

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**SILÍCIO VIA FERTIRRIGAÇÃO MITIGA OS EFEITOS DA
TOXICIDADE DE COBRE APLICADO VIA SEMENTE EM
PLANTAS DE SOJA**

Patrícia Messias Ferreira
Engenheira Agrônoma

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**SILÍCIO VIA FERTIRRIGAÇÃO MITIGA OS EFEITOS DA
TOXICIDADE DE COBRE APLICADO VIA SEMENTE EM
PLANTAS DE SOJA**

Patrícia Messias Ferreira

Orientador: Prof. Dr. Renato de Mello Prado

Coorientadora: Dra. Gelza Carliane Marques Teixeira

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp,
Câmpus de Jaboticabal, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Mestra em Agronomia (Ciência do Solo).

2022

F383s Ferreira, Patrícia Messias
 Silício via fertirrigação mitiga os efeitos da toxicidade de cobre
 aplicado via semente em plantas de soja / Patrícia Messias Ferreira. --
 Jaboticabal, 2022
 48 p. : tabs.

 Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp),
 Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
 Orientador: Renato de Mello Prado
 Coorientadora: Gelza Carliane Marques Teixeira

 1. Metal pesado. 2. Micronutrientes. 3. Elemento benéfico. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

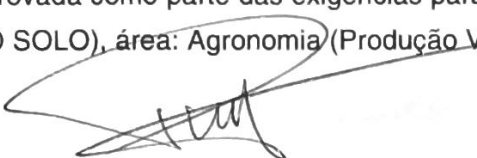
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: SILÍCIO VIA FERTIRRIGAÇÃO MITIGA OS EFEITOS DA TOXICIDADE DE COBERE APLICADO VIA SEMENTE EM PLANTAS DE SOJA

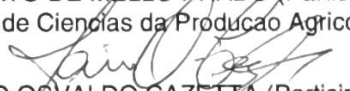
AUTORA: PATRÍCIA MESSIAS FERREIRA

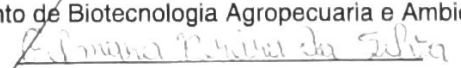
ORIENTADOR: RENATO DE MELLO PRADO

COORIENTADORA: GELZA CARLIANE MARQUES TEIXEIRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em AGRONOMIA (CIÊNCIA DO SOLO), área: Agronomia (Produção Vegetal) pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. RENATO DE MELLO PRADO (Participação Virtual)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal


Prof. Dr. JÁIRO OSVALDO CAZEITA (Participação Virtual)
Departamento de Biotecnologia Agropecuária e Ambiental / FCAV UNESP Jaboticabal


Profa. Dra. GILMARA PEREIRA DA SILVA (Participação Virtual)
São Luís/MA / Universidade Estadual do Maranhão - UEMA

Jaