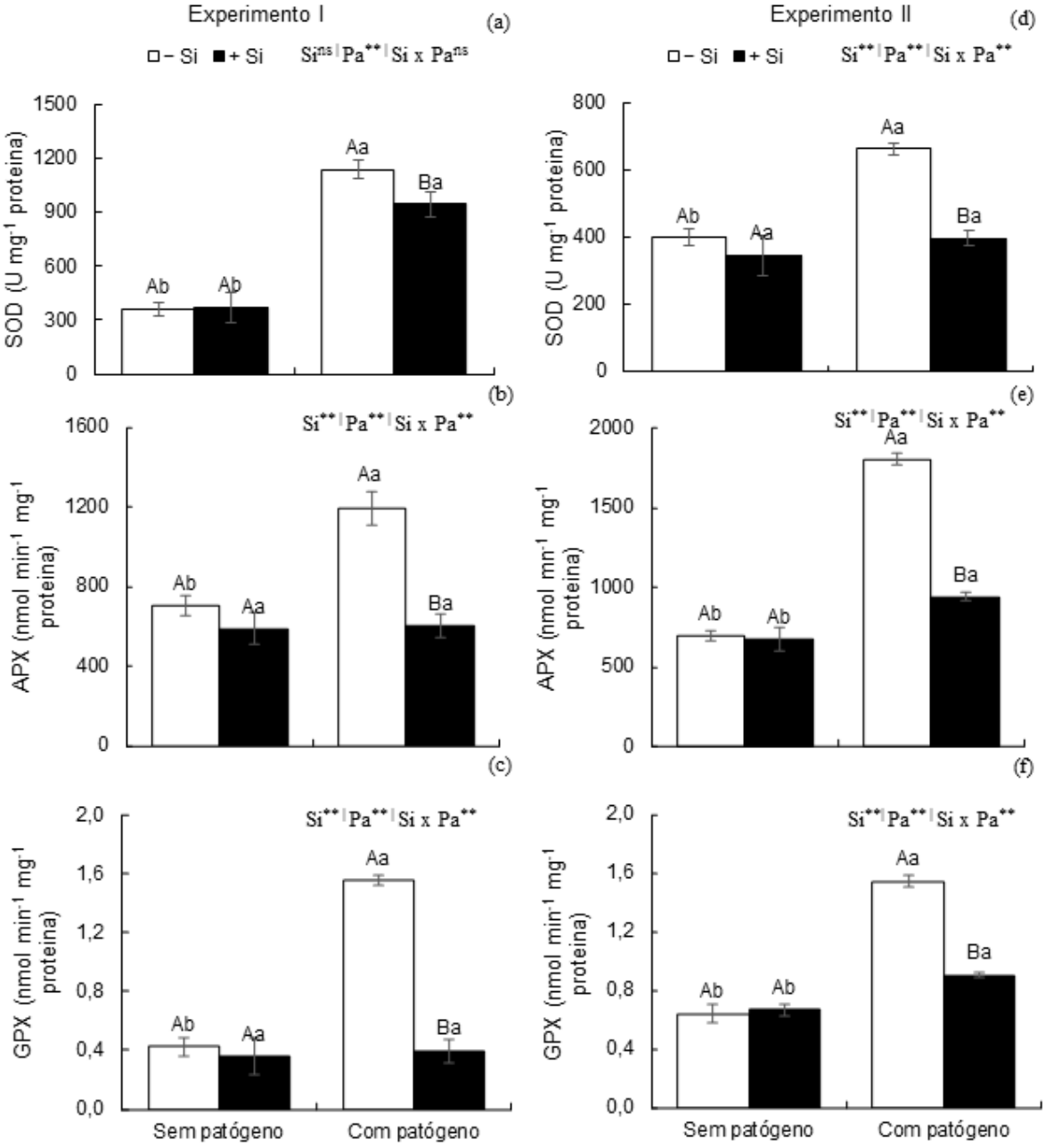


Figura 6. Atividade específica da superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX) e glutationa peroxidade (GPX) em plantas de alface em função da inoculação com o patógeno *B. lactucae* sem Si (-Si) e com Si (+Si) com aplicação via raiz + foliar (experimento I) (a, b, c) e apenas via raiz (experimento II) (d, e, f). Letras maiúsculas indicam diferença entre Si na mesma condição do patógeno, e letras minúsculas indicam diferença entre patógeno na mesma condição de Si pelo teste de Student (LSD). ** e *: significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, ns: não significativo.

As plantas que foram inoculadas em relação a ausência do patógeno e que não receberam o Si tiveram uma redução na massa fresca no experimento I (Figura 7a) e da massa seca da parte aérea das plantas (Figura 7b-e) nos dois experimentos. No entanto, a aplicação de Si nas plantas inoculadas incrementou a massa fresca (Figura 7a) e a massa seca da parte aérea (Figura 7b) apenas das plantas do experimento I não havendo efeito nas plantas do experimento II.

A inoculação da planta com o patógeno em relação a sua ausência e que não receberam o Si causou redução da massa seca da raiz das plantas dos dois experimentos (Figura 7c-f). Nas plantas com patógeno, o fornecimento de Si incrementou a massa seca da raiz apenas das plantas do experimento I (Figura 7c-f). Observou-se ainda que o efeito benéfico do Si também ocorreu nas plantas sem patógeno ao incrementar a produção de massa seca da raiz das plantas dos dois experimentos, fato que não ocorreu nas variáveis massa fresca e massa seca da parte aérea da planta.

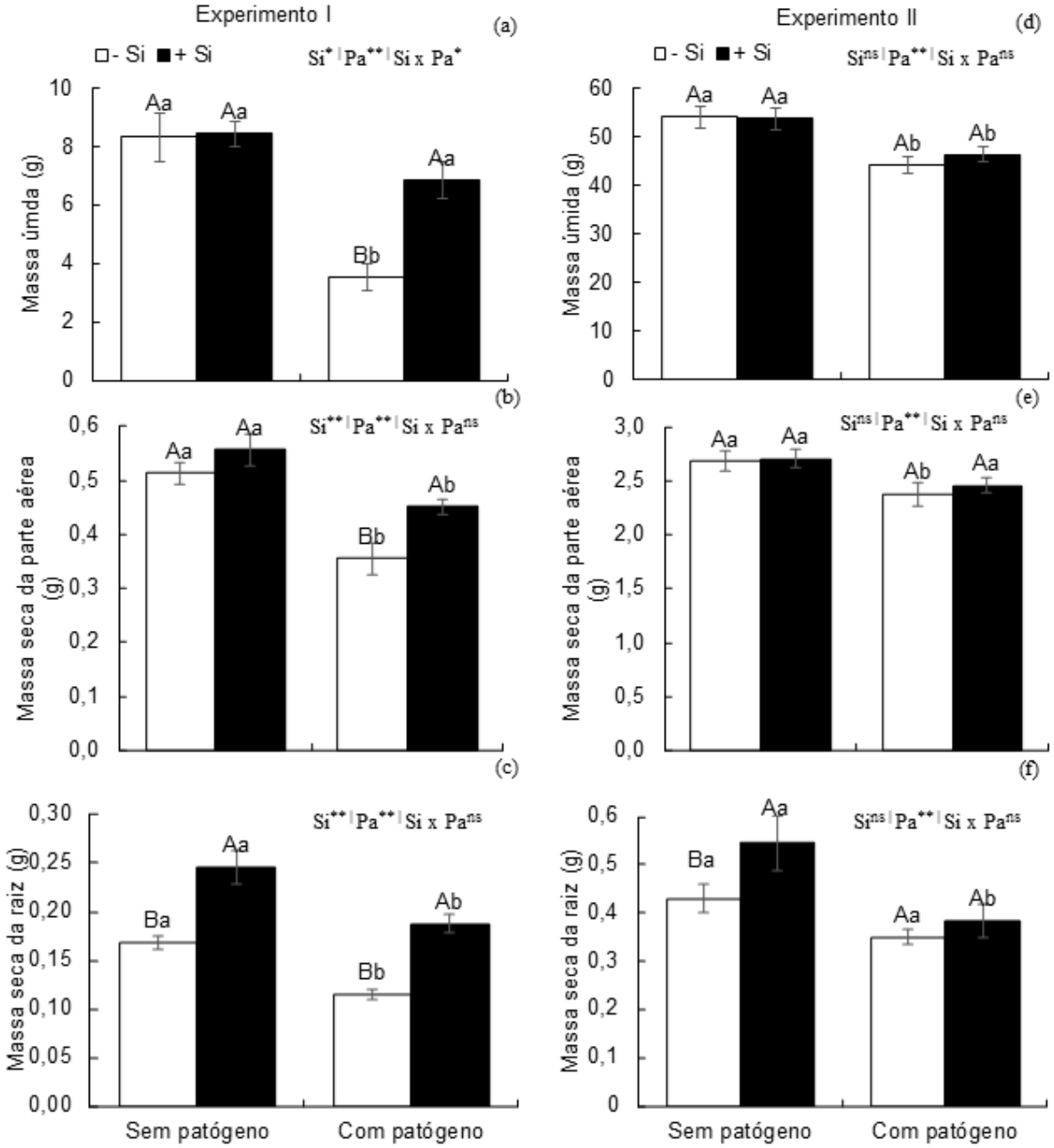


Figura 7. Massa fresca (a, b), massa seca da parte aérea (c, d) e massa seca da raiz (e, f) de plantas de alface em função da inoculação com o patógeno *B. lactucae* sem Si (-Si) e com Si (+Si) com aplicação via raiz + foliar (experimento I) (a, c, e) e apenas via raiz (experimento II) (b, d, f). Letras maiúsculas indicam diferença entre Si na mesma condição do patógeno, e letras minúsculas indicam diferença entre patógeno na mesma condição de Si pelo teste de Student (LSD). ** e *: significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, ns: não significativo.

Nas plantas com a presença da doença *B. lactucae* houve efeito atenuante do Si ao diminuir os valores da severidade da doença nas plantas dos dois experimentos (Figura 8a-b).

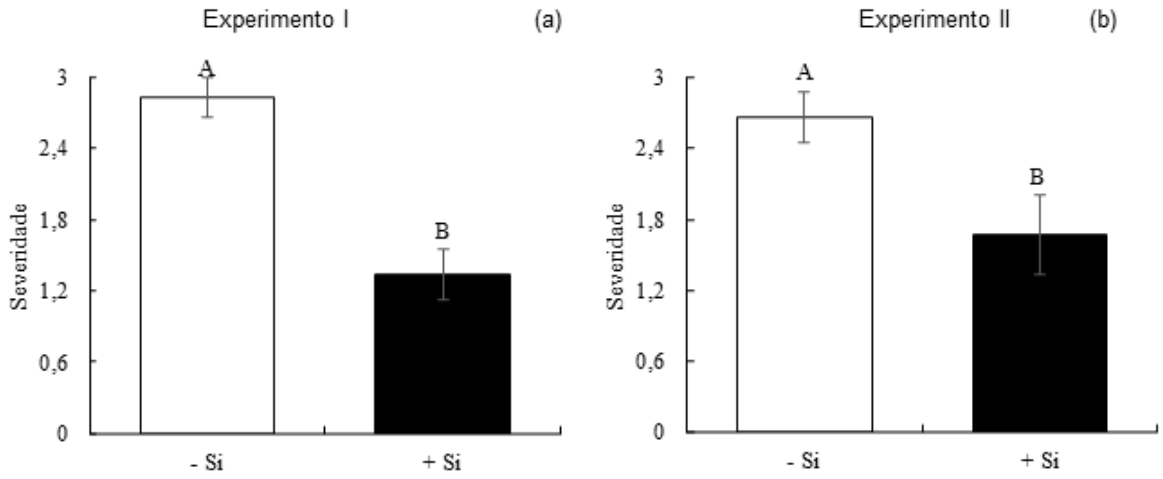


Figura 8. Severidade da doença míldio da alface em função da inoculação com o patógeno *B. lactucae* sem Si (-Si) e com Si (+Si) com aplicação via raiz + foliar (experimento I) (a, c) e apenas via raiz (experimento II) (b, d). Letras diferentes indicam diferença entre Si na mesma condição de patógeno pelo teste de Student (LSD). ** e *: significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, ns: não significativo.

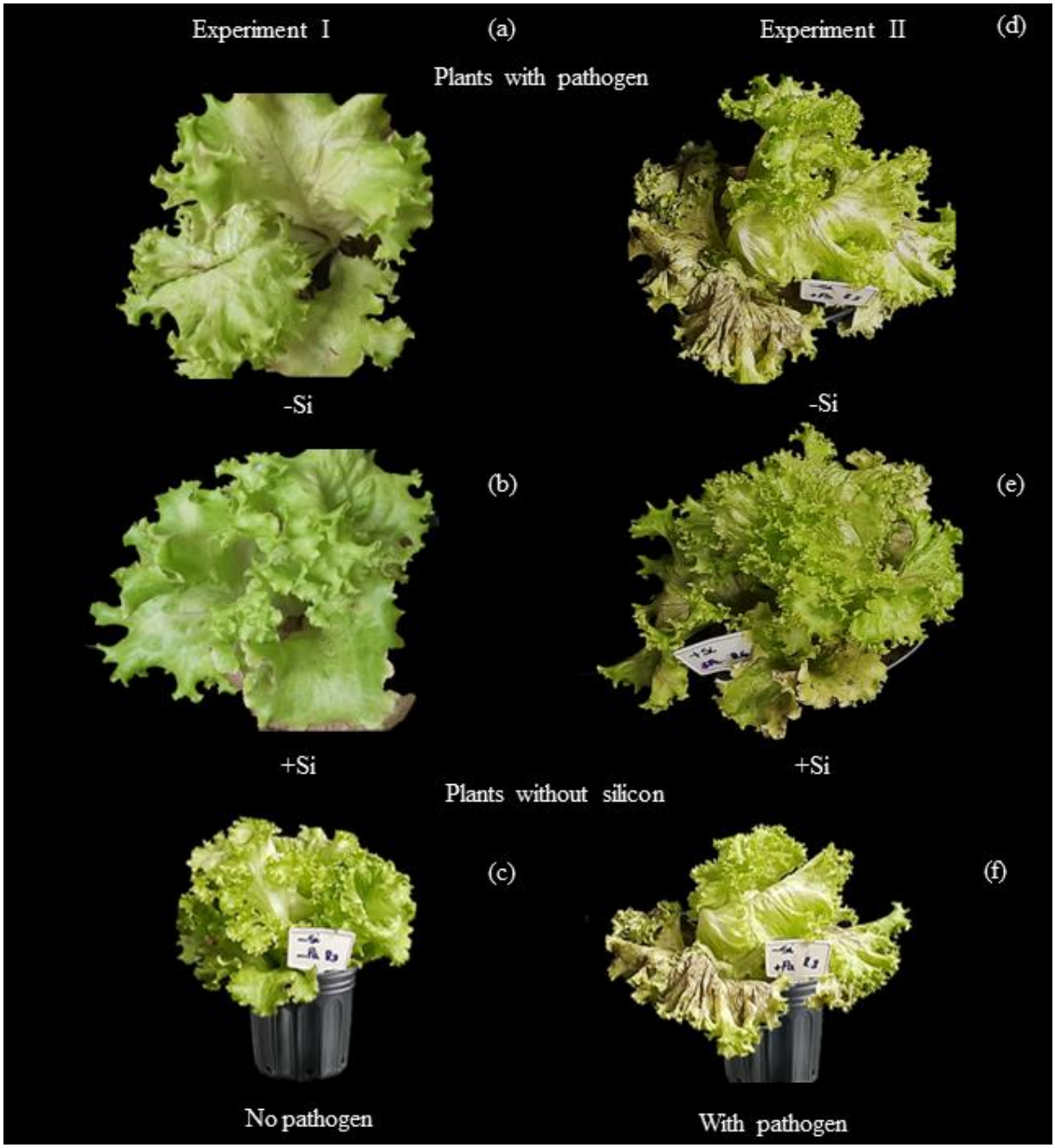


Figura 9. Plantas de alface inoculadas com o patógeno *B. lactucae* com detalhe do sintoma em plantas cultivadas com e sem Si no experimento I (a-b) e no experimento II (d-e). E plantas cultivadas em vasos que recebeu solução nutritiva na ausência de Si, com e sem patógeno (c-d).

3.2 Integração multivariada das respostas fisiológicas e bioquímicas

Os resultados das análises univariadas apresentados anteriormente demonstram que o Si atenua indicadores individuais de dano oxidativo (MDA e

enzimas antioxidantes), integridade dos tecidos (firmeza) e desempenho fisiológico (Fv/Fm, pigmentos, metabólitos primários e biomassa) em plantas de alface inoculadas, com efeito consistentemente mais pronunciado no Experimento I (aplicação de Si via raiz + foliar) em comparação ao Experimento II (aplicação de Si somente via raiz). Para caracterizar como essas variáveis covariam e, conjuntamente, discriminam os quatro tratamentos, foi realizada uma análise multivariada, incluindo análise de componentes principais (PCA), mapa de calor com agrupamento hierárquico, coordenadas paralelas e matriz de correlação par a par, utilizando a matriz de dados de cada experimento submetida à padronização para variância unitária.

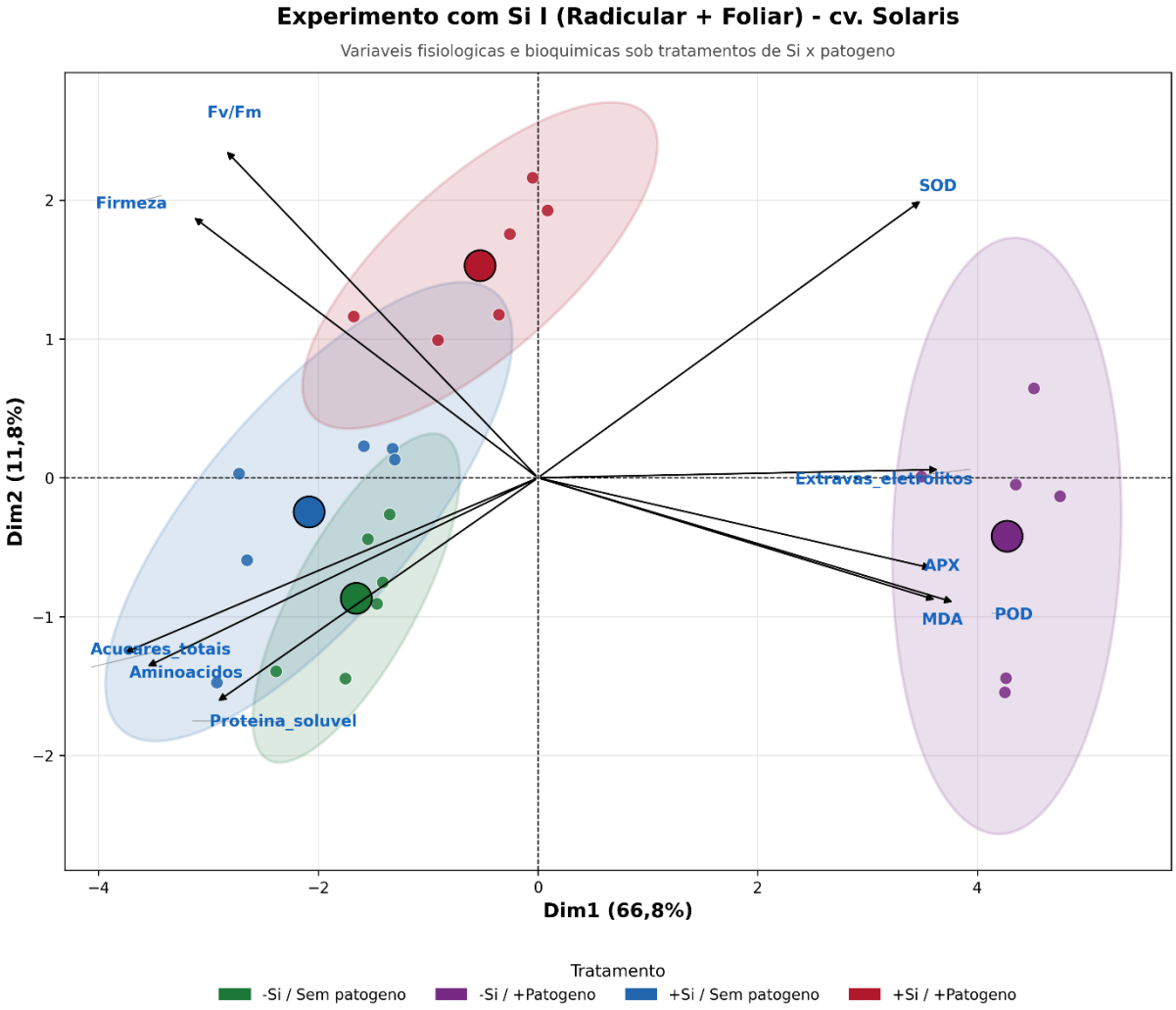


Figura 10. Biplot da análise de componentes principais, Experimento I (aplicação de Si via raiz + foliar, cv. Solaris). As observações individuais (n = 6 por tratamento) foram plotadas nos dois primeiros componentes principais, extraídos da matriz padronizada para variância unitária das variáveis fisiológicas e bioquímicas (Fv/Fm, firmeza foliar, extravasamento de eletrólitos, aminoácidos livres, açúcares solúveis totais, MDA,

proteínas solúveis, SOD, POD e APX — a POD foi determinada neste experimento como uma medida adicional de atividade peroxidásica, juntamente ao painel de APX/SOD/GPX apresentado na Figura 6). Os pontos foram coloridos de acordo com o tratamento fatorial 2 × 2; símbolos sólidos maiores representam os centróides dos tratamentos e as elipses sombreadas representam regiões de confiança de 95%. As setas pretas correspondem aos vetores de loading das variáveis, escalados de acordo com o círculo de correlação. Dim1 e Dim2 explicaram 66,8% e 11,8% da variância total, respectivamente (78,6% acumulados).

Os dois primeiros componentes explicaram conjuntamente 78,6% da variância total (Dim1 = 66,8%; Dim2 = 11,8%). Os quatro tratamentos foram discriminados em quatro elipses de confiança de 95% amplamente não sobrepostas ao longo de Dim1. O tratamento −Si/+Patógeno ocupou a extremidade positiva de Dim1, localizado na mesma região dos vetores de POD, MDA, APX e extravasamento de eletrólitos, confirmando, independentemente das análises univariadas, que as plantas inoculadas e submetidas à ausência de Si apresentaram os maiores níveis de peroxidação lipídica, danos às membranas e atividade peroxidásica entre os quatro tratamentos. O tratamento +Si/+Patógeno ocupou uma posição intermediária em Dim1, mas foi deslocado em direção negativa ao longo de Dim2, na direção dos vetores de firmeza e Fv/Fm, separando-se do agrupamento −Si/+Patógeno e reproduzindo visualmente a recuperação da firmeza e de Fv/Fm já apresentada na Figura 3. Os tratamentos não inoculados agruparam-se na região negativa de Dim1, próximos aos vetores de proteínas solúveis, aminoácidos e açúcares totais.

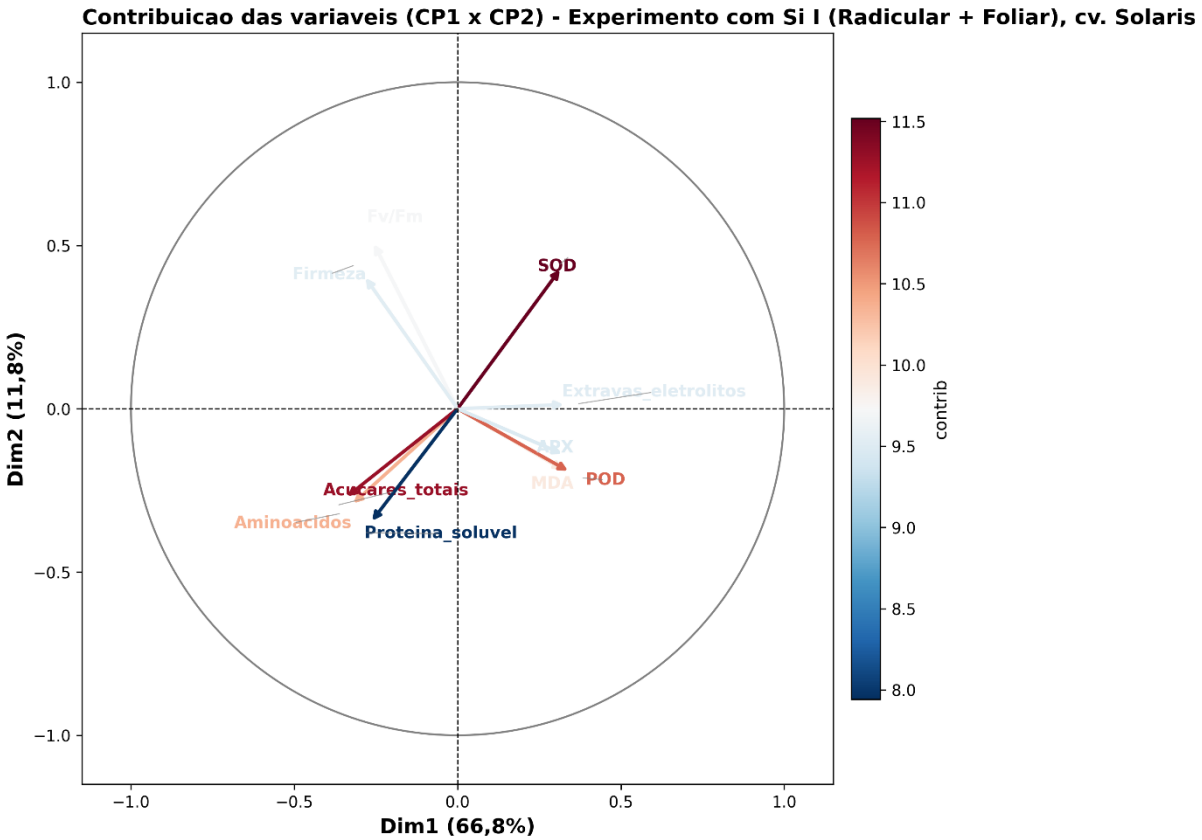


Figura 11. Círculo de correlação das variáveis, colorido de acordo com sua contribuição, Experimento I. O comprimento dos vetores é proporcional à qualidade de representação (cos²) de cada variável no plano Dim1–Dim2 da Figura 10; a cor representa a contribuição percentual para Dim1 + Dim2 (escala de contribuição). A SOD apresentou a maior contribuição para a solução bidimensional (~11,8%) e foi projetada quase exclusivamente na direção negativa de Dim2, ortogonalmente ao agrupamento formado por MDA–POD–APX–extravasamento de eletrólitos; POD, APX e MDA formaram um agrupamento estreito, com elevada contribuição (9–11%), na região positiva de Dim1.

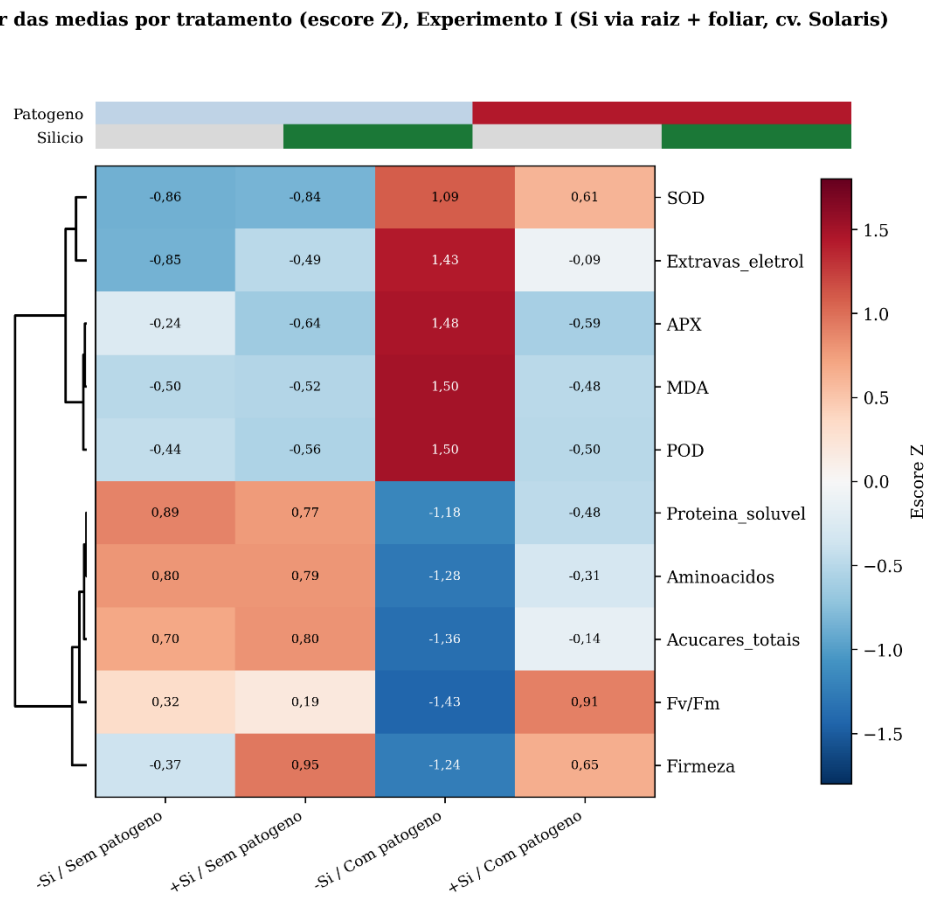


Figura 12. Mapa de calor dos valores médios dos tratamentos padronizados por Z-score, Experimento I (aplicação de Si via raiz + foliar, cv. Solaris). Cada célula apresenta o Z-score da média de um tratamento, calculado por centralização e escalonamento de cada variável entre as quatro médias dos tratamentos. O dendrograma das linhas foi construído por agrupamento hierárquico utilizando o método de ligação Ward.D2 e a distância euclidiana. As barras de anotação identificam o status de Si e o status do patógeno.

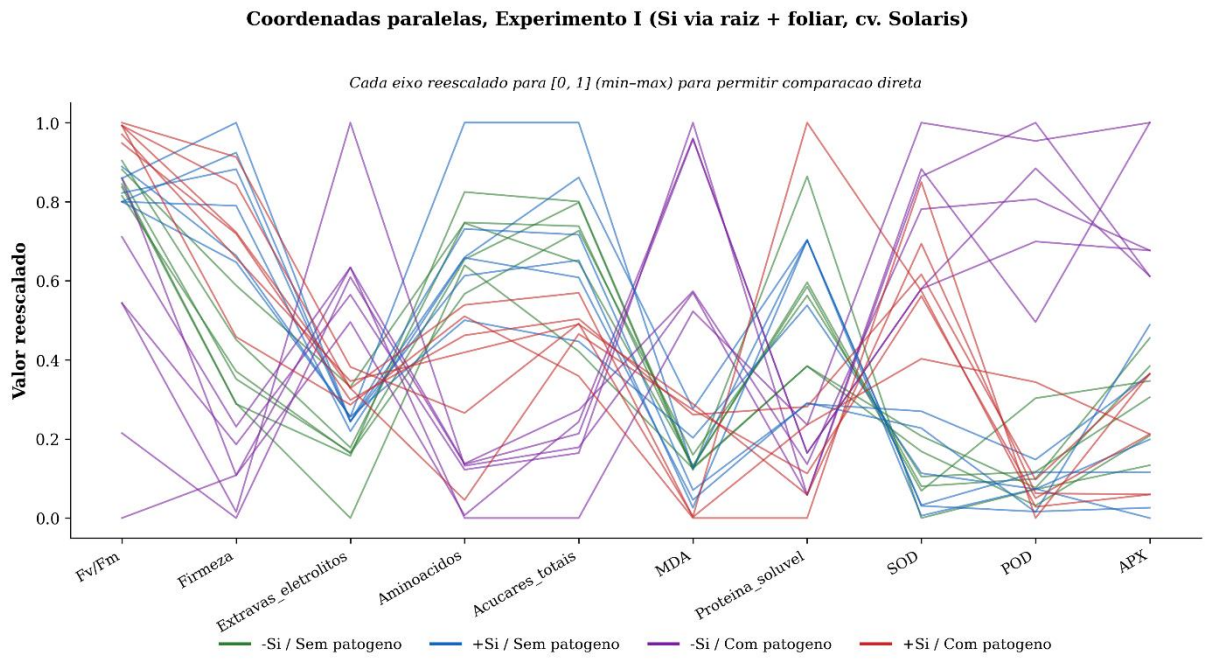


Figura 13. Gráfico de coordenadas paralelas, Experimento I (aplicação de Si via raiz + foliar, cv. Solaris). Cada polilinha conecta os valores reescalonados entre o mínimo e o máximo (intervalo de 0–1 para cada variável; n = 24) de uma repetição biológica das variáveis fisiológicas e bioquímicas avaliadas neste experimento. A cor das linhas identifica o tratamento.

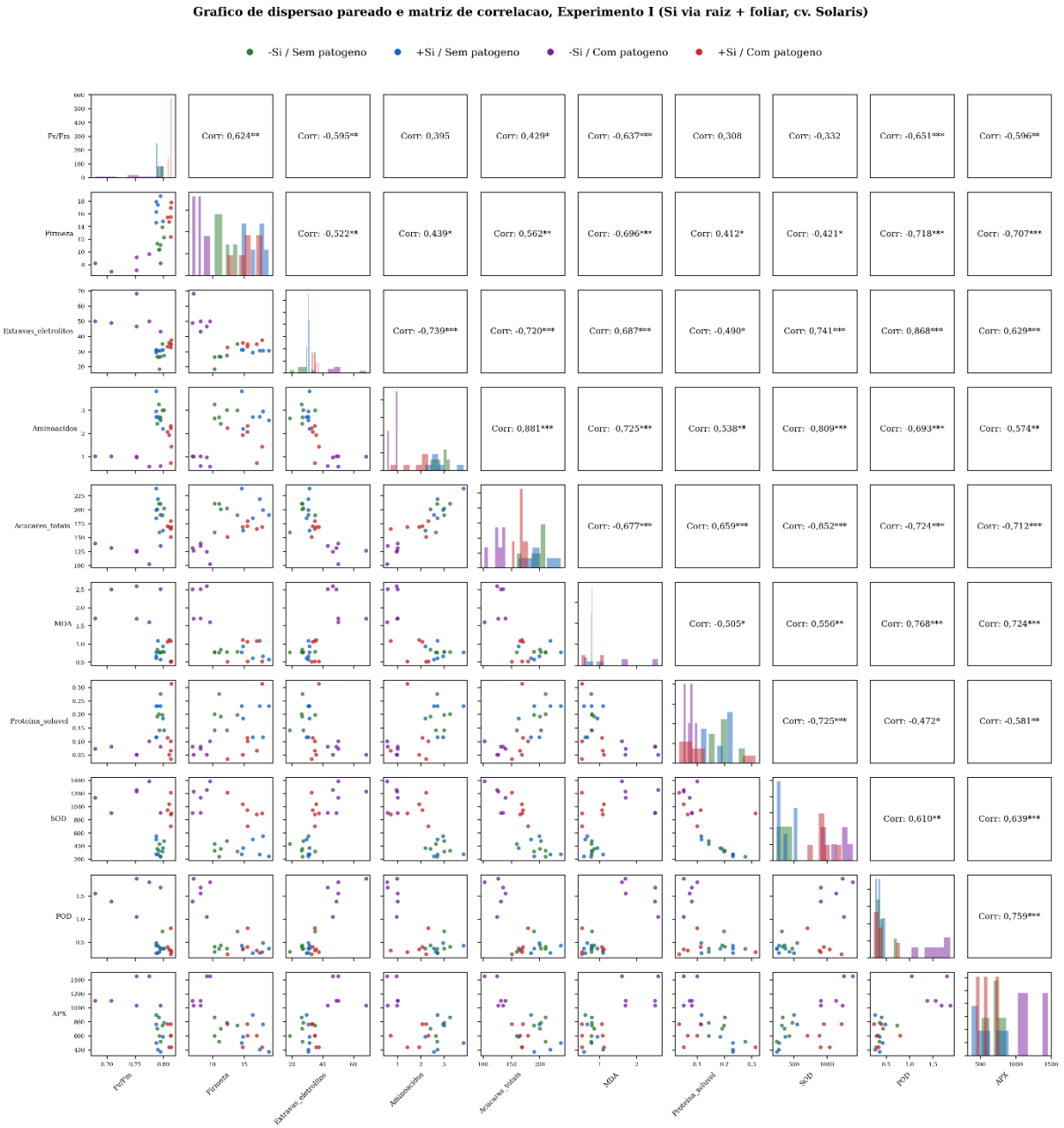


Figura 14. Gráfico de dispersão par a par e matriz de correlação, Experimento I (aplicação de Si via raiz + foliar, cv. Solaris). Triângulo inferior: gráficos de dispersão bivariados (n = 24), coloridos de acordo com o tratamento. Diagonal: densidade de kernel/histograma por tratamento. Triângulo superior: coeficiente de correlação de Pearson global, acompanhado do nível de significância (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001).

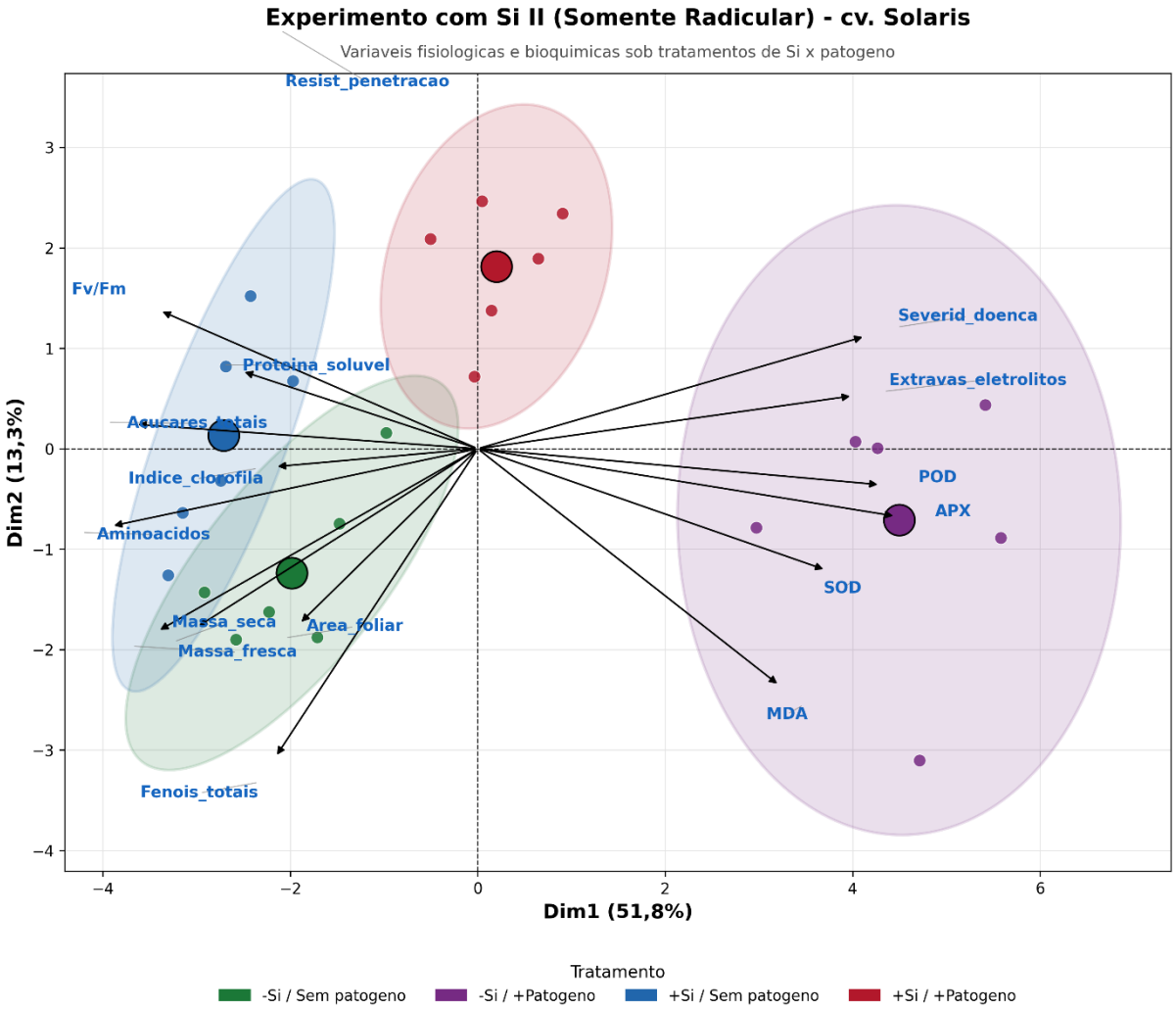


Figura 15. Biplot da análise de componentes principais, Experimento II (aplicação de Si exclusivamente via raiz, cv. Solaris). As observações individuais (n = 6 por tratamento) foram plotadas nos dois primeiros componentes principais, extraídos da matriz padronizada para variância unitária das variáveis fisiológicas, bioquímicas e agronômicas. A codificação das cores e as elipses seguem o padrão apresentado na Figura 10. Dim1 e Dim2 explicaram 51,8% e 13,3% da variância total, respectivamente (65,1% acumulados).

Assim como no Experimento I, os quatro tratamentos foram discriminados em quatro elipses de confiança. A elipse correspondente ao tratamento −Si/+Patógeno ocupou a região mais negativa de Dim1, associada aos vetores de SOD, APX, POD, MDA, extravasamento de eletrólitos e severidade da doença, reproduzindo o bloco de dano oxidativo identificado no mapa de calor. Os dois tratamentos não inoculados ocuparam a região positiva de Dim1, na direção dos vetores de biomassa, área foliar, aminoácidos, açúcares, índice de clorofila e Fv/Fm. A elipse correspondente ao tratamento +Si/+Patógeno situou-se próxima de Dim1 = 0, mas apresentou valores

fortemente negativos em Dim2, na direção do vetor de resistência à penetração, separando esse tratamento dos demais principalmente ao longo do segundo eixo, em uma configuração distinta da separação predominantemente determinada por Dim1 observada no Experimento I (Figura 10).

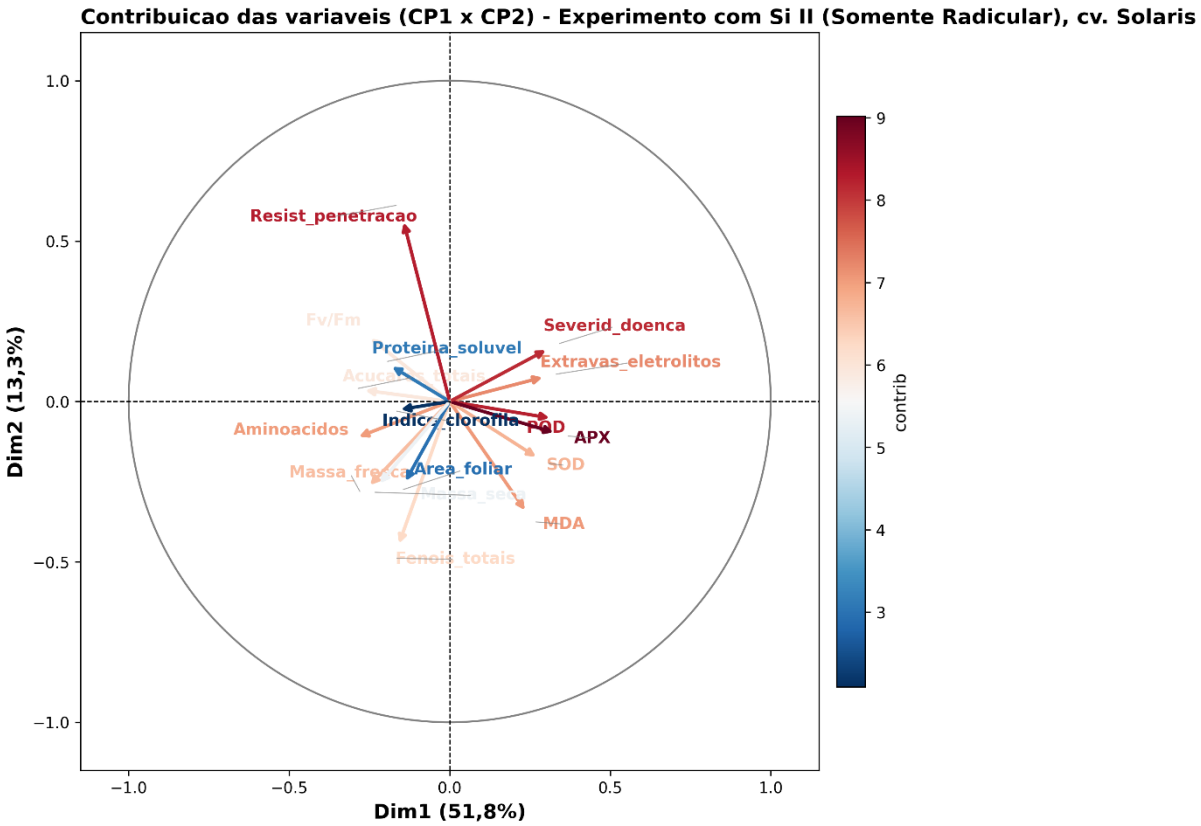


Figura 16. Círculo de correlação das variáveis, colorido de acordo com sua contribuição, Experimento II. APX e POD apresentaram os vetores mais longos e mais colineares na região negativa de Dim1, ambos próximos ao círculo unitário (indicando representação quase completa) e ambos com elevados valores de contribuição. SOD e MDA foram projetados no mesmo quadrante, apresentando também uma componente positiva em Dim2. A resistência à penetração foi a única variável com elevada carga predominantemente negativa em Dim2.

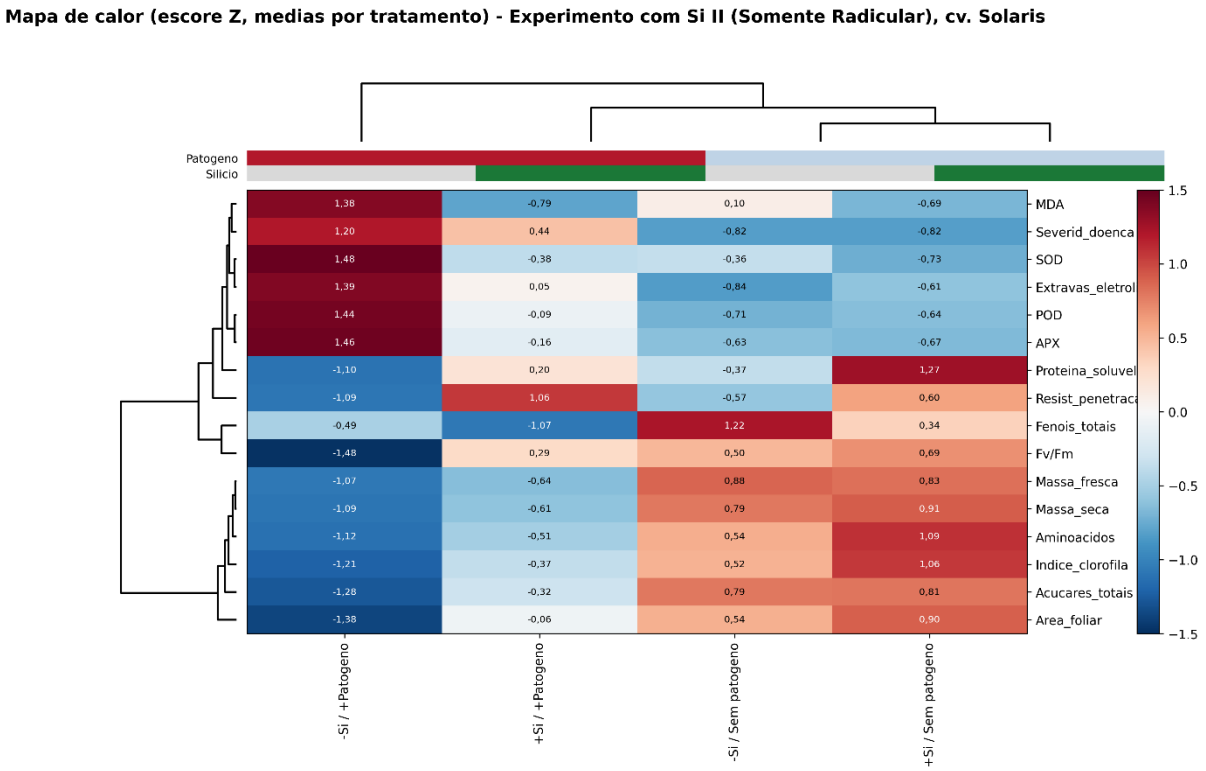


Figura 17. Mapa de calor dos valores médios dos tratamentos padronizados por Z-score, com agrupamento hierárquico, Experimento II (aplicação de Si exclusivamente via raiz, cv. Solaris). Cada célula apresenta o Z-score da média de um tratamento para uma determinada variável, calculado por centralização e escalonamento de cada variável entre as quatro médias dos tratamentos. Os dendrogramas de linhas e colunas foram construídos utilizando o método de ligação Ward.D2 e a distância euclidiana. As barras de anotação identificam o status de Si (−Si, cinza; +Si, verde) e o status do patógeno (Sem patógeno, azul-claro; +Patógeno, vermelho).

O agrupamento bidirecional separou as variáveis do Experimento II em dois blocos principais. O primeiro bloco — MDA, severidade da doença, SOD, extravasamento de eletrólitos, POD e APX — apresentou seus maiores Z-scores (+1,20 a +1,48) no tratamento −Si/+Patógeno, caracterizando esse conjunto como a assinatura de dano oxidativo/defesa enzimática associada ao desafio pelo patógeno na ausência de mitigação pelo Si. O segundo bloco — Fv/Fm, massa fresca e seca da parte aérea, aminoácidos, índice de clorofila, açúcares totais e área foliar — apresentou o padrão inverso, com os maiores valores nos tratamentos não inoculados. As proteínas solúveis e a resistência à penetração (Índice de firmeza) apresentaram seus maiores valores especificamente no tratamento +Si/+Patógeno (Z = +1,27 e +1,06, respectivamente), enquanto os compostos fenólicos totais foram a única variável com maior valor no tratamento −Si/Sem patógeno (Z = +1,22).

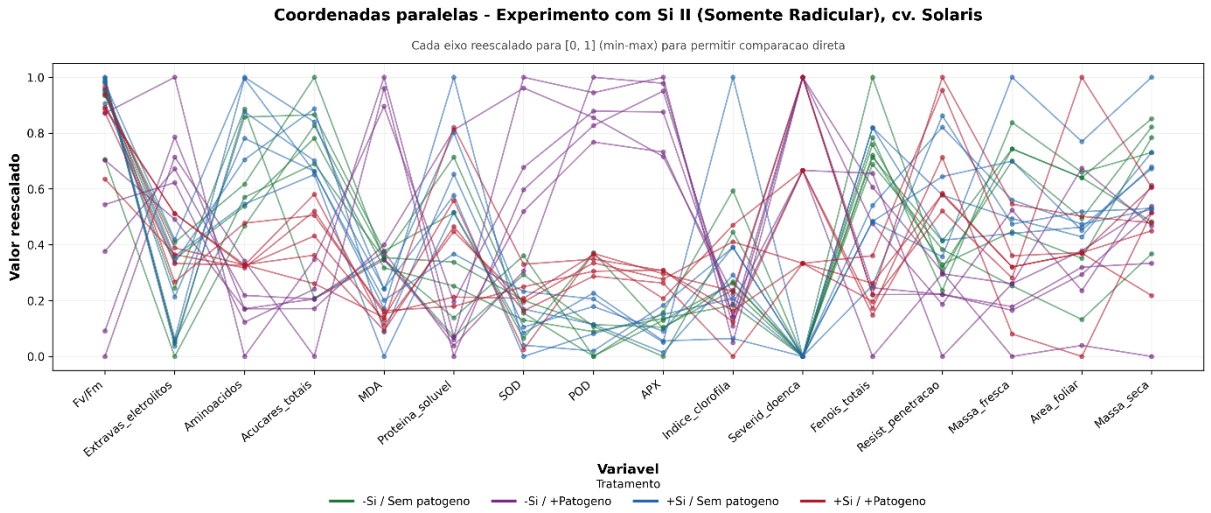


Figura 18. Gráfico de coordenadas paralelas, Experimento II. Cada polilinha conecta os valores reescalonados entre o mínimo e o máximo (intervalo de 0–1 para cada variável; n = 24) de uma repetição biológica ao longo das variáveis, na seguinte ordem: Fv/Fm, extravasamento de eletrólitos, aminoácidos, açúcares totais, MDA, proteínas solúveis, SOD, POD, APX, índice de clorofila, severidade da doença, compostos fenólicos totais, resistência à penetração, massa fresca da parte aérea, área foliar e massa seca da parte aérea. A cor das linhas identifica o tratamento (verde = −Si/Sem patógeno; roxo = −Si/+Patógeno; azul = +Si/Sem patógeno; vermelho = +Si/+Patógeno).

O perfil do tratamento −Si/+Patógeno (roxo) acompanhou consistentemente a região superior da escala reescalonada para MDA, extravasamento de eletrólitos, SOD, POD e APX, e a região inferior para Fv/Fm, aminoácidos, açúcares totais e biomassa da parte aérea, enquanto os outros três tratamentos apresentaram trajetórias mais sobrepostas. Esse padrão corrobora, no nível das repetições individuais, a separação dos tratamentos já resumida pelo mapa de calor e pela análise de componentes principais.

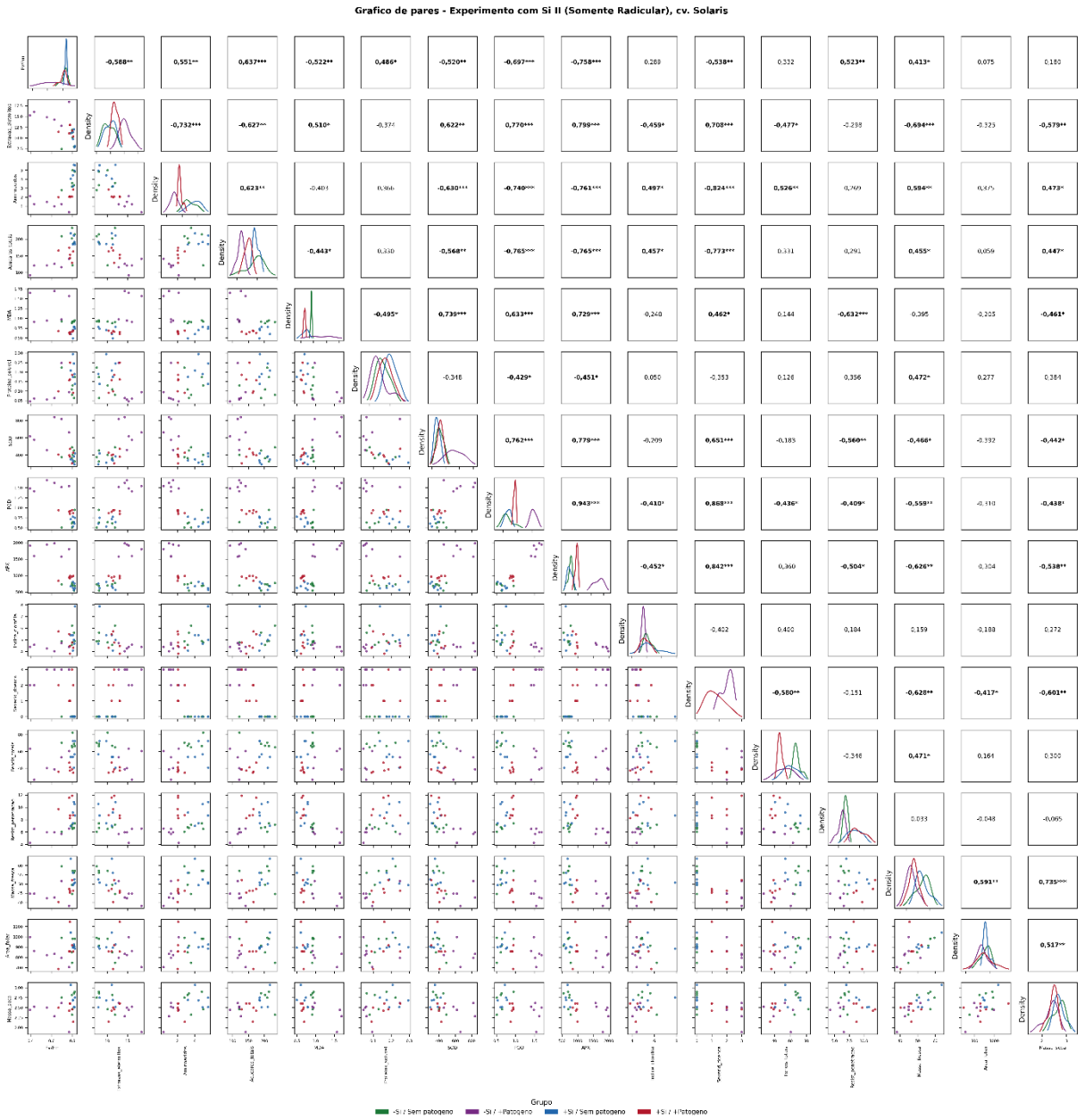


Figura 19. Gráfico de dispersão par a par e matriz de correlação, Experimento II. Triângulo inferior: gráficos de dispersão bivariados (n = 24), coloridos de acordo com o tratamento. Diagonal: densidade de kernel por tratamento. Triângulo superior: coeficiente de correlação de Pearson global, acompanhado do nível de significância (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001).

As correlações de Pearson confirmaram relações fortes e significativas entre as três enzimas antioxidantes e entre a defesa enzimática e a severidade da doença. A correlação POD–APX foi a mais forte do conjunto de dados (r = 0,943; p < 0,001), seguida por SOD–APX (r = 0,779; p < 0,001) e SOD–POD (r = 0,762; p < 0,001). A severidade da doença apresentou correlação positiva com POD (r = 0,868), APX (r = 0,842) e SOD (r = 0,651; todos p < 0,001), e correlação negativa com aminoácidos (r

= −0,824) e açúcares totais (r = −0,773; ambos p < 0,001). Fv/Fm apresentou correlação negativa com APX (r = −0,758; p < 0,001) e extravasamento de eletrólitos (r = −0,588; p < 0,01); o extravasamento de eletrólitos apresentou correlação positiva com APX (r = 0,799; p < 0,001) e negativa com aminoácidos (r = −0,732; p < 0,001).

4 Discussão

4.1 Efeito do patógeno em plantas sem Si

A planta de alface pode ser infectada por esporângios transportados pelo ar e água causando uma das doenças mais importante da cultura que é o míldio (*Bremia lactucae*) (Fall, Heyden, Van Der e Carisse, 2016; Vale FXR *et al.*, 2004) especialmente em condições de temperaturas baixas e alta umidade relativa do ar (Souza *et al.*, 2022).

Um mecanismo de defesa da planta ao patógeno é a indução de estresse oxidativo causado pela morte celular próximo da região infectada devido ao excesso de espécies reativas de oxigênio (ERO). As ERO que se formam como consequência da redução do oxigênio são o radical superóxido (O_2^-), o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH^-) (Awasthi, Bhandari e Nayyar, 2015). Isso foi observado em *Ramularia areola* para conter o avanço da doença na folha do algodão (Curvêlo *et al.*, 2013), mas isso é pouco estudado em *B. lactucae* em alface (Lebeda *et al.*, 2008). Assim, a nossa pesquisa também obteve resultados semelhantes pois a infecção deste patógeno (em plantas que não receberam Si) em relação a plantas sem inoculação também causou estresse oxidativo comprovado pelo aumento do teor de MDA e consequentemente tem-se excesso de produção de ERO e a peroxidação lipídica e prejudicou seriamente a integridade do sistema de membrana das células das folhas da alface. Inclusive esse dano oxidativo causou baixa rigidez dos tecidos foliares com o patógeno pois houve diminuição do índice de firmeza das folhas.

O estresse oxidativo foi tão elevado que suprimiu mecanismos de defesa antioxidante da planta pois a inoculação com patógeno apesar de ter incrementado a atividade das enzimas antioxidantes (SOD, APX e GPX) mas não foi suficiente para diminuir a peroxidação lipídica embora elas tenham ação na eliminação de espécies reativas de oxigênio (Alscher, Erturk e Heath, 2002; Asada, 1992). É possível que o

estresse oxidativo sobressaiu nas plantas com a doença porque foi mais relevante a diminuição do conteúdo de compostos antioxidativos como os fenóis totais e carotenoides que pode ser afetado por dois mecanismos. Pode existir o efeito do patógeno no silenciamento de genes envolvidos em rotas metabólicas para a síntese destes compostos (Sedlářová *et al.*, 2007) e/ou eles podem serem degradados para serem empregados na síntese de outros compostos com ação tóxica para os patógenos (Fawe *et al.*, 1998). Assim, cabe mais estudos específicos sobre o papel desse patógeno no metabolismo secundário da cultura da alface.

Neste cenário, a evolução da doença nas plantas de alface diminuiu o teor de clorofila e a eficiência fotossintética (fv/fm), levando a diminuição do conteúdo de açúcares totais nas folhas de alface nos dois experimentos. Esses efeitos se deve a diminuição destes compostos antioxidantes comentados anteriormente e impede sua ação para neutralizar espécies reativas de oxigênio responsável pelo estresse oxidativo (Resende *et al.*, 2012) aumentando a degradação da clorofila (Khan e Siddiqui, 2020). Assim, tem-se os danos da doença no metabolismo da planta a partir da diminuição do fluxo de elétrons na fase fotoquímica da fotossíntese (Brabandt *et al.*, 2014; Lebeda A e Petrželová I, 2010), fato também observado no nosso estudo. Soma-se a isto, o fato que a própria colonização do patógeno da epiderme celular (Michelmore e Wong, 2008) diminui a área fotossinteticamente ativa e/ou do fechamento estomático (Moriondo *et al.*, 2005) podendo comprometer a adequada taxa fotossintética da planta.

Estes danos na fisiologia da planta de alface ficam também evidenciados pelo fato de o patógeno ter diminuído a quantidade de aminoácidos totais na planta. Na presença de patógenos biotróficos, as plantas podem diminuir a quantidade de aminoácidos no local da infecção para diminuir a quantidade de alimento disponível para o patógeno (Eckardt, 2011), assim como o patógeno pode estar consumindo os assimilados (Berger, Sinha e Roitsch, 2007). Patógenos biotróficos obrigados dependem de células hospedeiras vivas para seu crescimento e reprodução, assim, pode-se esperar que mudanças no estado metabólico do hospedeiro influenciem o crescimento de patógenos biotróficos obrigatórios e o desenvolvimento de doenças. Cabe reforçar que essa redução de compostos metabólicos na presença do patógeno, como os aminoácidos e açucares totais pode ser devido a redução da capacidade

fotossintética da planta pela colonização e pela diminuição do fluxo de elétrons na fase fotoquímica da fotossíntese (Berger, Sinha e Roitsch, 2007). Embora a repressão da fotossíntese seja uma resposta geral à infecção por patógenos, o efeito nos níveis de açúcares varia consideravelmente entre as diferentes interações planta-patógeno. Por exemplo a infecção do tabaco com o vírus do mosaico (*P. nicotianae*) e em Arabidopsis com infecção do *A. cândida* resulta em um aumento dos teores de açúcares solúveis na folha (Chou *et al.*, 2000; Scharte, Schön e Weis, 2005), mas não é afetado em Arabidopsis com infecção de *P. syringae* e reduzem em plantas de tomate com *B. cinérea* (Berger *et al.*, 2004; Bonfig *et al.*, 2006) e de girassol com *Sclerotinia sclerotiorum* (Jobic *et al.*, 2007).

Os prejuízos fisiológicos discutidos promovido pela doença na alface prejudicou o crescimento da planta pois diminuiu a massa fresca, massa seca da parte aérea e a massa seca da raiz das plantas dos dois experimentos. Soma-se a isto, o fato que o dano do patógeno na planta é visual pois evoluiu a nível celular até atingir a nível de tecido pois observamos sintomas visíveis que foi registrado nas plantas aos 12 dias após a inoculação com patógeno (Figura 9c-f). Assim, fica claro que o dano do inóculo utilizado (raça SPBI:01) de *B. lactucae* causa comprometimento do crescimento da cultura estudada especialmente na cultivar utilizada (Solaris) que é suscetível ao patógeno (Castoldi *et al.*, 2012).

Portanto, é comum relatos indicando que essa doença causa prejuízo na produtividade da alface (Souza *et al.*, 2022). No entanto, os estudos com essa doença não discutem os distúrbios biológicos estudados e com os achados desta pesquisa deve contribuir para maior compreensão da doença na fisiologia da planta e consequentemente mecanismos para o controle.

Diante da severidade da *B. lactucae* na limitação do crescimento, da produtividade e da qualidade da cultura da alface e ao mesmo tempo tem-se pressão ecológica em evitar o uso de defensivos químicos, é urgente estratégias alternativas sustentáveis a partir do uso do Si para o controle do míldio na alface e a nossa pesquisa procurou cobrir essa lacuna.

4.2 Efeito do Si no teor foliar do elemento em plantas com e sem patógeno

Os estudos com fornecimento de Si em solução nutritiva na cultura da alface são muito restritos, tendo um relato com uso do elemento na solução nutritiva com concentrações próxima de 0,65 mmol L^{-1}, o Si favoreceu a absorção de nutrientes e o crescimento da hortaliça (Pozo *et al.*, 2015), mas por ser uma espécie considerada não acumuladora de Si (Jones e Handreck, 1967) gera expectativa para absorção de Si insignificante. A nossa pesquisa evidenciou que a planta de alface tem habilidade para absorver o Si pois verificamos que nas plantas que receberam Si com ou sem patógeno resultaram em teores de Si mais alto na raiz das plantas do experimento I (14-15g kg^{-1}) e do experimento II (13-15 g kg^{-1}) comparado com teores de Si na parte aérea próximo de 6 g kg^{-1} para as plantas dos dois experimentos. Isso reforça que a alface absorve o Si, mas concentra maior parte do elemento na raiz em relação as folhas, portanto, a maior restrição seria no sistema de transporte do elemento para as folhas.

Assim, é importante estudos com modo de aplicação de Si para potencializar a absorção do elemento e especialmente pudesse avaliar se a planta infectada poderia causar prejuízo na absorção de Si. Evidenciamos pela primeira vez em plantas de alface quando submetidas a aplicação de Si via solução nutritiva, seja com o fornecimento do elemento na forma combinada via foliar e radicular (experimento I) ou isolada apenas via radicular (experimento II) é eficiente para aumentar o teor do elemento na folha e essa absorção de Si não é prejudicada se a cultura é infectada com a doença. Esses resultados são importantes para aumentar as expectativas de efeito benéfico do Si mesmo em plantas com folhas colonizadas com míldio.

4.3 Efeitos do Si em aspectos fisiológicos em plantas com e sem patógeno

Os benefícios fisiológicos do Si em plantas com estresse biótico já são evidenciados em diferentes cultivos (Fortunato, Rodrigues e Datnoff, 2015; Rodrigues *et al.*, 2015). Este efeito benéfico do Si também ocorreu nas plantas de alface com míldio, mas com destaque para as plantas do experimento I, ou seja, que receberam o Si via radicular e via foliar.

Observamos que essa forma de fornecimento do Si foi responsável por aumentar os teores de clorofila e de carotenoides nas folhas de alface com patógeno que resultou na diminuição do conteúdo de MDA e no incremento da eficiência

quântica do fotossistema II (fv/fm) e do índice de firmeza foliar e assim incrementou a massa fresca e a massa seca da parte aérea e da raiz da cultura. O papel do Si na diminuição do estresse oxidativo se deve ao fato do elemento auxiliar no sistema de defesa não enzimático, diminuindo espécies reativas de oxigênio que oxida diferentes compostos orgânicos prejudicando processos fisiológicos visto em outras espécies como sorgo infectadas com *Colletotrichum sublineolum* (Resende *et al.*, 2012). Havendo essa diminuição do estresse oxidativo tem-se maior integridade das células das folhas da alface que receberam Si, mesmo com míldio, essa integridade foi detectada por um efeito físico do elemento devido ao aumento do índice de firmeza das folhas de alface. Esse é o primeiro relato indicando o potencial do Si em aumentar a rigidez da folha medida em plantas de alface reforçando a ótima absorção do elemento pela planta e isso vai ampliar uso combinado do Si nesta espécie e em outras não acumuladoras de Si.

Quando o Si foi fornecido apenas via raiz (experimento II) nas plantas com patógeno os benefícios fisiológicos do elemento foram limitados, embora tenha havido incremento da eficiência quântica do fotossistema II (fv/fm) e a firmeza foliar, mas não foram suficientes para alterar teor foliar de clorofila e de carotenoides e consequentemente não resultou em incremento da massa fresca e da massa seca da parte aérea e da raiz. É possível que o fornecimento de Si exclusivamente via raiz nas plantas com patógeno por não ter alterado os pigmentos fotossintéticos possivelmente não proporcionou um incremento da fotossíntese em um nível suficiente para favorecer o crescimento da cultura.

Observamos que o benefício do Si na fisiologia e no crescimento da alface pode ocorrer mesmo em plantas com míldio se o fornecimento do elemento for na forma combinada, ou seja, via radicular e via foliar comparado apenas via raízes. Isso é um indicativo que o fornecimento do Si esteja exercendo sua ação ativando sistemas de defesa contra patógeno já que essas plantas estavam inoculadas.

Cabe destacar ainda, que os benefícios do Si em plantas de alface saudáveis sem patógeno são limitados, embora tenha havido incremento na massa seca de raiz dos dois experimentos que é pouco relatado na literatura (Kreszies *et al.*, 2020), mas teve pouca importância pois não foram suficientes para alterar o crescimento da parte aérea da alface. Isso se deve ao fato que o Si por não ser considerado essencial

afetaria o crescimento da cultura especialmente se houver um estresse (Prado, 2021) e, portanto, nas plantas de alface sem estresse biótico não seria esperado benefício importante do Si visto também em outras espécies (Carvalho *et al.*, 2022; Silva *et al.*, 2023).

4.4 Efeito do Si na severidade e na ocorrência da doença

O fornecimento do Si, mesmo não sendo considerado um elemento essencial, estimula o crescimento e o aproveitamento de nutrientes e indução de resistência às doenças fúngicas (Sakr, 2016; Song *et al.*, 2021). A redução da severidade da doença e da ocorrência pode estar relacionada ao efeito benéfico do Si nos principais componentes da resistência do hospedeiro, como a latência, tamanho, número e expansão da lesão, e produção de inóculo por local de infecção (Fortunato et al., 2015; Rodrigues et al., 2015) que pode variar de acordo com o nível de suscetibilidade da espécie ou da cultivar ao patógeno (Whan, Dann e Aitken, 2016) e da capacidade da planta para a absorção de Si (Mitani e Jian, 2005). Apesar disso, as informações do efeito do Si em plantas de alface inoculadas com míldio não são evidentes.

Os nossos resultados deixam claro que o fornecimento do Si via radicular e via foliar (experimento I) ou exclusivamente via radicular (experimento II) diminuíram a severidade e a ocorrência do míldio em plantas de alface (Figura 8a-b-d-e). Este benefício do Si nas duas formas de aplicação deste elemento estudadas no controle da doença da alface não acumuladora de Si é um importante resultado em uma cultivar considerada suscetível ao míldio. Esse benefício do Si na atenuação da doença ocorreu pelo fato de ter minimizado o estresse oxidativo visto pela diminuição do teor de MDA e ao mesmo tempo ter incrementado a rigidez dos tecidos da planta pois aumentou o índice de firmeza foliar. Essa constatação do efeito do Si acumulado na folha que causa a rigidez dos tecidos devido ao processo de biossilisificação da parede celular foi relatado (Zellner *et al.*, 2021), mas em plantas não acumuladoras esse efeito significativo no índice de firmeza ainda não era conhecido. De forma geral, o fato da maior firmeza do tecido vegetal devido ação do Si constituindo estruturas da parede celular das células da epiderme pode contribuir para induzir maior resistência a doenças fúngicas vistos em outras espécies (Abed-ashtiani *et al.*, 2012; Rodrigues *et al.*, 2015).

O potencial do Si em mitigar o estresse biótico por míldio das plantas de alface, chama atenção porque pode ocorrer ao mesmo tempo, o efeito benéfico em aspectos fisiológicos e no crescimento da cultura, especialmente quando o Si é fornecido na forma combinada via radicular e foliar.

A pesquisa propõe o emprego do fornecimento de Si via radicular e via foliar ou apenas via radicular como método de controle sustentável do míldio em plantas de alface suscetível a doença, tendo implicação global pois é comum cultivo dessa hortaliça em diferentes regiões do mundo e por ser uma das doenças mais relevante dessa espécie.

4.5 Integração multivariada: conciliando o padrão univariado com a assinatura fisiológica/bioquímica conjunta

Os resultados da análise multivariada (Figuras 10–19) fornecem uma confirmação independente, com redução da dimensionalidade, do padrão observado nas análises univariadas descritas anteriormente, além de acrescentarem dois aspectos que não são evidenciados pela análise de variância de uma única variável. Primeiro, a magnitude da separação dos tratamentos ao longo do principal eixo de ordenação foi consistentemente maior no Experimento I (Dim1 = 66,8% da variância) do que no Experimento II (Dim1 = 51,8%), reproduzindo o resultado univariado de que o fornecimento combinado de Si via raiz + foliar promoveu benefícios fisiológicos mais amplos, abrangendo clorofila, carotenoides e biomassa, do que o fornecimento exclusivamente via raiz, cujo efeito foi mais restrito a Fv/Fm e firmeza. Como os dois experimentos diferem simultaneamente quanto à via de aplicação do Si (raiz + foliar versus exclusivamente via raiz) e a fonte de Si (silicato de potássio versus nanosílica livre de K), os dados obtidos no presente estudo não permitem separar completamente a contribuição da via de aplicação e da fonte química para essa diferença na magnitude do efeito; isso deve ser explicitado como uma limitação e, idealmente, investigado diretamente em estudos futuros utilizando uma mesma fonte de Si nas diferentes vias de aplicação. O potássio, por sua vez, não constituiu um fator de confusão entre os níveis de Si dentro de cada experimento, uma vez que o potássio fornecido pela fonte de silicato no tratamento +Si do Experimento I foi compensado no

tratamento −Si mediante a utilização de uma solução de cloreto de potássio, conforme descrito em Material e Métodos.

Segundo a matriz de correlação par a par do Experimento II (Figura 19) quantifica, pela primeira vez neste conjunto de dados, a força das associações entre as três enzimas antioxidantes e entre a defesa enzimática e a severidade da doença: POD–APX ($r = 0,943$), SOD–APX ($r = 0,779$) e SOD–POD ($r = 0,762$) foram todas significativas a $p < 0,001$, e POD, APX e SOD apresentaram correlação positiva com a severidade da doença ($r = 0,868$, 0,842 e 0,651, respectivamente, todas $p < 0,001$). Essa estreita associação sustenta a interpretação univariada de que a indução das enzimas antioxidantes aumenta proporcionalmente à intensidade da explosão oxidativa desencadeada pela colonização irrestrita pelo patógeno nos tecidos submetidos à ausência de Si, em vez de a própria atividade antioxidante ser prejudicial — em consonância com o raciocínio já desenvolvido anteriormente na seção "Efeito do patógeno em plantas submetidas à ausência de Si", a partir dos dados de MDA e atividade enzimática isoladamente.

Em concordância com os dados univariados de biomassa e pigmentos, o mapa de calor (Figura 17) e ambas as ordenações por PCA (Figuras 10 e 15) evidenciaram uma relação inversa clara entre o bloco oxidativo/enzimático (MDA, SOD, POD, APX, extravasamento de eletrólitos, severidade da doença) e o bloco de crescimento/fotossíntese (Fv/Fm, massa fresca/seca da parte aérea, aminoácidos, açúcares totais, índice de clorofila, área foliar) em ambos os experimentos — o mesmo balanço já evidente, tratamento a tratamento, nas Figuras 3–7. Portanto, a principal informação adicional fornecida pela análise multivariada não constitui uma nova descoberta biológica, mas uma confirmação quantitativa, considerando o perfil como um todo, de que essas diversas variáveis analisadas individualmente se comportam conjuntamente como um pequeno número de eixos fisiológicos coerentes, juntamente com as magnitudes específicas das correlações (Figura 14 e 19), que não são fornecidas por uma ANOVA realizada variável a variável.

5 Implicações e perspectivas futuras

Atualmente, tem havido maior discussão da sociedade para abordagens sustentáveis ao controle químico de doenças de hortaliças com maior preocupação

para a cultura da alface, por ser de ciclo muito curto e alto risco de contaminação do ser humano. Descobrimos nesta pesquisa o papel importante do Si independentemente do modo de fornecimento à planta ao aumentar a resistência da cultura da alface ao míldio, mas ainda é possível potencializar a produção de massa fresca com associação da aplicação do elemento via fertirrigação e foliar.

Assim, o uso deste elemento benéfico pode ser visto como uma estratégia sustentável pois ele não oferece risco ao ambiente e pode substituir defensivos químicos parcialmente ou totalmente, e ainda os resultados desta pesquisa tem implicação global dada a disseminação mundial desta doença na cultura da alface. Este papel benéfico do Si em ajudar as plantas na adaptação ao estresse biótico ajudará a planejar de forma sistemática o desenvolvimento de uma agricultura mais sustentável para a segurança alimentar no futuro (Song *et al.*, 2021).

Nesta pesquisa discutimos alguns aspectos do Si e suas funções reguladoras durante condições desfavoráveis de cultivo. No entanto, não está claro quais compostos de sinalização interagem com o Si para aumentar a resistência ao estresse. No geral, propõem-se que pesquisas futuras devem avançar para desvendar os mecanismos a nível genômica, metabolômica e proteômica dos efeitos do Si na expressão de genes associado com a doença visto em outros patógeno (Gao *et al.*, 2022) na tolerância das plantas a *Bremia lactucae*, vias de sinalização à ativação de enzimas e biossíntese de compostos hormonais e antimicróbicos relevantes para a proteção das plantas e na virulência do patógeno.

6 Conclusão

O míldio em plantas de alface ao causar estresse oxidativo prejudica aspectos fisiológicos e o crescimento da planta e o uso do Si fornecido via raiz e foliar ou apenas via radicular atenua os efeitos destes danos, pois esse elemento favoreceu os mecanismos de defesa da planta ao ativar o sistema antioxidante não enzimático e incrementar a capacidade fotossintética e a produção de metabólitos.

A inovação da pesquisa revela que uso do Si na forma de silicato de potássio ou nanosilica promove o controle alternativo eficiente do míldio em plantas de alface suscetível fortalecendo o cultivo sustentável da cultura. A análise multivariada

corrobora independentemente essa conclusão, distinguindo, em ambos os experimentos, as plantas submetidas à ausência de Si e ao desafio pelo patógeno como um agrupamento distinto, caracterizado predominantemente por enzimas associadas ao estresse oxidativo, e confirmando que o benefício do Si é mais amplo em magnitude quando fornecido pela aplicação combinada via raiz e foliar.

7 Referências

ABED-ASHTIANI, F.; KADIR, J.; SELAMAT, A.; HANIF, A. H. B.; NASEHI, A. Effect of Foliar and Root Application of Silicon Against Rice Blast Fungus in MR219 Rice Variety. **Plant Pathology Journal**, v. 28 (2), p. 164–171, 2012.

ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 372, p. 1331–1341, 15 maio 2002.

ANDERSON, J. V.; DAVIS, D. G. Abiotic stress alters transcript profiles and activity of glutathione S-transferase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase in Euphorbia esula. **Physiologia Plantarum**, v. 120, n. 3, p. 421–433, 1 mar. 2004.

ASADA, K. Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. **Physiologia Plantarum**, v. 85, n. 2, p. 235–241, 1 jun. 1992.

AWASTHI, R.; BHANDARI, K.; NAYYAR, H. Temperature stress and redox homeostasis in agricultural crops. **Frontiers in Environmental Science**, v. 3, n. MAR, p. 11, 17 mar. 2015.

BALARDIN, R. S.; DALLAGNOL, L. J.; DIDONÉ, H. T.; NAVARINI, L. Influência do Fósforo e do Potássio na Severidade da Ferrugem da Soja Phakopsora pachyrhizi. **Fitopatol. Bras**, v. 31, n. 5, 2006.

BATAGLIA, O. C.; FURLANI, A. M. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; GALLO, J. R. **Métodos de análise química de plantas**. [s.l: s.n.].

BERGER, S.; PAPADOPOULOS, M.; SCHREIBER, U.; KAISER, W.; ROITSCH, T. Complex regulation of gene expression, photosynthesis and sugar levels by pathogen infection in tomato. **Physiologia Plantarum**, v. 122, n. 4, p. 419–428, 1 dez. 2004.

BERGER, S.; SINHA, A. K.; ROITSCH, T. Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant–pathogen interactions. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 15–16, p. 4019–4026, 1 dez. 2007.

BOARETTO, L. F.; CARVALHO, G.; BORGO, L.; CRESTE, S.; LANDELL, M. G. A.; MAZZAFERA, P.; AZEVEDO, R. A. Water stress reveals differential antioxidant responses of tolerant and non-tolerant sugarcane genotypes. **Plant physiology and biochemistry : PPB**, v. 74, p. 165–175, 2014.

BONFIG, K. B.; SCHREIBER, U.; GABLER, A.; ROITSCH, T.; BERGER, S. Infection with virulent and avirulent P. syringae strains differentially affects photosynthesis and sink metabolism in Arabidopsis leaves. **Planta**, v. 225, n. 1, p. 1–12, 29 dez. 2006.

BRABANDT, H.; BAURIEGEL, E.; GÄRBER, U.; HERPPICH, W. B. ΦPSII and NPQ to evaluate Bremia lactucae-infection in susceptible and resistant lettuce cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 180, p. 123–129, 17 dez. 2014.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 7 maio 1976.

BRAZ, L. T.; DINIZ, G. M. M.; CASTOLDI, R.; NUNES, R. C.; GALATTI, F. S.; CAMARGO, M.; MARIN, M. V.; DALPIAN, T.; SOUZA, J. O.; GOMES, R. F.; RABELO, H. O. Monitoring races of Bremia lactucae in the State of São Paulo from 2003 to 2012. **Acta Horticulturae**, v. 1127, p. 325–329, 25 nov. 2016.

CARVALHO, L. T. DA S.; PRADO, R. DE M.; SILVA, J. L. F. DA; FERREIRA, P. M.; ANTONIO, R. I. Impact of Nanotechnology from Nanosilica to Mitigate N and P Deficiencies Favoring the Sustainable Cultivation of Sugar Beet. **Nanomaterials 2022, Vol. 12, Page 4038**, v. 12, n. 22, p. 4038, 17 nov. 2022.

CÁSSIA ALVES, R. DE; SANTOS ZUCCO, M. F. DOS; OLIVEIRA, K. R.; CHECCHIO, M. V.; FRANCO, C. A.; KÖRÖSI, K.; GRATÃO, P. L. Seed Priming with Silicon Improves Plant Resistance to Downy Mildew (Bremia lactucae) in Lettuce Seedlings by Intensifying Antioxidant Defense Systems. **Silicon**, v. 14, n. 18, p. 12721–12731, 1 dez. 2022.

CASTOLDI, R.; CHARLO HCO; DALPIAN T; MELO DM; BOTELHO AP; BRAZ LT. Identification of new Bremia lactucae races in lettuce in São Paulo state. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 209–213, 2012.

CHOU, H. M.; BUNDOCK, N.; ROLFE, S. A.; SCHOLES, J. D. Infection of Arabidopsis thaliana leaves with Albugo candida (white blister rust) causes a reprogramming of host metabolism. **Molecular Plant Pathology**, v. 1, n. 2, p. 99–113, 1 mar. 2000.

CURVÊLO, C. R. DA S.; RODRIGUES, F. Á.; PEREIRA, L. F.; SILVA, L. C.; DAMATTA, F. M.; BERGER, P. G. Trocas gasosas e estresse oxidativo em plantas de algodoeiro supridas com silício e infectadas por Ramularia areola. **Bragantia**, v. 72, n. 4, p. 346–359, 2013.

DEBONA, D.; RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. Silicon's Role in Abiotic and Biotic Plant Stresses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 55, p. 85–107, 2017.

DICKINSON, C. H.; CRUTE, I. R. The influence of seedling age and development on the infection of lettuce by Bremia lactucae. **Annals of Applied Biology**, v. 76, n. 1, p. 49–61, 1 jan. 1974.

DUBOIS, M.; GILLES, K.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. A Colorimetric Method for the Determination of Sugars. **Nature 1951 168:4265**, v. 168, n. 4265, p. 167–167, 1951.

ECKARDT, N. A. Interconnected Metabolism of Host Plants and Obligate Biotrophic Pathogens. **The Plant Cell**, v. 23, n. 7, p. 2475–2475, 1 jul. 2011.

FAGERIA, N. K.; PRABHU, A. S.; HUBER, D. M.; RODRIGUES, F. A. Potassium and pland diseases. *Em*: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. (Eds.). . **Mineral nutrition and plant disease**. Saint Pau: APS PRESS, 2007. p. 57–78.

FALL, M. L.; HEYDEN, H. VAN DER; BEAULIEU, C.; CARISSE, O. Bremia lactucae infection efficiency in lettuce is modulated by temperature and leaf wetness duration under Quebec field conditions. **Plant Disease**, v. 99, n. 7, p. 1010–1019, 5 jun. 2015.

FALL, M. L.; HEYDEN, H. VAN DER; CARISSE, O. A Quantitative Dynamic Simulation of Bremia lactucae Airborne Conidia Concentration above a Lettuce Canopy. **PLOS ONE**, v. 11, n. 3, p. e0144573, 1 mar. 2016.

FAOSTAT. **Lettuce and chicory crop production.** Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QV/visualize>. Acesso em: 17 abr. 2023.

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

FAWE, A.; MENZIES, J. G.; CHÉRIF, M.; BÉLANGER, R. R. Chapter 9 Silicon and disease resistance in dicotyledons. **Studies in Plant Science**, v. 8, n. C, p. 159–169, 1 jan. 2001.

FILGUEIRA, F. A. REIS. Novo manual de olericultura : agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2000.

FORTUNATO, A. A.; RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. Silicon Control of Soil-borne and Seed-borne Diseases. *Em*: RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. (Eds.). . **Silicon and Plant Diseases**. Springer ed. [s.l: s.n.]. p. 53–66.

FURLANI, A. M. C. Nutrição Mineral. *Em*: KERBAUY, G. B. (Ed.). . **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2004. p. 57–58.

GAO, H.; WU, X.; YANG, X.; SUN, M.; XIAO, Y.; PENG, F. Silicon inhibits gummosis in peach via ethylene and PpERF-PpPG1 pathway. **Plant Science**, v. 322, p. 111362, 1 set. 2022.

GASTWIRTH, J. L.; GEL, Y. R.; MIAO, W. The Impact of Levene's Test of Equality of Variances on Statistical Theory and Practice. **https://doi.org/10.1214/09-STS301**, v. 24, n. 3, p. 343–360, 1 ago. 2009.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide Dismutasesl. Occurrence in Higher Plants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309–314, 1 fev. 1977.

GOMES, F. B.; MORAES, J. C. DE; SANTOS, C. D. DOS; GOUSSAIN, M. M. Resistance induction in wheat plants by silicon and aphids. **Scientia Agricola**, v. 62, n. 6, p. 547–551, 1 nov. 2005.

GOUSSAIN, M. M.; MORAES, J. C.; CARVALHO, J. G.; NOGUEIRA, N. L.; MÔNICA, E.; ROSSI, L. **Efeito da Aplicação de Silício em Plantas de Milho no Desenvolvimento Biológico da Lagarta-do-Cartucho Spodoptera frugiperda (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)SP Neotropical Entomology**. [s.l: s.n.].

GRATÃO, P. L.; MONTEIRO, C. C.; CARVALHO, R. F.; TEZOTTO, T.; PIOTTO, F. A.; PERES, L. E. P.; AZEVEDO, R. A. Biochemical dissection of diageotropica and Never ripe tomato mutants to Cd-stressful conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 56, p. 79–96, 1 jul. 2012.

HAN, Y.; LI, P.; GONG, S.; YANG, L.; WEN, L.; HOU, M. Defense Responses in Rice Induced by Silicon Amendment against Infestation by the Leaf Folder Cnaphalocrocis medinalis. **PLOS ONE**, v. 11, n. 4, p. e0153918, 1 abr. 2016.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189–198, 1 abr. 1968.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants without soil.** (No. 337) ed. [s.l.] The College of Agriculture University of California., 1950.

HUBER, D. M.; WILHELM, N. S. The Role of Manganese in Disease Resistance. *Em*: GRAHAM, R. D.; HANNAM, R. J.; UREN, N. C. (Eds.). . **Manganese in soils and plants**. Australia: KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, 1988. p. 155–167.

HURTADO, A. C.; CHICONATO, D. A.; MELLO PRADO, R. DE; SILVEIRA SOUSA JUNIOR, G. DA; VICIEDO, D. O.; DÍAZ, Y. P.; CALZADA, K. P.; GRATÃO, P. L. Silicon Alleviates Sodium Toxicity in Sorghum and Sunflower Plants by Enhancing Ionic Homeostasis in Roots and Shoots and Increasing Dry Matter Accumulation. **Silicon**, v. 13, n. 2, p. 475–486, 1 fev. 2021.

ILOTT, T. W.; DURGAN, M. E.; MICHELMORE, R. W. Genetics of virulence in Californian population of Bremia lactucae (Lettuce Downy Mildew). **Phytopathology**, v. 77, p. 1381–1386, 1987.

ISLAM, W.; TAUQEER, A.; WAHEED, A.; ALI, H.; ZENG, F. Silicon in plants mitigates damage against pathogens and insect pests. *Em*: PRADO, R. DE M. (Ed.). . **Benefits of Silicon in the Nutrition of Plants** . 1. ed. Berlim: Springer, 2023. v. 1.

JÁKLI, B.; TAVAKOL, E.; TRÄNKNER, M.; SENBAYRAM, M.; DITTERT, K. Quantitative limitations to photosynthesis in K deficient sunflower and their implications on water-use efficiency. **Journal of Plant Physiology**, v. 209, p. 20–30, 1 fev. 2017.

JOBIC, C.; BOISSON, A. M.; GOUT, E.; RASCLE, C.; FÈVRE, M.; COTTON, P.; BLIGNY, R. Metabolic processes and carbon nutrient exchanges between host and pathogen sustain the disease development during sunflower infection by Sclerotinia sclerotiorum. **Planta**, v. 226, n. 1, p. 251–265, 12 jun. 2007.

JONES, L. H. P.; HANDRECK, K. A. Silica In Soils, Plants, and Animals. **Advances in Agronomy**, v. 19, n. C, p. 107–149, 1 jan. 1967.

KHAN, M. R.; SIDDIQUI, Z. A. Use of silicon dioxide nanoparticles for the management of Meloidogyne incognita, Pectobacterium betavasculorum and Rhizoctonia solani disease complex of beetroot (Beta vulgaris L.). **Scientia Horticulturae**, v. 265, p. 109211, 30 abr. 2020.

KORNDÖRFER, G. H.; PEREIRA, H. S.; NOLLA, A. **Análise de silício no solo, planta e fertilizantes**. 2. ed. [s.l.] UFU, 2004.

KRASKA, J. E.; BREITENBECK, G. A. Simple, Robust Method for Quantifying Silicon in Plant Tissue. **http://dx.doi.org/10.1080/00103624.2010.498537**, v. 41, n. 17, p. 2075–2085, 2010.

KRESZIES, T.; KRESZIES, V.; LY, F.; THANGAMANI, P. D.; SHELLAKKUTTI, N.; SCHREIBER, L. Suberized transport barriers in plant roots: the effect of silicon. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 21, p. 6799–6806, 2 dez. 2020.

LAW, C.; EXLEY, C. New insight into silica deposition in horsetail (Equisetum arvense). **BMC Plant Biology**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 29 jul. 2011.

LEBEDA A; PETRŽELOVÁ I. Screening for resistance to lettuce downy mildew (Bremia lactucae). *Em*: MIRANDA M; LEBEDA A (Eds.). . **Mass screening techniques for selecting crops resistant to diseases**. Vienna: International Atomic Energy Agency, 2010. p. 245–256.

LEBEDA, A.; PINK, D. A. C.; ASTLEY, D. Aspects of the Interactions between Wild Lactuca Spp. and Related Genera and Lettuce Downy Mildew (Bremia Lactucae). **Advances in Downy Mildew Research**, p. 85–117, 28 dez. 2002.

LEBEDA, A.; SEDLÁŘOVÁ, M.; PETŘIVALSKÝ, M.; PROKOPOVÁ, J. Diversity of defence mechanisms in plant-oomycete interactions: A case study of Lactuca spp. and Bremia lactucae. **European Journal of Plant Pathology**, v. 122, n. 1, p. 71–89, set. 2008.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, n. C, p. 350–382, 1 jan. 1987.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C.; KNAPP, M. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio R Fd of leaves with the PAM fluorometer. **PHOTOSYNTHETICA**, v. 43, n. 3, p. 379–393, 2005.

LIMA, M. DE A.; CASTRO, V. F. DE; VIDAL, J. B.; ENÉAS-FILHO, J. Aplicação de silício em milho e feijão-de-corda sob estresse salino. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 398–403, 2011.

MANDAL, K.; SARAVANAN, R.; MAITI, S.; KOTHARI, I. L. Effect of downy mildew disease on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in Plantago ovata Forsk. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 116, n. 4, p. 164–168, 31 mar. 2009.

MANSOOR, S.; WANI, O. A.; LONE, J. K.; MANHAS, S.; KOUR, N.; ALAM, P.; AHMAD, A.; AHMAD, P. Reactive Oxygen Species in Plants: From Source to Sink. **Antioxidants 2022, Vol. 11, Page 225**, v. 11, n. 2, p. 225, 25 jan. 2022.

MARIN, M. V.; FRANCO, C. A.; SMILDE, D.; PANIZZI, R. C.; BRAZ, L. T. Distribution of races and virulence factors of Bremia lactucae in the main lettuce production area in Brazil. **Journal of Plant Pathology**, v. 102, n. 2, p. 395–407, 2020.

MELOTTO, M.; UNDERWOOD, W.; KOCZAN, J.; NOMURA, K.; HE, S. Y. Plant Stomata Function in Innate Immunity against Bacterial Invasion. **Cell**, v. 126, n. 5, p. 969–980, 8 set. 2006.

MÉTRAUX, J. P. Systemic Acquired Resistance. **Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition**, p. 627–629, 1 jan. 2013.

MICHELMORE, R.; WONG, J. Classical and molecular genetics of Bremia lactucae, cause of lettuce downy mildew. **European Journal of Plant Pathology**, v. 122, n. 1, p. 19–30, set. 2008.

MICHELMORE RW; ILOTT TW; HULBERT SH; FARRARA BF. The downy mildews. **Genetics of Plant Pathogenic Fungi**, v. 6, p. 53–79, 1988.

MITANI, N.; JIAN, F. M. Uptake system of silicon in different plant species. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 414, p. 1255–1261, 1 abr. 2005.

MOLDES, C. A.; MEDICI, L. O.; ABRAHÃO, O. S.; TSAI, S. M.; AZEVEDO, R. A. Biochemical responses of glyphosate resistant and susceptible soybean plants exposed to glyphosate. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 30, n. 4, p. 469–479, 13 jul. 2008.

MORALES, R. G. F.; SANTOS, I. DOS; TOMAZELI, V. N. Influência da nutrição mineral foliar sobre doenças da parte aérea da cultura do trigo. **Revista Ceres**, v. 59, n. 1, p. 71–76, jan. 2012.

MORIONDO, M.; ORLANDINI, S.; GIUNTOLI, A.; BINDI, M. The Effect of Downy and Powdery Mildew on Grapevine (Vitis vinifera L.) Leaf Gas Exchange. **Journal of Phytopathology**, v. 153, n. 6, p. 350–357, 1 jun. 2005.

NOLLA, A.; KORNDÖRFER, G. H.; COELHO, L. Efficiency of calcium silicate and carbonate in soybean disease control. **Journal of Plant Nutrition**, v. 29, n. 11, p. 2049–2061, 1 nov. 2006.

POZO, J.; URRESTARAZU, M.; MORALES, I.; ANCHEZ, J. S.; SANTOS, M.; DIANEZ, F.; ALVARO, J. E. **Effects of Silicon in the Nutrient Solution for Three Horticultural Plant Families on the Vegetative Growth, Cuticle, and Protection Against Botrytis cinereaHORTSCIENCE**. [s.l: s.n.].

PRADO, R. D. M. **Mineral nutrition of tropical plants**. (1st ed.) ed. [s.l.] Springer International Publishing, 2021.

PRADO, R. DE M. Benefits of Silicon in the Nutrition of Plants. **Benefits of Silicon in the Nutrition of Plants**, p. 1–378, 1 jan. 2023.

RESENDE, R. S.; RODRIGUES, F. Á.; CAVATTE, P. C.; MARTINS, S. C. V.; MOREIRA, W. R.; CHAVES, A. R. M.; DAMATTA, F. M. Leaf Gas Exchange and Oxidative Stress in Sorghum Plants Supplied with Silicon and Infected by Colletotrichum sublineolum. **http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-01-12-0014-R**, v. 102, n. 9, p. 892–898, 10 ago. 2012.

RODRIGUES, F. A.; RESENDE, R. S.; DALLAGNOL, L. J.; DATNOFF, L. E. Silicon potentiates host defense mechanisms against infection by plant pathogens. *Em*: RODRIGUES, F. , D. L. (Ed.). . **Silicon and Plant Diseases**. [s.l.] Springer International Publishing, 2015. p. 109–138.

RÖMHELD, V.; KIRKBY, E. A. Research on potassium in agriculture: Needs and prospects. **Plant and Soil**, v. 335, n. 1, p. 155–180, 27 ago. 2010.

ROYSTON, P. A Remark on Algorithm as 181: The W-Test for Normality. **Journal of the Royal Statistical Society: Series C (Applied Statistics)**, v. 44, n. 4, p. 547–551, 1 dez. 1995.

RYDER, E. J. Lettuce, endive, and chicory. p. 208, 1999.

SAKR, N. The role of silicon (Si) in increasing plant resistance against fungal diseases. **Hellenic Plant Protection Journal**, v. 9, n. 1, p. 1–15, 1 jan. 2016.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. Melhoramento de alface. *Em*: NICK, C.; BORÉM, A. (Eds.). . **Melhoramento de hortaliças**. Viçosa: UFV, 2016. p. 95–127.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. DA. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 187–194, abr. 2012.

SATHE, A. P. *et al.* Role of silicon in elevating resistance against sheath blight and blast diseases in rice (Oryza sativa L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 166, p. 128–139, 1 set. 2021.

SCHARTE, J.; SCHÖN, H.; WEIS, E. Photosynthesis and carbohydrate metabolism in tobacco leaves during an incompatible interaction with Phytophthora nicotianae. **Plant, Cell & Environment**, v. 28, n. 11, p. 1421–1435, 1 nov. 2005.

SEDLÁŘOVÁ, M.; LUHOVÁ, L.; PETŘIVALSKÝ, M.; LEBEDA, A. Localisation and metabolism of reactive oxygen species during Bremia lactucae pathogenesis in Lactuca sativa and wild Lactuca spp. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 45, n. 8, p. 607–616, 1 ago. 2007.

SILVA, D. L. DA; MELLO PRADO, R. DE; TENESACA, L. F. L.; SILVA, J. L. F. DA; MATTIUZ, B.-H. Silicon attenuates calcium deficiency by increasing ascorbic acid content, growth and quality of cabbage leaves. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1770, 19 dez. 2021.

SILVA, J. L. F. DA; PRADO, R. DE M.; ALVES, T. L.; LATA-TENESACA, L. F.; SOARES, M. B. New strategy for silicon supply through fertigation in sugarcane integrating the pre-sprouted seedling phase and field cultivation. **Scientific Reports 2023 13:1**, v. 13, n. 1, p. 1–10, 21 jan. 2023.

SILVA, J. S. DA; SILVA PAZ, V. P. DA; SOARES, T. M.; ALMEIDA, W. F. DE; FERNANDES, J. P. Production of lettuce with brackish water in NFT hydroponic system. **Semina:Ciencias Agrarias**, v. 39, n. 3, p. 947–962, 1 maio 2018.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1 jan. 1965.

SONG, X. P.; VERMA, K. K.; TIAN, D. D.; ZHANG, X. Q.; LIANG, Y. J.; HUANG, X.; LI, C. N.; LI, Y. R. Exploration of silicon functions to integrate with biotic stress tolerance and crop improvement. **Biological Research 2021 54:1**, v. 54, n. 1, p. 1–12, 8 jul. 2021.

SOUZA ALONSO, T. A. DE; SILVA, D. L. DA; MELLO PRADO, R. DE; SOARES, P. L. M.; TENESACA, L. F. L.; FERREIRA, R. J. Silicon promotes the control of Meloidogyne incognita in lettuce by increasing ascorbic acid and phenolic compounds. **Journal of Pest Science**, p. 1–14, 8 jan. 2022.

SOUZA, L. N.; MARIN, M. V.; FRANCO, C. A.; SILVA, E. H. C.; CAPRIO, C. H.; PANIZZI, R. C.; BRAZ, L. T.; LEBEDA, A. Monitoring virulence and sexual compatibility in Brazilian Bremia lactucae populations. **Plant Pathology**, v. 71, n. 2, p. 446–457, 1 fev. 2022.

SOUZA OSÓRIO, C. R. W.; TEIXEIRA, G. C. M.; BARRETO, R. F.; CAMPOS, C. N. S.; LEAL, A. J. F.; TEODORO, P. E.; MELLO PRADO, R. DE. Macronutrient

deficiency in snap bean considering physiological, nutritional, and growth aspects. **PLOS ONE**, v. 15, n. 6, p. e0234512, 1 jun. 2020.

SU, H.; BRUGGEN, A. H. C. VAN; SUBBARAO, K. V.; SCHERM, H. Sporulation of Bremia lactucae Affected by Temperature, Relative Humidity, and Wind in Controlled Conditions. **https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.4.396**, v. 94, n. 4, p. 396–401, 5 fev. 2007.

VALE FXR; JESUS JR WC; LIBERATO JR; SOUZA CA. Natureza das Epidemias. *Em*: VALE FXR; JESUS JR WC; ZAMBOLIM L (Eds.). . **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas.** Belo Horizonte: Editora Perffil, 2004. p. 21–46.

WANG, L.; NING, C.; PAN, T.; CAI, K. Role of Silica Nanoparticles in Abiotic and Biotic Stress Tolerance in Plants: A Review. **International Journal of Molecular Sciences 2022, Vol. 23, Page 1947**, v. 23, n. 4, p. 1947, 9 fev. 2022.

WANG, M.; ZHENG, Q.; SHEN, Q.; GUO, S. The Critical Role of Potassium in Plant Stress Response. **International Journal of Molecular Sciences 2013, Vol. 14, Pages 7370-7390**, v. 14, n. 4, p. 7370–7390, 2 abr. 2013.

WANG, R.; GAO, M.; JI, S.; WANG, S.; MENG, Y.; ZHOU, Z. Carbon allocation, osmotic adjustment, antioxidant capacity and growth in cotton under long-term soil drought during flowering and boll-forming period. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 107, p. 137–146, 1 out. 2016.

WHAN, J. A.; DANN, E. K.; AITKEN, E. A. B. Effects of silicon treatment and inoculation with Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum on cellular defences in root tissues of two cotton cultivars. **Annals of Botany**, v. 118, n. 2, p. 219–226, 1 ago. 2016.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C.; RICKETTS, R. E. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, n. 948, p. 209–214, 1 jan. 1955.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A.; ZANÃO JUNIOR, L. A. **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. Viçosa, MG: [s.n.].

ZELLNER, W.; TUBAÑA, B.; RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. Silicon's Role in Plant Stress Reduction and Why This Element Is Not Used Routinely for Managing Plant Health. **Plant Disease**, v. 105, n. 8, 1 ago. 2021.

ZÖRB, C.; SENBAYRAM, M.; PEITER, E. Potassium in agriculture – Status and perspectives. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, n. 9, p. 656–669, 15 maio 2014.

CAPÍTULO 3 – Uso do potássio como estratégia para manejo da *Bremia lactucae* em cultivares com diferentes reações de resistência ao patógeno

RESUMO - O míldio da alface causado por *Bremia lactucae* é uma das doenças que mais causa perdas na produção de alface no mundo. Uma alternativa sustentável para o controle desta doença seria com uso otimizado do potássio, mas existem uma discussão indicando que o maior benefício da nutrição estaria restrito apenas para cultivares com moderada suscetibilidade ou resistência incompleta ao patógeno. Para isso, foi desenvolvida essa pesquisa com o objetivo de avaliar se o K fortalece as defesas naturais da planta, atenuando os danos causados pelo patógeno *B. lactucea* em cultivares de alface não apenas em resistência incompleta, mas também com suscetibilidade e com resistência completa e os mecanismos fisiológicos e nutricionais envolvidos. Foram realizados experimentos simultaneamente em condição controlada tendo três cultivares Solaris (suscetível – Experimento I), Laís (resistência incompleta – Experimento II) e Jade (resistência completa – Experimento III). Em todos os experimentos, os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2x2, ausência e presença do patógeno (1,0 x 10^4 esporângios por mL^{-1}) combinado com ausência e presença do K na solução nutritiva (6mmol L^{-1}), dispostos em delineamento inteiramente casualizado com 6 repetições. As análises realizadas foram: teor de K, produção de massa seca e fresca das plantas, eficiência quântica do fotossistema II, fenóis totais, teor de clorofila e carotenoides, teores de açucares e aminoácidos totais, e a severidade da doença. Foi realizada uma análise multivariada complementar (análise de componentes principais e mapa de calor comparativo entre cultivares). A *B. lactucae* em cultivares de alface cultivadas sob deficiência de K induz elevada severidade do míldio nas plantas, independentemente do nível de resistência pois incrementou o estresse oxidativo e diminuiu pigmentos fotossintetizantes e a eficiência fotossintética. No entanto, a nutrição potássica adequada é eficiente para diminuir a severidade da doença e deve ser indicada para plantas suscetíveis, com resistência incompleta e completa ao patógeno por diminuir estresse oxidativo ao aumentar antioxidantes e favorecer a fisiologia diminuindo metabólitos como açucares e aminoácidos, atrativos ao patógeno.

Palavras-chave: Cultivares**,** míldio da alface, nutrição de plantas, resistência

Use of potassium as a strategy for managing *Bremia lactucae* in cultivars with different resistance reactions to the pathogen

ABSTRACT - Lettuce downy mildew caused by *Bremia lactucae* is one of the diseases that causes the most losses in lettuce production in the world. A sustainable alternative for controlling this disease would be the optimized use of potassium, but there is a discussion indicating that the greatest benefit of nutrition would be restricted only to cultivars with moderate susceptibility or incomplete resistance to the pathogen. To this end, this research was developed with the aim of evaluating whether K strengthens the plant's natural defenses, mitigating the damage caused by the pathogen *Bremia lactucea* in lettuce cultivars not only with incomplete resistance, but also with susceptibility and complete resistance and the physiological and nutritional mechanisms involved. Experiments were carried out simultaneously in controlled conditions with three cultivars Solaris (susceptible – Experiment I), Laís (incomplete resistance – Experiment II) and Jade (complete resistance – Experiment III). In all experiments, treatments were arranged in a factorial scheme 2x2, absence and presence of the pathogen ($1,0 \times 10^4$ sporangia by mL^{-1}) combined with absence and presence of K in the nutrient solution (6mmol L^{-1}), arranged in a completely randomized design with 6 replications. The analyzes carried out were K content, production of dry and fresh mass of plants, quantum efficiency of photosystem II, total phenols, chlorophyll and carotenoid content, total sugar and amino acid content, and disease severity, a complementary multivariate analysis (principal component analysis and a comparative heatmap across cultivars). The pathogen *Bremia lactucae* in lettuce cultivars grown under K deficiency induces high severity of downy mildew in plants, regardless of the level of resistance as it increased oxidative stress and decreased photosynthetic pigments and photosynthetic efficiency. However, adequate potassium nutrition is efficient in reducing the severity of the disease and should be indicated for susceptible plants, with incomplete and complete resistance to the pathogen by reducing oxidative stress by increasing antioxidants and favoring physiology by reducing metabolites such as sugars and amino acids, attractive to the pathogen.

Keywords: Cultivars, lettuce downy mildew, plant nutrition, resistance

1 Introdução

No campo, as plantas enfrentam muitos estresses bióticos, tendo a necessidade de desenvolver mecanismos e empregar diversas estratégias de defesa constitutivas e induzíveis para neutralizar ou diminuir a colonização por patógenos (Zörb, Senbayram e Peiter, 2014).

O míldio, causado pelo oomiceto *Bremia lactucae* Regel, é a principal doença da alface (Lebeda, Pink e Astley, 2002; Michelmore e Wong, 2008), com ocorrência mundial, causa danos severos à produção da cultura pois é uma doença policíclica, os esporângios são transportados através do ar e água e o seu desenvolvimento ocorre em forma de progressão geométrica (Fall, Heyden, Van Der e Carisse, 2016). Isso ocorre especialmente em temperatura amena, próxima de 12 a 20°C, e com presença de água nas superfícies foliares (Lebeda, Pink e Astley, 2002).

O controle da doença a partir de resistência genética é dificultado tendo em vista a alta variabilidade genética apresentada pela população de *B. lactucae*, podendo representar diferentes níveis de patogenicidade e quebra de resistência frequente (Braz *et al.*, 2016). O controle químico desta doença é uma opção, no entanto, a alta frequência de uso de defensivos químicos, além de aumentar o custo de produção, pode ocorrer persistência de resíduos e contaminação ambiental e risco a saúde do consumidor e produtor, especialmente em espécies com ciclo de produção muito curto como alface.

Em virtude da necessidade crescente de se adotar estratégias mais sustentáveis na agricultura, a nutrição balanceada é um fator importante na indução dos mecanismos de resistência a doenças (Zambolim, Ventura e Zanão Junior, 2012).

O potássio (K) é um dos macronutrientes mais exigido pelas plantas (Wang *et al.*, 2016). O potássio influência na redução de doenças de plantas em virtude da ativação de enzimas envolvidas na respiração e fotossíntese, processos fornecedores de cadeias de carbono para a síntese de substâncias de defesa, bem como a regulação estomática influenciando no transporte de solutos (Bloom, 2004). O K ao diminuir estresse oxidativo pode potencializar a fotossíntese favorecendo a síntese proteica (Prado, 2021) e consequentemente diminui (Souza Osório *et al.*, 2020)

compostos de baixo peso molecular que poderia servir de alimento para os patógenos (Berger, Sinha e Roitsch, 2007). Uma suscetibilidade maior à infecção, em particular a patógenos fúngicos, em plantas deficientes em K foi atribuída ao papel do nutriente no metabolismo primário e no transporte do floema (Römheld e Kirkby, 2010). A importância do K na sanidade da planta tem uma relação direta no metabolismo vegetal, fortalecendo mecanismos de defesa da própria planta, mas é necessário maior compreensão destes efeitos, especialmente em patógenos pouco estudados como o míldio da alface.

Sabe-se que os nutrientes podem afetar a tolerância às doenças ou a resistência das plantas aos agentes patogênicos, e que a utilização de cultivares que apresentem resistência moderada, quando associada a uma nutrição mineral equilibrada possibilita um melhor controle de doenças (Balardin *et al.*, 2006). No entanto, as ações do K na nutrição são semelhantes em todos os vegetais e com isso é pertinente testar a hipótese que o benefício do K é efetivo em cultivares com todos os níveis de resistência, dado seu efeito semelhante na redução do estresse oxidativo e consequentemente nos pigmentos fotossintetizantes e na eficiência fotossintética com reflexos no metabolismo secundário, diminuindo compostos de baixo peso molecular, potencializando a produção de biomassa da planta e ao mesmo tempo diminuiria nível do míldio nas plantas de alface.

Para testar essa hipótese realizou-se a pesquisa com objetivo de avaliar se o K fortalece as defesas naturais da planta, atenuando os danos causados pelo patógeno *B. lactucea* em cultivares de alface com suscetibilidade e com resistência incompleta e completa ao patógeno e conhecer os mecanismos envolvidos.

2 Material e métodos

2.1 Inóculo e Cultivares

O trabalho foi realizado na Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal, no setor de Olericultura e Plantas Aromático-Medicinais. Foi utilizado um inóculo da raça SPBI:01 de *Bremia lactucae*. A obtenção e multiplicação do inóculo se deu conforme descrito no capítulo 2 dessa tese.

Foram realizados três experimentos simultaneamente, todos foram conduzidos em duas etapas: uma na fase de formação e crescimento das plantas em casa de vegetação, e outra após o crescimento das plantas, com a inoculação do patógeno em câmara úmida. Cada experimento consistiu com a utilização de uma cultivar de alface com diferentes níveis de resistência ao patógeno *B. lactucae*, sendo experimento I 'Solaris' (suscetível), experimento II 'Laís' (resistência incompleta) e experimento III 'Jade' (resistência completa).

A cultivar Solaris (Seminis®), é uma alface do grupo crespa, apresenta alta tolerância ao pendoamento precoce, resistência ao transporte, tolerante a deficiência de Ca em épocas de chuva e alta temperatura, folhas grandes e boa uniformidade de canteiro, com ciclo médio entre 40 a 50 dias. Apresenta suscetibilidade (S) ao míldio da alface (Marin *et al.*, 2020).

A cultivar Laís (Hortec®), é uma alface do grupo americana, apresenta cabeça grande e compacta, possui alto vigor, crescimento homogêneo e volumoso, seu ciclo médio é de 70 a 80 dias. Apresenta resistência incompleta (RI) à raça SPBI:01 do míldio da alface (Caprio, 2021).

A cultivar Jade (Sakata®), é uma alface do grupo crespa, apresenta alta tolerância ao pendoamento precoce, folhas largas e numerosas, alta crespicidade, precocidade, uniformidade de canteiro, boa performance de pós-colheita, com ciclo médio de 52 dias. Apresenta resistência completa (RC) à raça SPBI:01 do míldio da alface (Caprio, 2021).

Os dados de temperatura e de umidade relativa do ar no interior da casa de vegetação e da câmara úmida foram registrados diariamente durante o desenvolvimento dos experimentos com o auxílio de um termo-higrômetro (U23-001, Sigma Sensors, Brasil) (Figura 1).

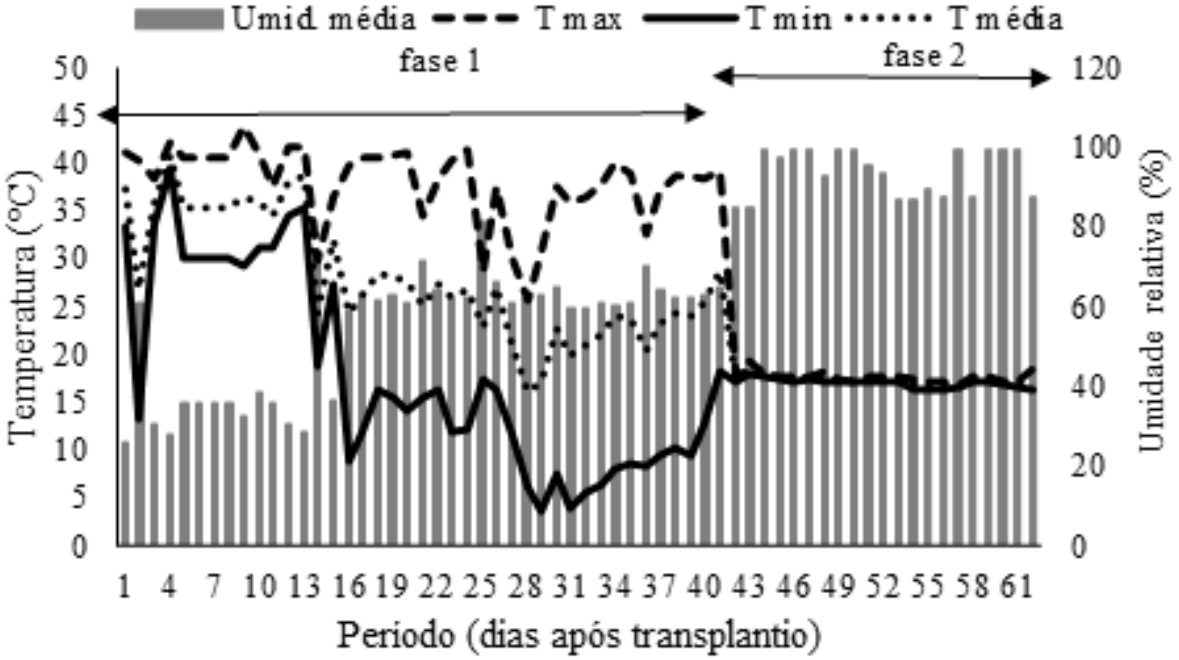


Figura 1. Temperatura máxima (T max), mínima (T min) e média (T média), e umidade relativa (Umid. média) do ar na casa de vegetação (fase 1) e na câmara úmida (fase 2), durante o período dos experimentos.

2.2 Delineamento experimental

Em cada um dos experimentos, os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial 2x2, dispostos em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições. Os tratamentos foram: deficiência de K (0 mmol L^{-1}) e suficiência de K (6,0 mmol L^{-1}) combinado com a ausência de patógeno (sem inoculação) e presença de patógeno (1,0 x 10^4 esporângios por mL^{-1}), utilizando as cultivares Solares, Laís e Jade, para os experimentos I, II e III, respectivamente.

Utilizou-se da recomendação da solução nutritiva de Hoagland e Arnon (Hoagland e Arnon, 1950) para os tratamentos, fornecendo a solução completa para o tratamento suficiência de K (+K), e a solução -K para o tratamento deficiência de K (-K), tendo a força iônica da solução aumentada gradativamente iniciando com 10% e a partir de 20 dias após o transplantio atingiu 75% permanecendo até final do experimento. Sendo que nos 5 primeiros dias após o início do fornecimento da solução, foi adicionado 0,1% da recomendação de K nas mudas do tratamento -K para

o desenvolvimento das plantas mesmo com a deficiência do nutriente essencial. O valor pH da solução nutritiva foi ajustado para 5,5±0,2.

Inicialmente realizou-se a semeadura de cada cultivar de alface em bandejas de plástico de 72 células contendo vermiculita. O transplantio das mudas para o vaso foi realizado assim que a raiz das mudas preencheu toda a célula, sendo realizado no mesmo dia para todos os experimentos. A unidade experimental constitui em uma planta em um vaso de 3,8 dm^3 preenchido com areia lavada em todos os experimentos.

O patógeno foi inoculado nas plantas de acordo com a técnica de Ilott (Ilott, Durgan e Michelmore, 1987), utilizando-se de esporângios lavados de tecidos infestados do hospedeiro e agitados em água deionizada. A concentração do inóculo foi ajustada para 1,0 x 10^4 esporângios por mL^{-1} com a contagem dos esporângios em Câmera de Neubauer com o uso de microscópio eletrônico (Marin *et al.,* 2020).

2.3 Análises

2.3.1 Análise de potássio

As plantas foram separadas em parte aérea e raiz, posteriormente lavadas com solução detergente (0,1% v/v), solução de HCl (0,3% v/v) e água deionizada. Em seguida as amostras do tecido vegetal foi seca a estufa de circulação força de ar até atingir massa constante e posteriormente moídas. O teor de K foi determinado pela digestão de amostras de material vegetal, utilizando solução extratora com ácido perclórico e nítrico (Bataglia *et al.*, 1983).

2.3.2 Produção de massa fresca e seca das plantas

As plantas foram separadas em parte aérea e raiz, posteriormente realizou-se a pesagem utilizando a balança analítica (precisão de 0,001 g) para a obtenção da massa fresca.

Para a realização da análise de massa seca, as plantas foram lavadas em água corrente, solução detergente (0,1% v/v), solução de ácido clorídrico (0,3% v/v) e água deionizada. O material vegetal foi seco em estufa de circulação forçada de ar (65±5°C), até atingir massa constante e em seguida obteve-se a massa seca da parte aérea e da raiz das plantas.

2.3.3 Eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm)

Foi realizada a leitura das medidas fotossintéticas da eficiência quântica do fotossistema II (PSII), na primeira folha completamente desenvolvida usando um fluorômetro portátil (Os30P +, Opti-Sciences Inc., EUA) (Lichtenthaler, Buschmann e Knapp, 2005).

2.3.4 Determinação dos teores de fenóis totais

Os teores de fenóis totais foram determinados segundo o método proposto por Singleton e Rossi (Singleton e Rossi, 1965). Para a extração 0,1 g de folhas frescas foram coletados (discos foliares), e transferidos para tubos tipo falcon, com capacidade para 15 mL, e envoltos com papel alumínio (a extração e a reação colorimétrica devem ocorrer no escuro), foram adicionados 2 mL de metanol concentrado, e aquecidas em banho-maria a 25°C, por 3 horas. Atingido o tempo descrito, as amostras foram retiradas do banho – maria, filtradas e adicionados 3 mL da solução de metanol. Para a reação colorimétrica, 1 mL do estrato filtrado foi coletado e transferido para um tubo tipo falcon com capacidade para 15 mL, foram envoltos em papel alumínio, o volume foi completado com adição de 10 mL de água deionizada e 0,5 mL de Folin-Ciocauteau 2 N. A solução foi mantida em repouso por 3 minutos. Logo após decorrido o tempo, foram adicionados 1,5 mL de carbonato de sódio 20%, devendo permanecer em repouso por 2 horas. Após esse período foi realizada leitura em espectrofotômetro a 765 nm.

2.3.5 Quantificação dos teores de clorofila e de carotenoides

A quantificação dos teores de clorofila e de carotenoides foi realizado pesando-se 0,025 g das folhas e realizando-se a extração de acordo com a metodologia proposta por Lichtenthaler (Lichtenthaler, 1987), com leituras a 663 nm para a clorofila a (Chl a), 647 nm para a clorofila b (Chl b) e 470 nm para carotenoides, realizadas em espectrofotômetro de Beckman DU 640, sendo os teores definidos com base na massa fresca.

2.3.7 Teores de açúcares e aminoácidos totais

Foi realizada a extração de 0,100 g de material vegetal com metanol e clorofórmio, a fase aquosa da extração foi usada para a determinação dos teores de

açucares e aminoácidos totais. Foi utilizado o método do fenol sulfúrico para a determinação dos teores de açúcares solúveis totais(Dubois *et al.*, 1951). Foi utilizado o método de Yemm e Cocking (Yemm, Cocking e Ricketts, 1955) para quantificar os teores de aminoácidos solúveis totais.

2.3.10 Análise da doença

Para avaliação da severidade da doença foi empregado uma escala diagramática conforme indicação de (Dickinson e Crute, 1974) com notas de 0 a 3, onde: 0 (ausência de sintomas visíveis nas folhas, 1 (início de amarelecimento da folha com esporangióforos esporádicos, 2 (menos de 50% da folha coberta por esporangióforos e cloroso, e 3 (mais de 50% da área da folha coberta por esporangióforos e necrose).

2.4 Análise estatística

Os dados foram submetidos a testes de preposição (normalidade de Shapiro-Wilk e homogeneidade de Levene) (Gastwirth, Gel e Miao, 2009; Royston, 1995), e, posteriormente, análise de variância ($p < 0,05$) e teste de Student (LSD) ($p \leq 0,05$). Cabe destacar que para todas as variáveis estudadas adotou-se estudo fatorial, exceto para severidade da doença míldio, que foi considerado apenas o tratamento K dentro das plantas doentes. Utilizou-se o software SAS (versão 9.4) para realizar as análises estatísticas. Para complementar essa estrutura de análise univariada, foi realizada uma análise multivariada complementar (análise de componentes principais e mapa de calor comparativo entre cultivares) de forma independente no R.

3 Resultados

O fornecimento de K via fertirrigação promoveu aumento no teor do nutriente na parte aérea e na raiz das plantas de alface, nas duas condições, sem e com patógeno, nas três cultivares estudadas (Figura 2).

A inoculação do patógeno em relação a sua ausência, não interferiu no incremento do teor do nutriente K na parte aérea das cultivares Solares e Jade (experimento I e III, respectivamente) (Figura 2a-c), mas afetou o teor do nutriente na cultivar Laís (experimento II) (Figura 2b). No entanto, com a inoculação, o teor de K diminuiu nas raízes das plantas da cultivar Solaris, suscetível (Figura 2d), e aumentou

nas plantas das cultivares Laís e Jade, com resistência, nas plantas com deficiência do nutriente. (Figura 2e-f).

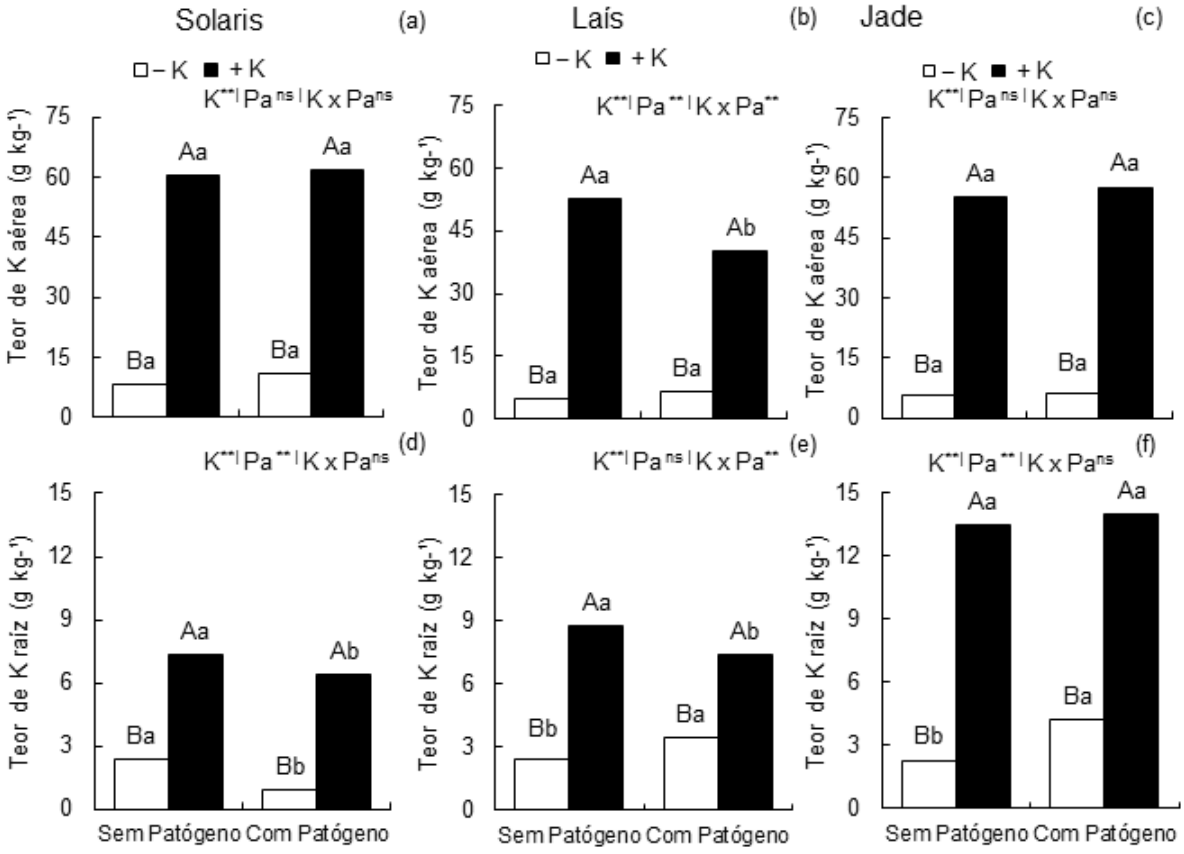


Figura 2. Teor de potássio (K) na parte aérea e na raíz de plantas de alface em função da inoculação com o patógeno *Bremia lactucae* sem K (-K) e com K (+K) nas cultivares Solares (experimento I) (a,d), Laís (experimento II) (b,e) e Jade (experimento III) (c,f). Letras maiúsculas indicam diferença entre K na mesma condição do patógeno, e letras minúsculas indicam diferença entre patógeno (Pa) na mesma condição de K pelo teste de Student (LSD). ** e *: significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, ns: não significativo.

A presença do patógeno em relação a sua ausência nas plantas que não receberam o K houve aumentou do índice de extravasamento de eletrólitos celulares das plantas dos três experimentos, mesmo nas plantas com resistência. Porém, nas plantas inoculadas com patógeno, o fornecimento adequado do K promoveu a diminuição no índice de extravasamento de eletrólitos celulares das plantas dos três experimentos (Figura 3 a-b-c).

A inoculação com o patógeno em relação a sua ausência nas plantas que não receberam o K diminuiu os valores de Fv/Fm nas plantas dos três experimentos (Figura 3d-e-f). No entanto, o fornecimento de K em relação a sua deficiência

aumentou esses valores nas plantas inoculadas nos três experimentos (Figura 3d-e-f).

A presença do patógeno nas plantas em relação a sua ausência, e nas plantas deficientes em K aumentou o teor de fenóis totais somente nas plantas da cultivar Jade, com resistência completa; mas nas plantas que receberam fornecimento adequado do nutriente, houve aumento do teor de fenóis totais nas plantas dos três experimentos (Figura 3g-h-i). O fornecimento adequado do K nas plantas inoculadas aumentou o teor de fenóis totais das plantas dos três experimentos (Figura 3g-h-i).

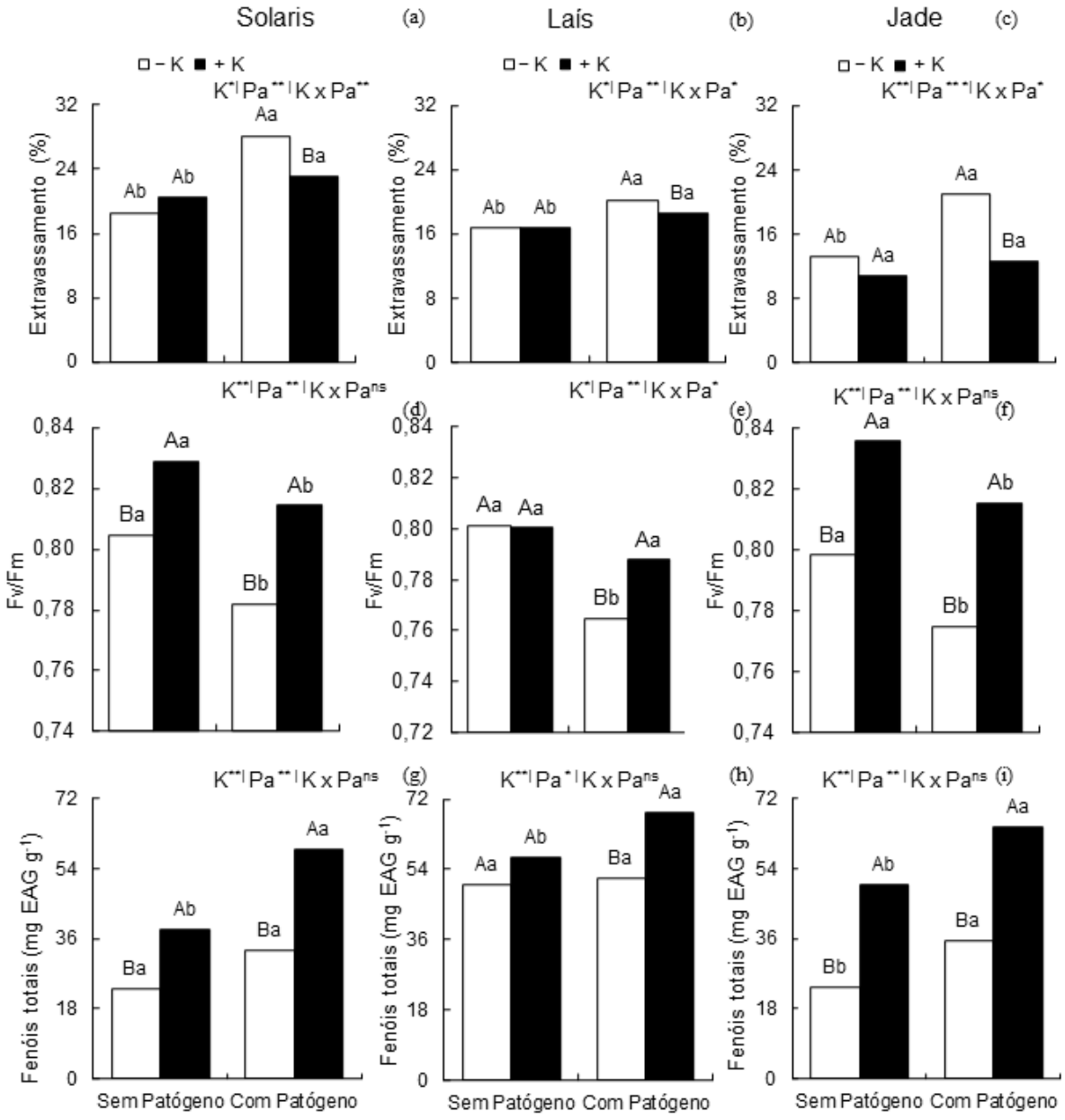


Figura 3. Extravassamento de eletrólitos totais, eficiência quântica do PSII (Fv/Fm) e fenóis totais em plantas de alface em função da inoculação com o patógeno *B.*

lactucae sem K (-K) e com K (+K) nas cultivares Solares (experimento I) (a,b,c), Laís (experimento II) (d,e,f) e Jade (experimento III) (g,h,i). Letras maiúsculas indicam diferença entre K na mesma condição do patógeno, e letras minúsculas indicam diferença entre patógeno na mesma condição de K pelo teste de Student (LSD). ** e *: significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, ns: não significativo.

A inoculação das plantas com o patógeno diminuiu o teor de clorofila total e de carotenoides nas plantas com deficiência de K, nos três experimentos (Figura 4). O fornecimento adequado do K aumentou os teores de clorofila total nas plantas inoculadas, nos três experimentos, e aumentou os teores de carotenoides nas plantas inoculadas dos experimentos II e III (Figura 4e-f), não indicando efeito para as plantas do experimento I (Figura 4d).

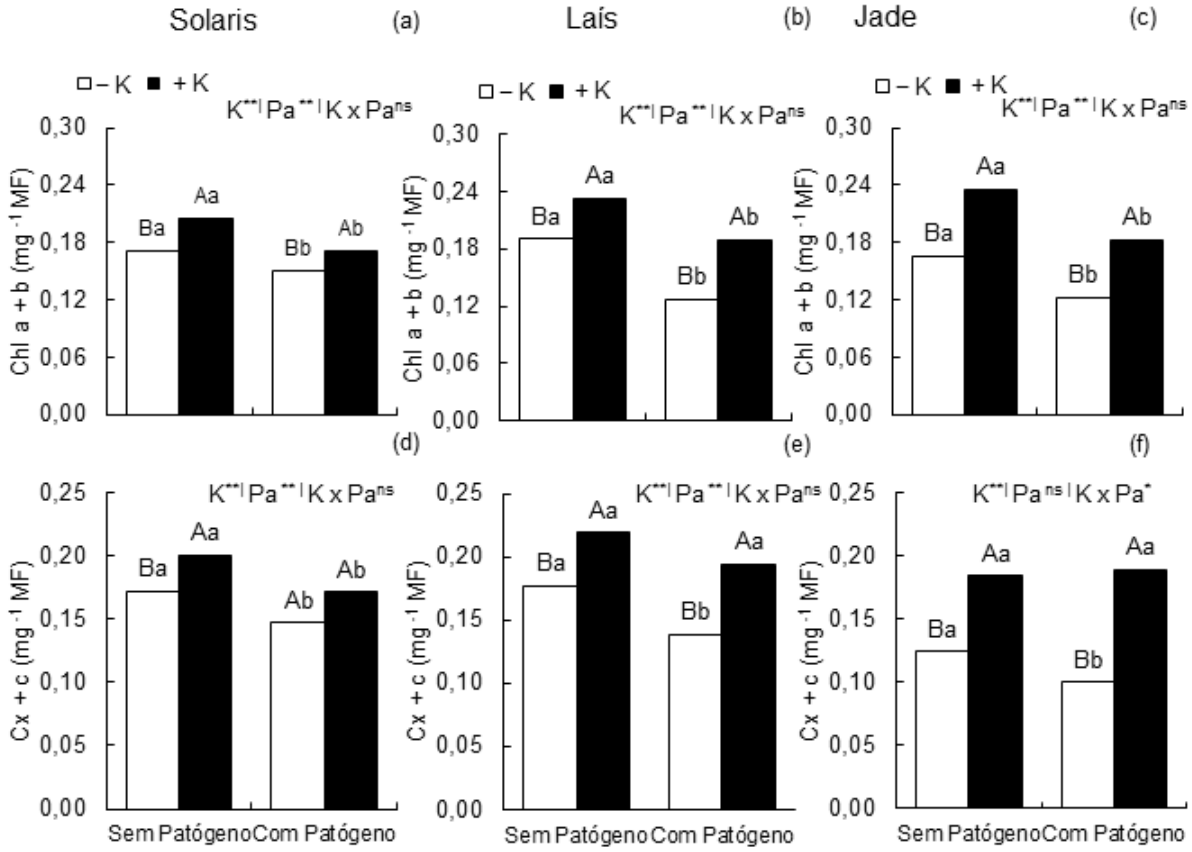


Figura 4. Clorofila total e carotenoides em plantas de alface em função da inoculação com o patógeno *Bremia lactucae* sem K (-K) e com K (+K) nas cultivares Solares (experimento I) (a,b,c), Laís (experimento II) (d,e,f) e Jade (experimento III) (g,h,i). Letras maiúsculas indicam diferença entre K na mesma condição do patógeno, e letras minúsculas indicam diferença entre patógeno na mesma condição de K pelo teste de Student (LSD). ** e *: significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, ns: não significativo.

A inoculação com o patógeno em relação a sua ausência diminuiu a quantidade de aminoácidos totais nas plantas cultivadas com e sem K para os experimentos I e II, e somente para as plantas deficientes no experimento III (Figura 5a-b-c). Além disso, o fornecimento do K diminuiu a quantidade de aminoácidos totais nas plantas inoculadas com o patógeno nos três experimentos (Figura 5).

A presença do patógeno nas plantas em relação a sua ausência com e sem fornecimento do K causou diminuição do conteúdo de açucares totais nas plantas dos experimentos I e II, e somente para as plantas sem deficiência no experimento III (Figura 5d-e-f). Além disso, nas plantas inoculadas, o fornecimento do K diminuiu o conteúdo de açucares totais nas plantas dos três experimentos (Figura 5).

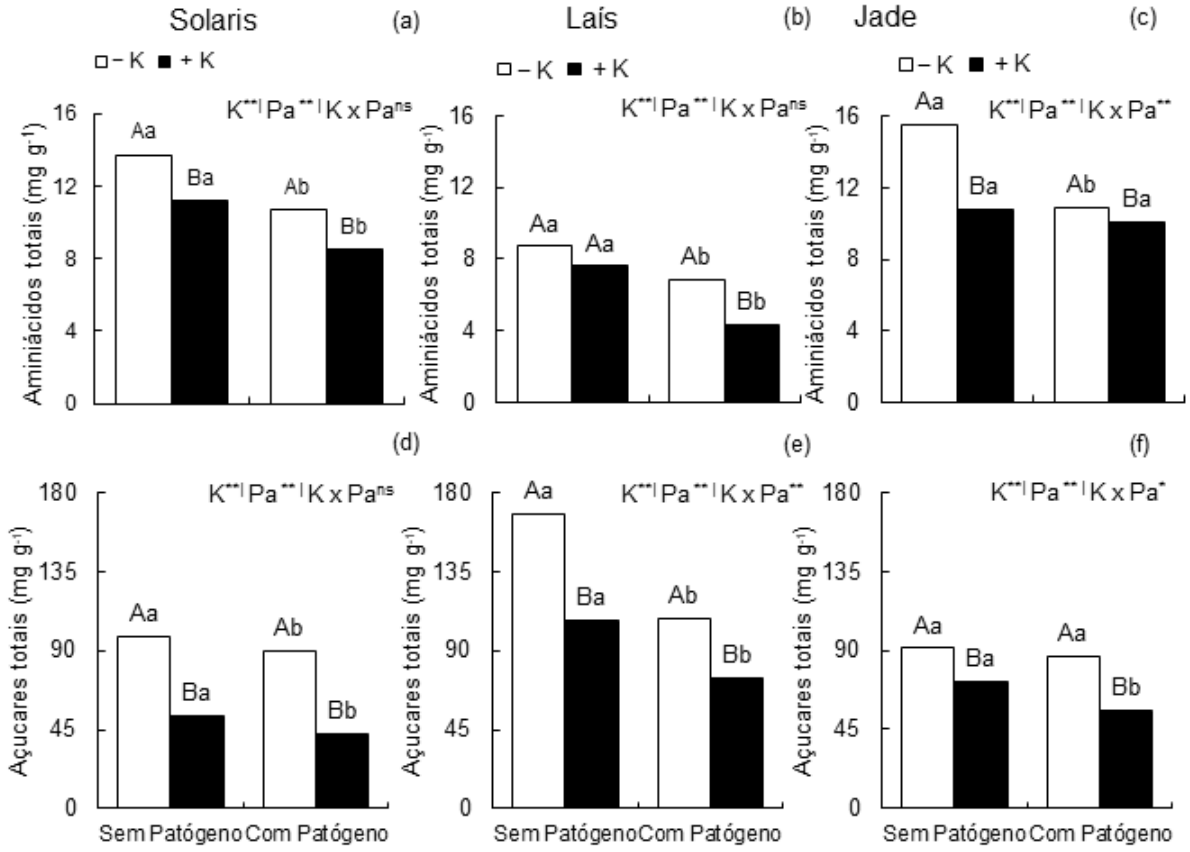


Figura 5. Aminoácidos totais e açucares totais em plantas de alface em função da inoculação com o patógeno *Bremia lactucae* sem K (-K) e com K (+K) nas cultivares Solares (experimento I) (a,b,c), Laís (experimento II) (d,e,f) e Jade (experimento III) (g,h,i). Letras maiúsculas indicam diferença entre K na mesma condição do patógeno, e letras minúsculas indicam diferença entre patógeno na mesma condição de K pelo teste de Student (LSD). ** e *: significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, ns: não significativo.

As plantas que foram inoculadas em relação a ausência do patógeno e que não receberam o K tiveram uma redução na massa fresca no experimento I (Figura 6a) e da massa seca da parte aérea das plantas dos três experimentos (Figura 6d-e-f). A aplicação de K nas plantas inoculadas incrementou a massa fresca (Figura 6a-b-c) e a massa seca da parte aérea das plantas dos três experimentos (Figura 6d-e-f).

A inoculação com o patógeno em relação a sua ausência, nas plantas com deficiência de K, causou redução da massa seca da raiz das plantas dos três experimentos (Figura 6g-h-i). Nas plantas com patógeno, o fornecimento adequado de K incrementou a massa seca da raiz apenas das plantas do experimento I e III (Figura 6g-i), não tendo efeito nas plantas do experimento II (Figura 6h). Observou-se ainda o efeito do nutriente no fortalecimento e crescimento das plantas sem patógeno ao incrementar a produção de massa úmida, massa seca da parte aérea e da raiz das plantas dos três experimentos (Figura 6).

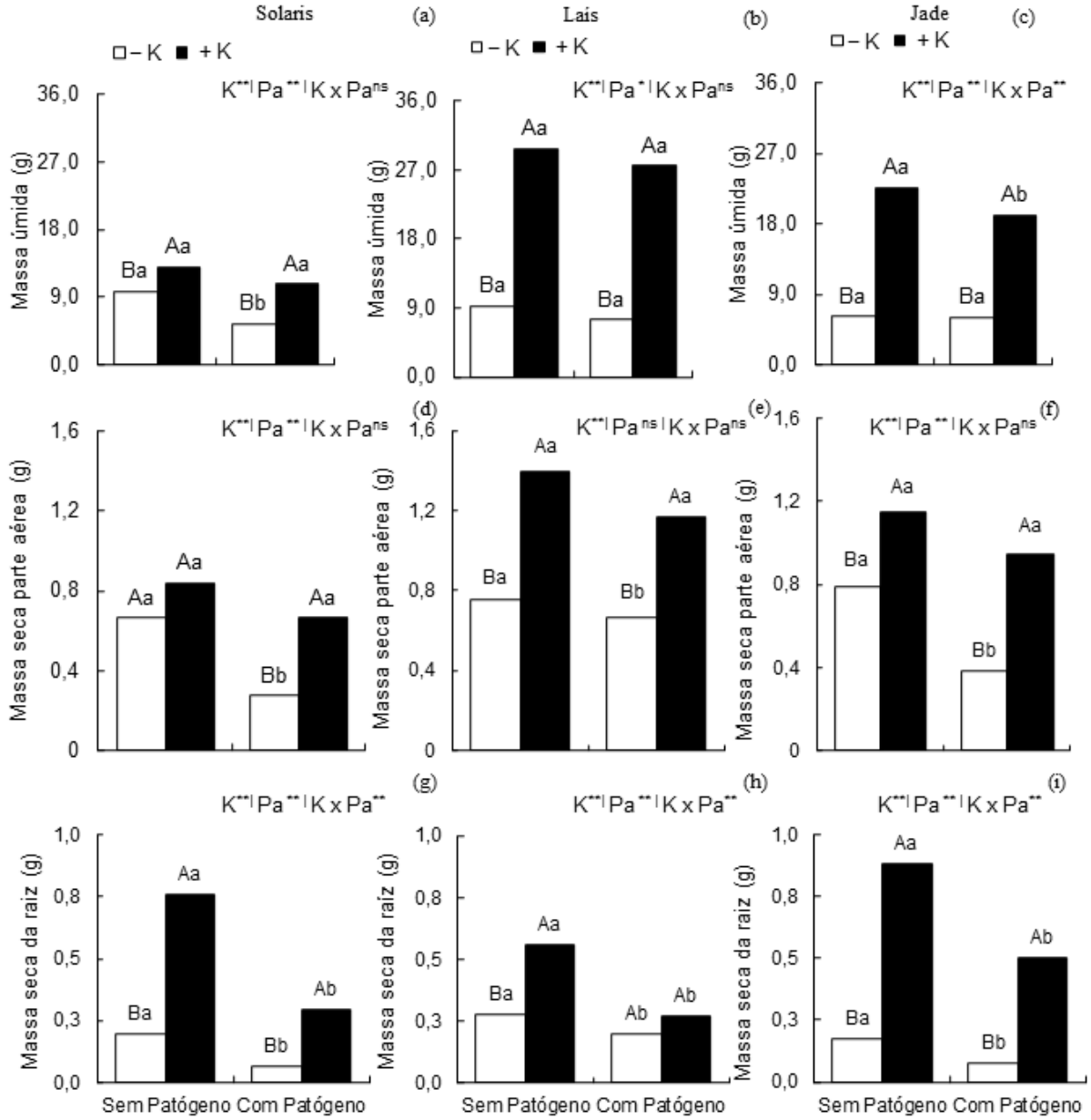


Figura 6. Massa úmida (a,b,c), massa seca da parte aérea (d,e,f) e massa seca da raiz (g,h,i) de plantas de alface em função da inoculação com o patógeno *Bremia lactucae* sem K (-K) e com K (+K) nas cultivares Solares (experimento I) (a,b,c), Laís (experimento II) (d,e,f) e Jade (experimento III) (g,h,i). Letras maiúsculas indicam diferença entre K na mesma condição do patógeno, e letras minúsculas indicam diferença entre patógeno na mesma condição de K pelo teste de Student (LSD). ** e *: significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, ns: não significativo.

Nas plantas com a presença da doença *Bremia lactucae* houve efeito atenuante do K ao diminuir os valores da severidade da doença nas plantas dos três experimentos (Figura 7a-b-c).

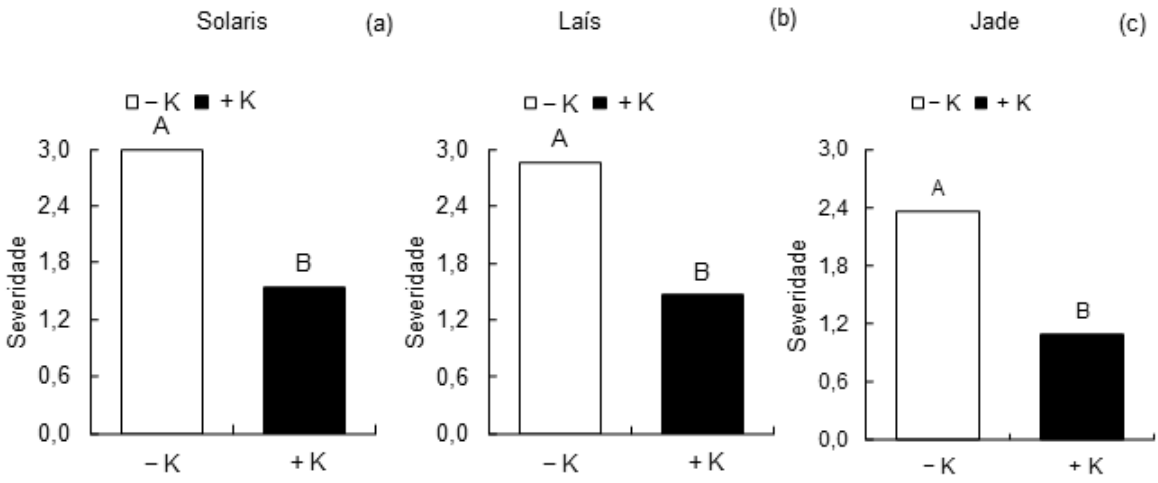


Figura 7. Severidade da doença míldio da alface em função da inoculação com o patógeno *Bremia lactucae* sem K (-K) e com K (+K) nas cultivares, Solares (experimento I) (a), Laís (experimento II) (b) e Jade (experimento III) (c). Letras diferentes indicam diferença entre K na mesma condição de patógeno pelo teste de Student (LSD). ** e *: significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente, ns: não significativo.

3.1 Integração da multivariada na resposta fisiológica

Os resultados das análises univariadas apresentados anteriormente demonstram que a deficiência de K agrava consistentemente os efeitos do míldio, resultando em maior extravasamento de eletrólitos, menores valores de Fv/Fm, menor conteúdo de pigmentos, menor biomassa e maior severidade da doença nas três cultivares, independentemente de seus níveis de resistência genética. Para caracterizar como essas variáveis covariam e, conjuntamente, discriminam os quatro tratamentos K x patógeno dentro de cada cultivar, bem como para comparar a intensidade dessa separação ao longo do gradiente de resistência, foi realizada uma análise de componentes principais (PCA) separadamente para cada cultivar, complementada por um mapa de calor de Z-score, comparando as três cultivares lado a lado.

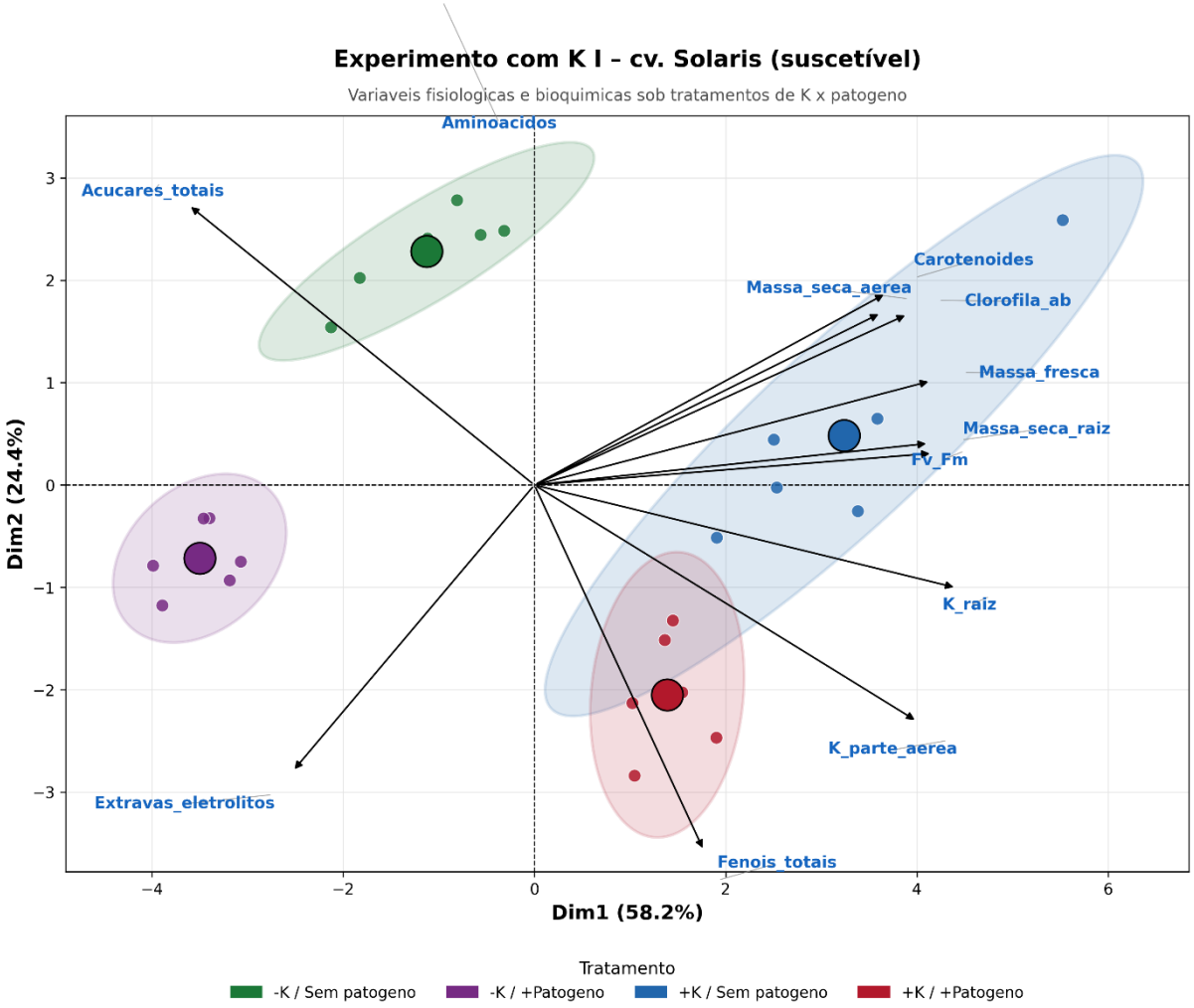


Figura 8. Biplot de componentes principais, Experimento I (cv. Solaris, suscetível). Observações individuais (n = 6 por tratamento) plotadas nos dois primeiros componentes principais, extraídos da matriz padronizada para variância unitária de doze variáveis fisiológicas e bioquímicas (teores de K na parte aérea e nas raízes, extravasamento de eletrólitos, Fv/Fm, fenólicos totais, clorofila, carotenoides, aminoácidos, açúcares totais, massa fresca, massa seca da parte aérea e massa seca das raízes). Os pontos são diferenciados por cores de acordo com o tratamento fatorial 2 × 2; símbolos sólidos maiores representam os centróides dos tratamentos, e as elipses sombreadas representam as regiões de confiança de 95%. Dim1 e Dim2 explicam 58,2% e 24,4% da variância total, respectivamente (82,6% acumulado).

Na cultivar ‘Solaris’, os quatro tratamentos foram distribuídos em quatro elipses de confiança de 95% bem separadas ao longo da Dim1 (58,2% da variância). O tratamento −K/+Patógeno ocupou a extremidade negativa da Dim1, co-localizado com os vetores de extravasamento de eletrólitos e fenólicos totais, que apontaram em sua direção, enquanto os tratamentos +K/Sem patógeno e +K/+Patógeno ocuparam a extremidade positiva, associados aos vetores de teor de K, biomassa, clorofila,

carotenoides e Fv/Fm. O tratamento −K/Sem patógeno apresentou separação principalmente ao longo da Dim2, em direção aos vetores de aminoácidos e açúcares totais, identificando o acúmulo de metabólitos primários como a assinatura da deficiência de K na ausência do patógeno, distinta da assinatura de estresse oxidativo/danos que predomina quando o patógeno está presente.

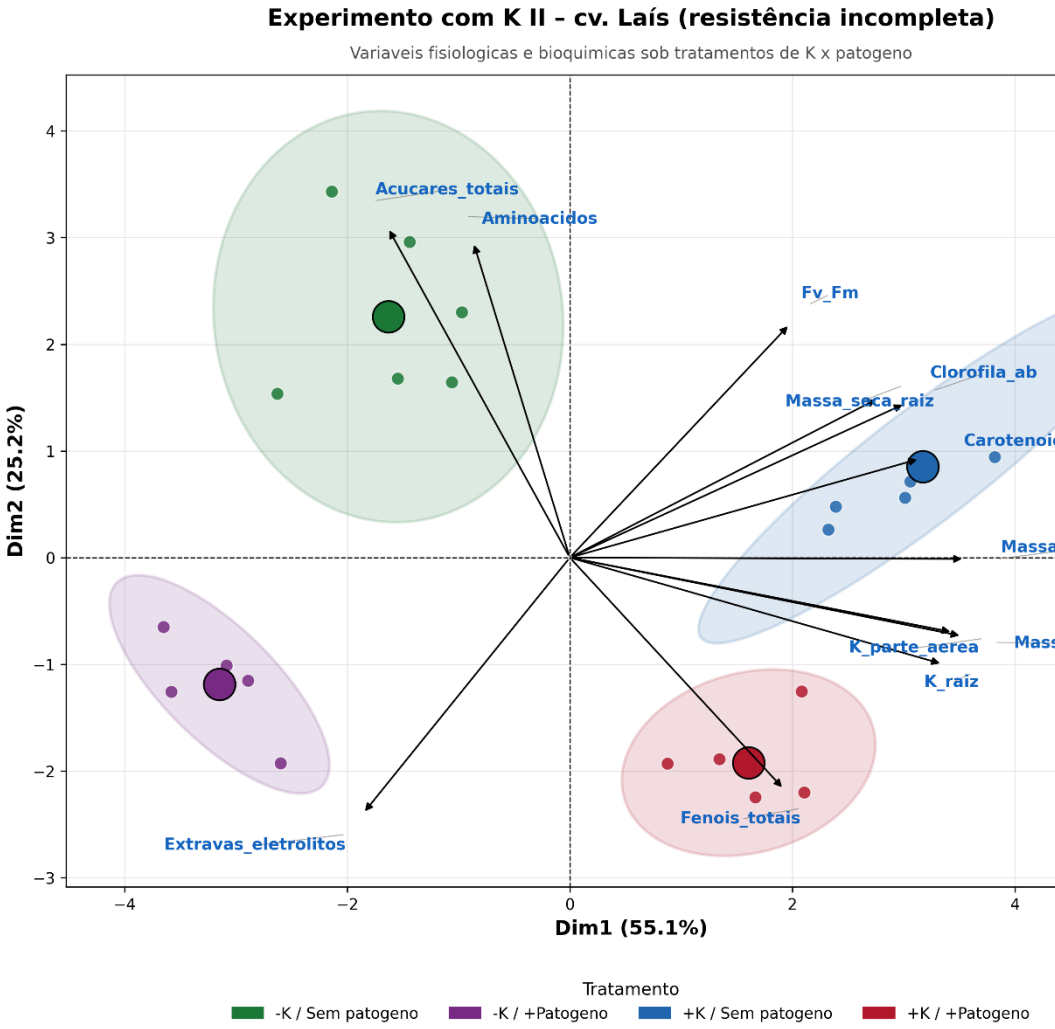


Figura 9. Biplot de componentes principais, Experimento II (cv. Laís, resistência incompleta). Observações individuais (n = 6 por tratamento) plotadas nos dois primeiros componentes principais, seguindo a mesma convenção apresentada na Figura 8. Dim1 e Dim2 explicam 55,1% e 25,2% da variância total, respectivamente (80,3% acumulado).

A mesma geometria geral foi observada na cultivar ‘Laís’, com o tratamento −K/+Patógeno isolado na extremidade negativa da Dim1, juntamente ao vetor de extravasamento de eletrólitos, enquanto os dois tratamentos +K se agruparam na extremidade positiva da Dim1, associados aos vetores de teor de K, biomassa e

pigmentos. Os fenólicos totais apresentaram uma separação mais evidente em direção especificamente ao tratamento +K/+Patógeno, consistente com o resultado univariado de que a indução de fenólicos sob desafio do patógeno exigiu suprimento adequado de K nesta cultivar.

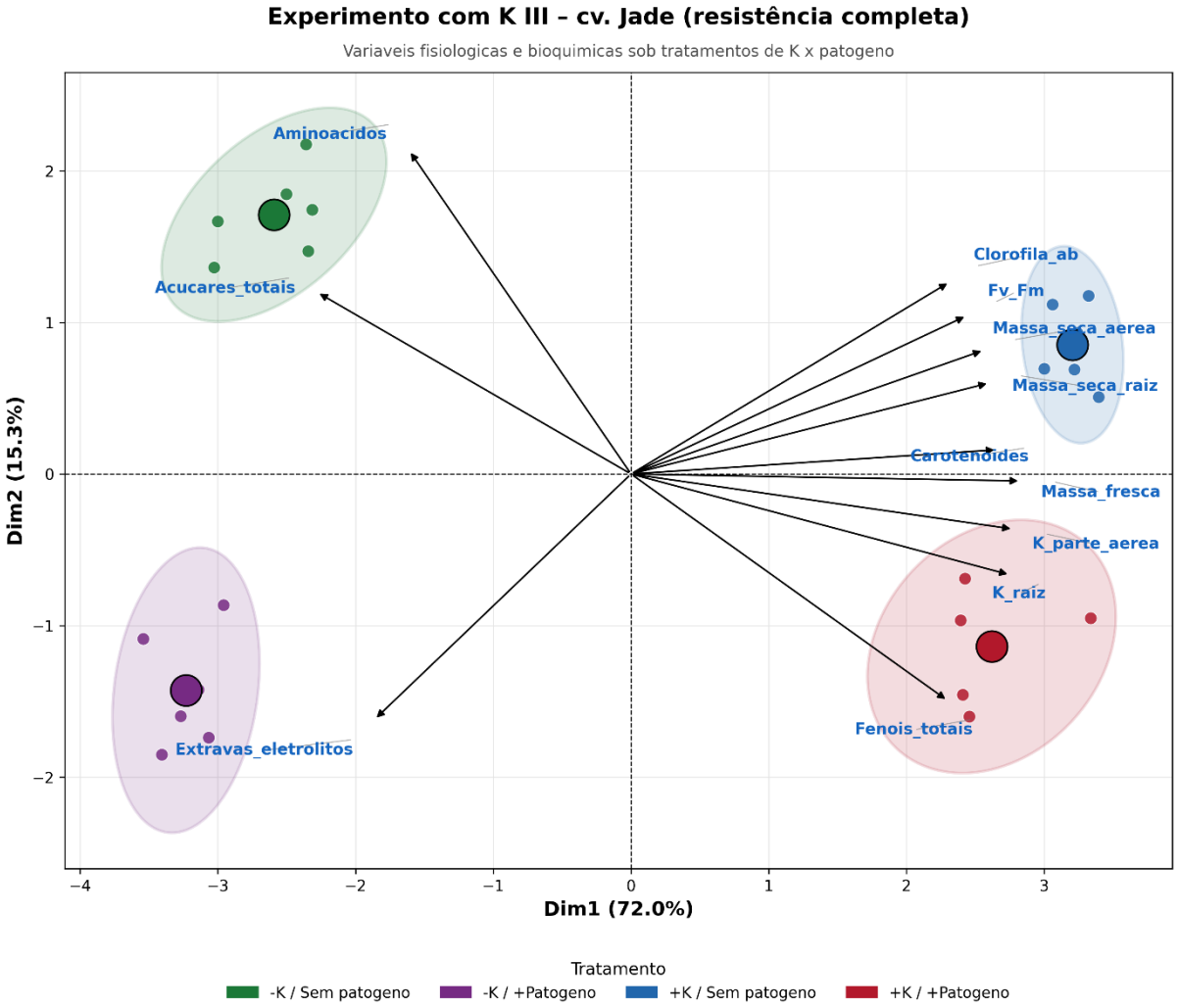


Figura 10. Biplot de componentes principais, Experimento III (cv. Jade, resistência completa). Observações individuais (n = 6 por tratamento) plotadas nos dois primeiros componentes principais, seguindo a mesma convenção apresentada na Figura 8. Dim1 e Dim2 explicam 72,0% e 15,3% da variância total, respectivamente (87,3% acumulado).

A separação entre os tratamentos foi mais acentuada na cultivar ‘Jade’, na qual a Dim1, isoladamente, explicou 72,0% da variância total, o maior valor entre as três cultivares, separando claramente os dois tratamentos deficientes em K (Dim1 negativa) dos dois tratamentos com suprimento adequado de K (Dim1 positiva), enquanto o fator patógeno foi discriminado principalmente ao longo da Dim2. Essa

participação progressivamente maior da variância explicada pela Dim1 de Solaris (58,2%) para Laís (55,1%) e Jade (72,0%) reflete, em nível multivariado, o padrão univariado de uma resposta fisiológica progressivamente mais coerente e dominada pelo K à medida que aumenta a resistência da cultivar.

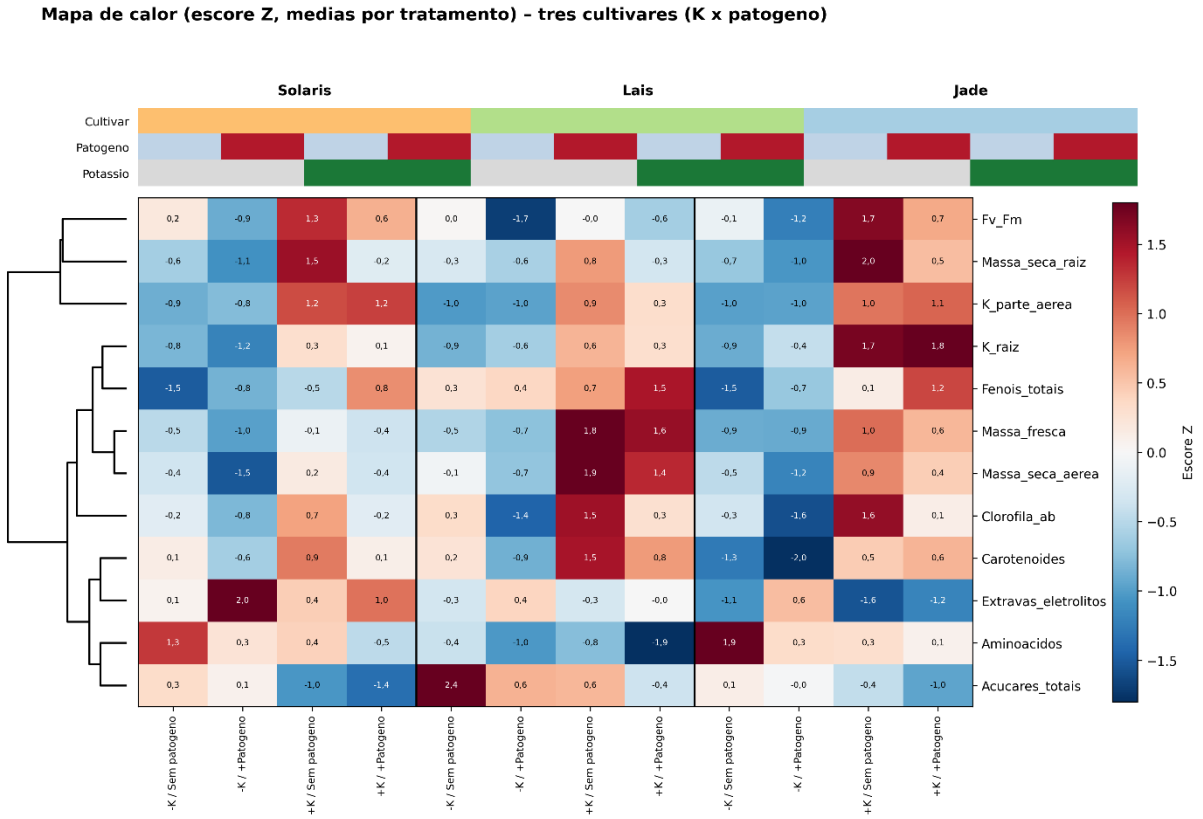


Figura 11. Heatmap comparativo das médias dos tratamentos padronizadas por Z-score entre as três cultivares. Cada célula apresenta o Z-score da média de um tratamento, calculado por meio da centralização e padronização de cada variável (linhas) considerando conjuntamente todas as doze colunas (quatro tratamentos × três cultivares), permitindo a comparação direta dos níveis absolutos das médias dos tratamentos entre as cultivares. Dendrograma das linhas: agrupamento hierárquico (método de ligação Ward.D2, distância euclidiana). As barras de anotação das colunas identificam a cultivar, o status do patógeno e o status de potássio. Linhas verticais pretas separam os três blocos correspondentes às cultivares.

O heatmap comparativo confirma que o bloco de variáveis relacionadas ao estresse oxidativo/danos (extravasamento de eletrólitos e, nas cultivares resistentes, supressão de pigmentos e biomassa relacionada à doença) apresenta valores consistentemente elevados na coluna −K/+Patógeno nas três cultivares, enquanto as variáveis relacionadas ao teor de K e à biomassa apresentam valores consistentemente elevados nas colunas +K, independentemente da cultivar. Também

são observados padrões específicos de cada cultivar: os aminoácidos e os açúcares totais atingem seus maiores Z-scores especificamente na coluna −K/Sem patógeno de cada cultivar (mais pronunciado em Laís, Z = 2,4), corroborando o resultado univariado de que a deficiência de K, por si só, independentemente da presença do patógeno, promove o acúmulo de metabólitos primários, um padrão compatível com maior disponibilidade de substratos para o patógeno após a inoculação.

4 Discussão

4.1 Efeito da deficiência de K e a ocorrência de patógeno

O K é o segundo nutriente mais exigido em cultivos de *Lactuca sativa*, exercendo funções metabólicas essenciais para o crescimento das plantas (Furlani, 2004). A deficiência de K prejudica vários processos na planta, inclusive a fotossíntese devido ao papel crítico do K no aumento da condutância estomática das folhas e na regulação das células guarda (Jákli *et al.*, 2017).

O K auxilia no controle da permeabilidade da membrana citoplasmática, evitando o efluxo de açucares e aminoácidos para o apoplasto (Fageria *et al.*, 2007). Portanto, a falta desse nutriente pode ocasionar o acúmulo de aminoácidos que podem servir como alimento ao patógeno, deixando a planta mais atrativa ao ataque de doenças (Berger, Sinha e Roitsch, 2007) havendo diminuição da síntese de proteínas prejudicando a fisiologia da planta comprometendo os mecanismos de defesa da cultura. No entanto, os prejuízos no metabolismo da planta sob deficiência de K varia com a espécie e com o patógeno.

Neste contexto, foi possível avançar no conhecimento para desvendar os efeitos da deficiência de K em aspectos fisiológicos em plantas de alface inoculada com o patógeno *B. lactucae.* Observou-se que esse estresse nutricional causou danos na planta de alface ao incrementar o índice de extravasamento de eletrólitos, mesmo nas cultivares com algum nível de resistência. Esse aumento de estresse ocorre devido a indução de estresse oxidativo causado pela morte celular próximo da região infectada devido ao excesso de espécies reativas de oxigênio (ERO), com o objetivo de conter o avanço da doença (Curvêlo *et al.*, 2013). Como mecanismo de defesa das plantas, quando infectadas por patógenos, possuem a característica de poder induzir

estresse oxidativo, este estresse pode ocorrer devido ao aumento do teor de malondialdeído (MDA), um composto orgânico que é produzido como subproduto do metabolismo lipídico no organismo, podendo causar danos às células e aos tecidos vegetais (Curvêlo *et al.*, 2013). Assim o patógeno atua diminuindo compostos antioxidantes, impedindo a ação de neutralização de espécies reativas de oxigênio (Resende *et al.*, 2012), que fazem com que ocorra a degradação da clorofila (Khan e Siddiqui, 2020), a diminuição dos níveis de carotenoides pode comprometer a capacidade da planta de se proteger contra o estresse oxidativo, uma vez que esses pigmentos atuam como antioxidantes (Cássia Alves, de *et al.*, 2022).

Evidenciamos que o estresse na fisiologia da planta infectada com míldio induziu a diminuir do teor de clorofila e provocou consequentemente da eficiência fotossintética (fv/fm), nos três experimentos. Esses efeitos se devem ao aumentando da degradação da clorofila (Khan e Siddiqui, 2020), e da diminuição dos carotenoides, que são compostos antioxidantes responsáveis por neutralizar espécies reativas de oxigênio (Resende *et al.*, 2012). Soma-se a isto, o fato que a própria colonização do patógeno da epiderme celular (Michelmore e Wong, 2008) reduziu a área fotossinteticamente ativa, comprometendo a adequada taxa fotossintética da planta.

O aumento no teor de açucares em plantas com deficiência de K ocorre pelo modo de atuação do nutriente em incorporar açucares redutores com menor formação de amido e celulose, ocasionando um menor desenvolvimento da planta (SILVA, 2020). No entanto, com a presença do patógeno, pode haver o consumo de açucares livres (Berger, Sinha e Roitsch, 2007), o que foi observado nessa pesquisa. Além disso, como mecanismo de defesa, na presença de patógenos biotróficos, as plantas podem diminuir a quantidade de aminoácidos no local da infecção para diminuir a quantidade de alimento disponível para o patógeno (Eckardt, 2011).

Verificou-se pela primeira vez em plantas de alface deficiente de K que a doença estudada tem um dano muito grave na planta explicado pelos diversos prejuízos biológicos na hortaliça que minimiza o sistema de defesa da planta ao patógeno. Essas constatações são preocupantes para o avanço da doença nos cultivos pois segundo (Zörb, Senbayram e Peiter, 2014) é comum a ocorrência de solos com baixa disponibilidade de K em diversas regiões do mundo.

4.2 Efeitos do K em aspectos fisiológicos em plantas com patógeno

Uma estratégia sustentável para diminuir o avanço do míldio nos cultivos de alface que pode ser viável seria com uso do K. De modo geral é conhecido que o aumento das concentrações de potássio nas folhas reduz a suscetibilidade de outras doenças (Michereff, 2001) visto em diferentes espécies como em plantas de soja (Levy et al., 2004) e de café (Garcia Junior et al., 2003). No entanto, é preciso aumentar a compreensão dos mecanismos envolvidos especialmente em diferentes cultivares de alface com níveis de resistência distintos ao patógeno.

Para avançar no conhecimento, evidenciamos que o K fortaleceu as defesas da planta contra o patógeno *B. lactucae* pois houve aumento dos teores de carotenoides nas plantas com resistência incompleta e completa, tendo em vista que a reação de defesa contra patógenos é muito onerosa para a planta quanto ao gasto energético (Berger, Sinha e Roitsch, 2007). O K pode induzir a síntese de carotenoides a partir da ativação de enzimas que regulam o metabolismo de carboidratos (Fanasca et al., 2006).

Observamos que o fornecimento adequado de K aumentou os teores de clorofila das três cultivares, por aumentar a eficiência da planta em utilizar o N, através da sua ativação enzimática relacionada a redutase do nitrato (Nelson; Motavalli; Nathan, 2005).

Na presença do patógeno, as plantas com o fornecimento adequado de K apresentaram maior eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm PSII). A deficiência deste nutriente pode fazer com que as plantas não consumam o ATP e o NADPH produzidos na fase fotoquímica da fotossíntese, diminuindo a assimilação de CO2, desta maneira pode ocasionar a formação de espécies ativas de oxigênio, acarretando danos as proteínas e aos fotossistemas, diminuindo a ação da fluorescência da clorofila a na fotossíntese (Pinheiro et al., 2004). O processo de infecção e colonização do tecido vegetal por patógenos acarretam distúrbios metabólicos e fisiológicos vegetais, que envolvem processos como fotossíntese, respiração e transpiração (Silva et al., 2021). A colonização do patógeno *B. lactucae* na epiderme celular (Michelmore e Wong, 2008) diminui a área fotossinteticamente ativa, prejudicando a fotossíntese. No entanto, mesmo as plantas infectadas com o patógeno apresentaram aumento na taxa de fluorescência quando houve o fornecimento adequado de K.

Os compostos fenólicos são importantes fisiologicamente para as plantas de forma que atuam como fitoalexinas e antioxidantes (Popa et al., 2008) e atuam como antioxidantes a partir da neutralização das espécies reativas a oxigênio doando elétrons as moléculas, estabilizando e evitando danos (Dehghanian et al. 2022). Assim, o K aumentou a produção desses compostos, exercendo importante função sobre os efeitos da doença, diminuindo a permeabilidade celular, reduzindo a suscetibilidade do tecido a maceração e penetração do patógeno (Silva, 2020).

4.3 Efeito do K na severidade da doença

A importância do K na diminuição da doença do míldio da alface ainda é desconhecida nesta espécie e especialmente se o benefício deste macronutriente se diferencia com o aumento dos níveis de resistência da cultivar ao patógeno.

Nas plantas das três cultivares de alface estudadas, quando houve o fornecimento adequado de K, houve redução significativa na severidade da doença *Bremia lactucae*. A redução da severidade da doença, causada pelo K, está relacionada ao fortalecimento das vias de defesa das plantas pelo nutriente, tanto nas plantas suscetíveis, quanto nas plantas com resistência incompleta e completa.

Vários autores têm estudado o uso do K no controle de doenças de diferentes espécies de plantas. Mascarenhas et al. (1995) observaram redução na incidência de *Phomopsis phaseoli* var. *sojae* em sementes de soja quando o nível de potássio é adequado. Na cebola, o aumento na concentração de K causou redução da severidade do míldio causado por *Peronospora destructor* (Devalash e Sugha, 1997). Na cultura da videira, observou-se que as parcelas que foram pulverizadas com fosfito de potássio apresentaram proteção consideravelmente alta, com aproximadamente 44% em relação a testemunha (Cavalcante et al., 2021).

Os efeitos benéficos na redução da incidência e severidade de doenças induzidas pelo potássio, podem ser atreladas ao fato de a alta concentração do nutriente nos tecidos favorecerem a síntese e o acúmulo de compostos fenólicos esses que por sua vez atuam como inibidores de pragas e fungos (Silva, 2020). Além disso as plantas deficientes em K apresentam menor síntese de proteínas e aumento do acúmulo de aminoácidos, aumentando a atividade de enzimas decompositoras como sacarase, protease e glucosidase; o acúmulo destes compostos pode influenciar

no equilíbrio osmótico das células, podendo aumentar os exsudados liberados pelas plantas, desta forma o desenvolvimento de patógenos é favorecido (Silva, 2020).

Os resultados desta pesquisa estão alinhados com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da ONU pois verificou-se que o cultivo da alface com baixa incidência do míldio é possível com uso otimizado da nutrição potássica com ampla ação benéfica nos diferentes materiais genéticos independentemente do nível de resistência ao patógeno permitindo garantir ótima produção de massa seca ou fresca sem risco para o ambiente. Portanto, os benefícios desta pesquisa para a produção sustentável da alface têm aplicação global pois é comum cultivo desta espécie em diferentes regiões do mundo em solos com baixa disponibilidade de K.

4.4 Integração multivariada: um gradiente dependente da resistência na separação dos tratamentos

Os resultados multivariados (Figuras 8–11) fornecem uma confirmação independente, considerando o perfil fisiológico como um todo, do padrão univariado descrito anteriormente e acrescentam um aspecto que não é evidente na análise de variância variável a variável: o grau de separação dos tratamentos K x patógeno ao longo de um único eixo dominante aumenta sistematicamente com o nível de resistência genética da cultivar. A Dim1 explicou 58,2% da variância na cultivar suscetível (Solaris), 55,1% na cultivar com resistência incompleta (Laís) e 72,0% na cultivar com resistência completa (Jade), sendo este o maior valor entre as três cultivares. Na Jade, esse único eixo separou claramente os dois tratamentos deficientes em K dos dois tratamentos com suprimento adequado de K, enquanto o fator patógeno foi discriminado quase inteiramente no eixo secundário (Dim2), indicando que, nesse background genético, o status de K é o principal fator determinante do perfil fisiológico global, com maior influência do que a própria presença do patógeno.

Esse padrão é consistente com, e amplia, o resultado univariado de que o efeito protetor do K não se restringiu a uma única classe de resistência: o heatmap comparativo (Figura 11) demonstra a recorrência, nas três cultivares, do mesmo balanço entre estresse oxidativo/danos e crescimento, com diferenças específicas entre cultivares principalmente relacionadas às variáveis secundárias (por exemplo,

fenólicos totais e aminoácidos) que mais fortemente caracterizam o estado de deficiência de K sob desafio do patógeno. Em conjunto, a análise multivariada sustenta a recomendação de um suprimento adequado de K como componente de ampla aplicabilidade no manejo do míldio, cuja contribuição relativa para a manutenção da coerência fisiológica global da planta pode ser maior justamente em backgrounds genéticos que já apresentam elevada resistência.

6 Conclusão

A inoculação da *Bremia lactucae* em plantas de alface cultivada sob deficiência de K induz elevada severidade desta doença na planta independentemente do nível de resistência ao patógeno. Descobrimos que isso ocorreu devido ao fato que a presença da doença incrementou o estresse oxidativo e consequentemente diminuiu pigmento fotossintetizante, a eficiência fotossintética.

A nutrição potássica adequada foi eficiente para diminuir a severidade da *Bremia Lactucae* e deve ser indicada para plantas suscetíveis, com resistência incompleta e completa ao patógeno por diminuir estresse oxidativo e favorecer a fisiologia e com isso diminuiu os metabólitos secundários especialmente os aminoácidos e açúcares totais devido uso no metabolismo para a produção de massa seca da planta. A análise multivariada corrobora essa conclusão e demonstra, adicionalmente, que a coerência da resposta fisiológica promovida pelo K, capturada ao longo de um único eixo dominante de ordenação, é mais acentuada na cultivar com resistência completa, sugerindo que a nutrição potássica e a resistência genética podem atuar de forma complementar e mutuamente reforçadora.

7 Referências

ABED-ASHTIANI, F.; KADIR, J.; SELAMAT, A.; HANIF, A. H. B.; NASEHI, A. Effect of Foliar and Root Application of Silicon Against Rice Blast Fungus in MR219 Rice Variety. **Plant Pathology Journal**, v. 28 (2), p. 164–171, 2012.

ALSCHER, R. G.; ERTURK, N.; HEATH, L. S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 372, p. 1331–1341, 15 maio 2002.

ANDERSON, J. V.; DAVIS, D. G. Abiotic stress alters transcript profiles and activity of glutathione S-transferase, glutathione peroxidase, and glutathione reductase in Euphorbia esula. **Physiologia Plantarum**, v. 120, n. 3, p. 421–433, 1 mar. 2004.

ASADA, K. Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. **Physiologia Plantarum**, v. 85, n. 2, p. 235–241, 1 jun. 1992.

AWASTHI, R.; BHANDARI, K.; NAYYAR, H. Temperature stress and redox homeostasis in agricultural crops. **Frontiers in Environmental Science**, v. 3, n. MAR, p. 11, 17 mar. 2015.

BALARDIN, R. S.; DALLAGNOL, L. J.; DIDONÉ, H. T.; NAVARINI, L. Influência do Fósforo e do Potássio na Severidade da Ferrugem da Soja Phakopsora pachyrhizi. **Fitopatol. Bras**, v. 31, n. 5, 2006.

BATAGLIA, O. C.; FURLANI, A. M. C.; TEIXEIRA, J. P. F.; FURLANI, P. R.; GALLO, J. R. **Métodos de análise química de plantas**. [s.l: s.n.].

BERGER, S.; PAPADOPOULOS, M.; SCHREIBER, U.; KAISER, W.; ROITSCH, T. Complex regulation of gene expression, photosynthesis and sugar levels by pathogen infection in tomato. **Physiologia Plantarum**, v. 122, n. 4, p. 419–428, 1 dez. 2004.

BERGER, S.; SINHA, A. K.; ROITSCH, T. Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant–pathogen interactions. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, n. 15–16, p. 4019–4026, 1 dez. 2007.

BOARETTO, L. F.; CARVALHO, G.; BORGO, L.; CRESTE, S.; LANDELL, M. G. A.; MAZZAFERA, P.; AZEVEDO, R. A. Water stress reveals differential antioxidant responses of tolerant and non-tolerant sugarcane genotypes. **Plant physiology and biochemistry : PPB**, v. 74, p. 165–175, 2014.

BONFIG, K. B.; SCHREIBER, U.; GABLER, A.; ROITSCH, T.; BERGER, S. Infection with virulent and avirulent P. syringae strains differentially affects photosynthesis and sink metabolism in Arabidopsis leaves. **Planta**, v. 225, n. 1, p. 1–12, 29 dez. 2006.

BRABANDT, H.; BAURIEGEL, E.; GÄRBER, U.; HERPPICH, W. B. ΦPSII and NPQ to evaluate Bremia lactucae-infection in susceptible and resistant lettuce cultivars. **Scientia Horticulturae**, v. 180, p. 123–129, 17 dez. 2014.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1–2, p. 248–254, 7 maio 1976.

BRAZ, L. T.; DINIZ, G. M. M.; CASTOLDI, R.; NUNES, R. C.; GALATTI, F. S.; CAMARGO, M.; MARIN, M. V.; DALPIAN, T.; SOUZA, J. O.; GOMES, R. F.; RABELO, H. O. Monitoring races of Bremia lactucae in the State of São Paulo from 2003 to 2012. **Acta Horticulturae**, v. 1127, p. 325–329, 25 nov. 2016.

CARVALHO, L. T. DA S.; PRADO, R. DE M.; SILVA, J. L. F. DA; FERREIRA, P. M.; ANTONIO, R. I. Impact of Nanotechnology from Nanosilica to Mitigate N and P Deficiencies Favoring the Sustainable Cultivation of Sugar Beet. **Nanomaterials 2022, Vol. 12, Page 4038**, v. 12, n. 22, p. 4038, 17 nov. 2022.

CÁSSIA ALVES, R. DE; SANTOS ZUCCO, M. F. DOS; OLIVEIRA, K. R.; CHECCHIO, M. V.; FRANCO, C. A.; KÖRÖSI, K.; GRATÃO, P. L. Seed Priming with Silicon Improves Plant Resistance to Downy Mildew (Bremia lactucae) in Lettuce Seedlings by Intensifying Antioxidant Defense Systems. **Silicon**, v. 14, n. 18, p. 12721–12731, 1 dez. 2022.

CASTOLDI, R.; CHARLO HCO; DALPIAN T; MELO DM; BOTELHO AP;; BRAZ LT. Identification of new Bremia lactucae races in lettuce in São Paulo state. **Horticultura Brasileira**, v. 30, p. 209–213, 2012.

CHOU, H. M.; BUNDOCK, N.; ROLFE, S. A.; SCHOLES, J. D. Infection of Arabidopsis thaliana leaves with Albugo candida (white blister rust) causes a reprogramming of host metabolism. **Molecular Plant Pathology**, v. 1, n. 2, p. 99–113, 1 mar. 2000.

CURVÊLO, C. R. DA S.; RODRIGUES, F. Á.; PEREIRA, L. F.; SILVA, L. C.; DAMATTA, F. M.; BERGER, P. G. Trocas gasosas e estresse oxidativo em plantas de algodoeiro supridas com silício e infectadas por Ramularia areola. **Bragantia**, v. 72, n. 4, p. 346–359, 2013.

DEBONA, D.; RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. Silicon's Role in Abiotic and Biotic Plant Stresses. **Annual Review of Phytopathology**, v. 55, p. 85–107, 2017.

DICKINSON, C. H.; CRUTE, I. R. The influence of seedling age and development on the infection of lettuce by Bremia lactucae. **Annals of Applied Biology**, v. 76, n. 1, p. 49–61, 1 jan. 1974.

DUBOIS, M.; GILLES, K.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. A Colorimetric Method for the Determination of Sugars. **Nature 1951 168:4265**, v. 168, n. 4265, p. 167–167, 1951.

ECKARDT, N. A. Interconnected Metabolism of Host Plants and Obligate Biotrophic Pathogens. **The Plant Cell**, v. 23, n. 7, p. 2475–2475, 1 jul. 2011.

FAGERIA, N. K.; PRABHU, A. S.; HUBER, D. M.; RODRIGUES, F. A. Potassium and pland diseases. *Em*: DATNOFF, L. E.; ELMER, W. H.; HUBER, D. M. (Eds.). . **Mineral nutrition and plant disease**. Saint Pau: APS PRESS, 2007. p. 57–78.

FALL, M. L.; HEYDEN, H. VAN DER; BEAULIEU, C.; CARISSE, O. Bremia lactucae infection efficiency in lettuce is modulated by temperature and leaf wetness duration under Quebec field conditions. **Plant Disease**, v. 99, n. 7, p. 1010–1019, 5 jun. 2015.

FALL, M. L.; HEYDEN, H. VAN DER; CARISSE, O. A Quantitative Dynamic Simulation of Bremia lactucae Airborne Conidia Concentration above a Lettuce Canopy. **PLOS ONE**, v. 11, n. 3, p. e0144573, 1 mar. 2016.

FAOSTAT. **Lettuce and chicory crop production.** Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QV/visualize>. Acesso em: 17 abr. 2023.

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

FAWE, A.; MENZIES, J. G.; CHÉRIF, M.; BÉLANGER, R. R. Chapter 9 Silicon and disease resistance in dicotyledons. **Studies in Plant Science**, v. 8, n. C, p. 159–169, 1 jan. 2001.

FILGUEIRA, F. A. REIS. Novo manual de olericultura : agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças. 2000.

FORTUNATO, A. A.; RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. Silicon Control of Soil-borne and Seed-borne Diseases. *Em*: RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. (Eds.). . **Silicon and Plant Diseases**. Springer ed. [s.l: s.n.]. p. 53–66.

FURLANI, A. M. C. Nutrição Mineral. *Em*: KERBAUY, G. B. (Ed.). . **Fisiologia Vegetal**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2004. p. 57–58.

GAO, H.; WU, X.; YANG, X.; SUN, M.; XIAO, Y.; PENG, F. Silicon inhibits gummosis in peach via ethylene and PpERF-PpPG1 pathway. **Plant Science**, v. 322, p. 111362, 1 set. 2022.

GASTWIRTH, J. L.; GEL, Y. R.; MIAO, W. The Impact of Levene's Test of Equality of Variances on Statistical Theory and Practice. **https://doi.org/10.1214/09-STS301**, v. 24, n. 3, p. 343–360, 1 ago. 2009.

GIANNOPOLITIS, C. N.; RIES, S. K. Superoxide DismutasesI. Occurrence in Higher Plants. **Plant Physiology**, v. 59, n. 2, p. 309–314, 1 fev. 1977.

GOMES, F. B.; MORAES, J. C. DE; SANTOS, C. D. DOS; GOUSSAIN, M. M. Resistance induction in wheat plants by silicon and aphids. **Scientia Agricola**, v. 62, n. 6, p. 547–551, 1 nov. 2005.

GOUSSAIN, M. M.; MORAES, J. C.; CARVALHO, J. G.; NOGUEIRA, N. L.; MÔNICA, E.; ROSSI, L. **Efeito da Aplicação de Silício em Plantas de Milho no Desenvolvimento Biológico da Lagarta-do-Cartucho Spodoptera frugiperda (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae)SP Neotropical Entomology**. [s.l: s.n.].

GRATÃO, P. L.; MONTEIRO, C. C.; CARVALHO, R. F.; TEZOTTO, T.; PIOTTO, F. A.; PERES, L. E. P.; AZEVEDO, R. A. Biochemical dissection of diageotropica and Never ripe tomato mutants to Cd-stressful conditions. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 56, p. 79–96, 1 jul. 2012.

HAN, Y.; LI, P.; GONG, S.; YANG, L.; WEN, L.; HOU, M. Defense Responses in Rice Induced by Silicon Amendment against Infestation by the Leaf Folder Cnaphalocrocis medinalis. **PLOS ONE**, v. 11, n. 4, p. e0153918, 1 abr. 2016.

HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 125, n. 1, p. 189–198, 1 abr. 1968.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants without soil.** (No. 337) ed. [s.l.] The College of Agriculture University of California., 1950.

HUBER, D. M.; WILHELM, N. S. The Role of Manganese in Disease Resistance. *Em*: GRAHAM, R. D.; HANNAM, R. J.; UREN, N. C. (Eds.). . **Manganese in soils and plants**. Australia: KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, 1988. p. 155–167.

HURTADO, A. C.; CHICONATO, D. A.; MELLO PRADO, R. DE; SILVEIRA SOUSA JUNIOR, G. DA; VICIEDO, D. O.; DÍAZ, Y. P.; CALZADA, K. P.; GRATÃO, P. L. Silicon Alleviates Sodium Toxicity in Sorghum and Sunflower Plants by Enhancing Ionic Homeostasis in Roots and Shoots and Increasing Dry Matter Accumulation. **Silicon**, v. 13, n. 2, p. 475–486, 1 fev. 2021.

ILOTT, T. W.; DURGAN, M. E.; MICHELMORE, R. W. Genetics of virulence in Californian population of Bremia lactucae (Lettuce Downy Mildew). **Phytopathology**, v. 77, p. 1381–1386, 1987.

ISLAM, W.; TAUQEER, A.; WAHEED, A.; ALI, H.; ZENG, F. Silicon in plants mitigates damage against pathogens and insect pests. *Em*: PRADO, R. DE M. (Ed.). . **Benefits of Silicon in the Nutrition of Plants** . 1. ed. Berlim: Springer, 2023. v. 1.

JÁKLI, B.; TAVAKOL, E.; TRÄNKNER, M.; SENBAYRAM, M.; DITTERT, K. Quantitative limitations to photosynthesis in K deficient sunflower and their implications on water-use efficiency. **Journal of Plant Physiology**, v. 209, p. 20–30, 1 fev. 2017.

JOBIC, C.; BOISSON, A. M.; GOUT, E.; RASCLE, C.; FÈVRE, M.; COTTON, P.; BLIGNY, R. Metabolic processes and carbon nutrient exchanges between host and pathogen sustain the disease development during sunflower infection by Sclerotinia sclerotiorum. **Planta**, v. 226, n. 1, p. 251–265, 12 jun. 2007.

JONES, L. H. P.; HANDRECK, K. A. Silica In Soils, Plants, and Animals. **Advances in Agronomy**, v. 19, n. C, p. 107–149, 1 jan. 1967.

KHAN, M. R.; SIDDIQUI, Z. A. Use of silicon dioxide nanoparticles for the management of Meloidogyne incognita, Pectobacterium betavasculorum and Rhizoctonia solani disease complex of beetroot (Beta vulgaris L.). **Scientia Horticulturae**, v. 265, p. 109211, 30 abr. 2020.

KORNDÖRFER, G. H.; PEREIRA, H. S.; NOLLA, A. **Análise de silício no solo, planta e fertilizantes**. 2. ed. [s.l.] UFU, 2004.

KRASKA, J. E.; BREITENBECK, G. A. Simple, Robust Method for Quantifying Silicon in Plant Tissue. **http://dx.doi.org/10.1080/00103624.2010.498537**, v. 41, n. 17, p. 2075–2085, 2010.

KRESZIES, T.; KRESZIES, V.; LY, F.; THANGAMANI, P. D.; SHELLAKKUTTI, N.; SCHREIBER, L. Suberized transport barriers in plant roots: the effect of silicon. **Journal of Experimental Botany**, v. 71, n. 21, p. 6799–6806, 2 dez. 2020.

LAW, C.; EXLEY, C. New insight into silica deposition in horsetail (Equisetum arvense). **BMC Plant Biology**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 29 jul. 2011.

LEBEDA A; PETRŽELOVÁ I. Screening for resistance to lettuce downy mildew (Bremia lactucae). *Em*: MIRANDA M; LEBEDA A (Eds.). . **Mass screening techniques for selecting crops resistant to diseases**. Vienna: International Atomic Energy Agency, 2010. p. 245–256.

LEBEDA, A.; PINK, D. A. C.; ASTLEY, D. Aspects of the Interactions between Wild Lactuca Spp. and Related Genera and Lettuce Downy Mildew (Bremia Lactucae). **Advances in Downy Mildew Research**, p. 85–117, 28 dez. 2002.

LEBEDA, A.; SEDLÁŘOVÁ, M.; PETŘIVALSKÝ, M.; PROKOPOVÁ, J. Diversity of defence mechanisms in plant-oomycete interactions: A case study of Lactuca spp. and Bremia lactucae. **European Journal of Plant Pathology**, v. 122, n. 1, p. 71–89, set. 2008.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. **Methods in Enzymology**, v. 148, n. C, p. 350–382, 1 jan. 1987.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C.; KNAPP, M. How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence

decrease ratio R Fd of leaves with the PAM fluorometer. **PHOTOSYNTHETICA**, v. 43, n. 3, p. 379–393, 2005.

LIMA, M. DE A.; CASTRO, V. F. DE; VIDAL, J. B.; ENÉAS-FILHO, J. Aplicação de silício em milho e feijão-de-corda sob estresse salino. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 398–403, 2011.

MANDAL, K.; SARAVANAN, R.; MAITI, S.; KOTHARI, I. L. Effect of downy mildew disease on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in Plantago ovata Forsk. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 116, n. 4, p. 164–168, 31 mar. 2009.

MANSOOR, S.; WANI, O. A.; LONE, J. K.; MANHAS, S.; KOUR, N.; ALAM, P.; AHMAD, A.; AHMAD, P. Reactive Oxygen Species in Plants: From Source to Sink. **Antioxidants 2022, Vol. 11, Page 225**, v. 11, n. 2, p. 225, 25 jan. 2022.

MARIN, M. V.; FRANCO, C. A.; SMILDE, D.; PANIZZI, R. C.; BRAZ, L. T. Distribution of races and virulence factors of Bremia lactucae in the main lettuce production area in Brazil. **Journal of Plant Pathology**, v. 102, n. 2, p. 395–407, 2020.

MELOTTO, M.; UNDERWOOD, W.; KOCZAN, J.; NOMURA, K.; HE, S. Y. Plant Stomata Function in Innate Immunity against Bacterial Invasion. **Cell**, v. 126, n. 5, p. 969–980, 8 set. 2006.

MÉTRAUX, J. P. Systemic Acquired Resistance. **Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition**, p. 627–629, 1 jan. 2013.

MICHELMORE, R.; WONG, J. Classical and molecular genetics of Bremia lactucae, cause of lettuce downy mildew. **European Journal of Plant Pathology**, v. 122, n. 1, p. 19–30, set. 2008.

MICHELMORE RW; ILOTT TW; HULBERT SH; FARRARA BF. The downy mildews. **Genetics of Plant Pathogenic Fungi**, v. 6, p. 53–79, 1988.

MITANI, N.; JIAN, F. M. Uptake system of silicon in different plant species. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, n. 414, p. 1255–1261, 1 abr. 2005.

MOLDES, C. A.; MEDICI, L. O.; ABRAHÃO, O. S.; TSAI, S. M.; AZEVEDO, R. A. Biochemical responses of glyphosate resistant and susceptible soybean plants exposed to glyphosate. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 30, n. 4, p. 469–479, 13 jul. 2008.

MORALES, R. G. F.; SANTOS, I. DOS; TOMAZELI, V. N. Influência da nutrição mineral foliar sobre doenças da parte aérea da cultura do trigo. **Revista Ceres**, v. 59, n. 1, p. 71–76, jan. 2012.

MORIONDO, M.; ORLANDINI, S.; GIUNTOLI, A.; BINDI, M. The Effect of Downy and Powdery Mildew on Grapevine (Vitis vinifera L.) Leaf Gas Exchange. **Journal of Phytopathology**, v. 153, n. 6, p. 350–357, 1 jun. 2005.

NOLLA, A.; KORNDÖRFER, G. H.; COELHO, L. Efficiency of calcium silicate and carbonate in soybean disease control. **Journal of Plant Nutrition**, v. 29, n. 11, p. 2049–2061, 1 nov. 2006.

POZO, J.; URRESTARAZU, M.; MORALES, I.; ANCHEZ, J. S.; SANTOS, M.; DIANEZ, F.; ALVARO, J. E. **Effects of Silicon in the Nutrient Solution for Three Horticultural Plant Families on the Vegetative Growth, Cuticle, and Protection Against Botrytis cinereaHORTSCIENCE**. [s.l: s.n.].

PRADO, R. D. M. **Mineral nutrition of tropical plants**. (1st ed.) ed. [s.l.] Springer International Publishing, 2021.

PRADO, R. DE M. Benefits of Silicon in the Nutrition of Plants. **Benefits of Silicon in the Nutrition of Plants**, p. 1–378, 1 jan. 2023.

RESENDE, R. S.; RODRIGUES, F. Á.; CAVATTE, P. C.; MARTINS, S. C. V.; MOREIRA, W. R.; CHAVES, A. R. M.; DAMATTA, F. M. Leaf Gas Exchange and Oxidative Stress in Sorghum Plants Supplied with Silicon and Infected by Colletotrichum sublineolum. **http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-01-12-0014-R**, v. 102, n. 9, p. 892–898, 10 ago. 2012.

RODRIGUES, F. A.; RESENDE, R. S.; DALLAGNOL, L. J.; DATNOFF, L. E. Silicon potentiates host defense mechanisms against infection by plant pathogens. *Em*: RODRIGUES, F. , D. L. (Ed.). . **Silicon and Plant Diseases**. [s.l.] Springer International Publishing, 2015. p. 109–138.

RÖMHELD, V.; KIRKBY, E. A. Research on potassium in agriculture: Needs and prospects. **Plant and Soil**, v. 335, n. 1, p. 155–180, 27 ago. 2010.

ROYSTON, P. A Remark on Algorithm as 181: The W-Test for Normality. **Journal of the Royal Statistical Society: Series C (Applied Statistics)**, v. 44, n. 4, p. 547–551, 1 dez. 1995.

RYDER, E. J. Lettuce, endive, and chicory. p. 208, 1999.

SAKR, N. The role of silicon (Si) in increasing plant resistance against fungal diseases. **Hellenic Plant Protection Journal**, v. 9, n. 1, p. 1–15, 1 jan. 2016.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. Melhoramento de alface. *Em*: NICK, C.; BORÉM, A. (Eds.). . **Melhoramento de hortaliças**. Viçosa: UFV, 2016. p. 95–127.

SALA, F. C.; COSTA, C. P. DA. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 187–194, abr. 2012.

SATHE, A. P. *et al.* Role of silicon in elevating resistance against sheath blight and blast diseases in rice (Oryza sativa L.). **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 166, p. 128–139, 1 set. 2021.

SCHARTE, J.; SCHÖN, H.; WEIS, E. Photosynthesis and carbohydrate metabolism in tobacco leaves during an incompatible interaction with Phytophthora nicotianae. **Plant, Cell & Environment**, v. 28, n. 11, p. 1421–1435, 1 nov. 2005.

SEDLÁŘOVÁ, M.; LUHOVÁ, L.; PETŘIVALSKÝ, M.; LEBEDA, A. Localisation and metabolism of reactive oxygen species during Bremia lactucae pathogenesis in Lactuca sativa and wild Lactuca spp. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 45, n. 8, p. 607–616, 1 ago. 2007.

SILVA, D. L. DA; MELLO PRADO, R. DE; TENESACA, L. F. L.; SILVA, J. L. F. DA; MATTIUZ, B.-H. Silicon attenuates calcium deficiency by increasing ascorbic acid content, growth and quality of cabbage leaves. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1770, 19 dez. 2021.

SILVA, J. L. F. DA; PRADO, R. DE M.; ALVES, T. L.; LATA-TENESACA, L. F.; SOARES, M. B. New strategy for silicon supply through fertigation in sugarcane integrating the pre-sprouted seedling phase and field cultivation. **Scientific Reports 2023 13:1**, v. 13, n. 1, p. 1–10, 21 jan. 2023.

SILVA, J. S. DA; SILVA PAZ, V. P. DA; SOARES, T. M.; ALMEIDA, W. F. DE; FERNANDES, J. P. Production of lettuce with brackish water in NFT hydroponic system. **Semina:Ciencias Agrarias**, v. 39, n. 3, p. 947–962, 1 maio 2018.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1 jan. 1965.

SONG, X. P.; VERMA, K. K.; TIAN, D. D.; ZHANG, X. Q.; LIANG, Y. J.; HUANG, X.; LI, C. N.; LI, Y. R. Exploration of silicon functions to integrate with biotic stress tolerance and crop improvement. **Biological Research 2021 54:1**, v. 54, n. 1, p. 1–12, 8 jul. 2021.

SOUZA ALONSO, T. A. DE; SILVA, D. L. DA; MELLO PRADO, R. DE; SOARES, P. L. M.; TENESACA, L. F. L.; FERREIRA, R. J. Silicon promotes the control of Meloidogyne incognita in lettuce by increasing ascorbic acid and phenolic compounds. **Journal of Pest Science**, p. 1–14, 8 jan. 2022.

SOUZA, L. N.; MARIN, M. V.; FRANCO, C. A.; SILVA, E. H. C.; CAPRIO, C. H.; PANIZZI, R. C.; BRAZ, L. T.; LEBEDA, A. Monitoring virulence and sexual compatibility in Brazilian Bremia lactucae populations. **Plant Pathology**, v. 71, n. 2, p. 446–457, 1 fev. 2022.

SOUZA OSÓRIO, C. R. W.; TEIXEIRA, G. C. M.; BARRETO, R. F.; CAMPOS, C. N. S.; LEAL, A. J. F.; TEODORO, P. E.; MELLO PRADO, R. DE. Macronutrient deficiency in snap bean considering physiological, nutritional, and growth aspects. **PLOS ONE**, v. 15, n. 6, p. e0234512, 1 jun. 2020.

SU, H.; BRUGGEN, A. H. C. VAN; SUBBARAO, K. V.; SCHERM, H. Sporulation of Bremia lactucae Affected by Temperature, Relative Humidity, and Wind in Controlled Conditions. **https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.4.396**, v. 94, n. 4, p. 396–401, 5 fev. 2007.

VALE FXR; JESUS JR WC; LIBERATO JR; SOUZA CA. Natureza das Epidemias. *Em*: VALE FXR; JESUS JR WC; ZAMBOLIM L (Eds.). . **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas.** Belo Horizonte: Editora Perffil, 2004. p. 21–46.

WANG, L.; NING, C.; PAN, T.; CAI, K. Role of Silica Nanoparticles in Abiotic and Biotic Stress Tolerance in Plants: A Review. **International Journal of Molecular Sciences 2022, Vol. 23, Page 1947**, v. 23, n. 4, p. 1947, 9 fev. 2022.

WANG, M.; ZHENG, Q.; SHEN, Q.; GUO, S. The Critical Role of Potassium in Plant Stress Response. **International Journal of Molecular Sciences 2013, Vol. 14, Pages 7370-7390**, v. 14, n. 4, p. 7370–7390, 2 abr. 2013.

WANG, R.; GAO, M.; JI, S.; WANG, S.; MENG, Y.; ZHOU, Z. Carbon allocation, osmotic adjustment, antioxidant capacity and growth in cotton under long-term soil drought during flowering and boll-forming period. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 107, p. 137–146, 1 out. 2016.

WHAN, J. A.; DANN, E. K.; AITKEN, E. A. B. Effects of silicon treatment and inoculation with Fusarium oxysporum f. sp. vasinfectum on cellular defences in root tissues of two cotton cultivars. **Annals of Botany**, v. 118, n. 2, p. 219–226, 1 ago. 2016.

YEMM, E. W.; COCKING, E. C.; RICKETTS, R. E. The determination of amino-acids with ninhydrin. **Analyst**, v. 80, n. 948, p. 209–214, 1 jan. 1955.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A.; ZANÃO JUNIOR, L. A. **Efeito da nutrição mineral no controle de doenças de plantas**. Viçosa, MG: [s.n.].

ZELLNER, W.; TUBAÑA, B.; RODRIGUES, F. A.; DATNOFF, L. E. Silicon's Role in Plant Stress Reduction and Why This Element Is Not Used Routinely for Managing Plant Health. **Plant Disease**, v. 105, n. 8, 1 ago. 2021.

ZÖRB, C.; SENBAYRAM, M.; PEITER, E. Potassium in agriculture – Status and perspectives. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, n. 9, p. 656–669, 15 maio 2014.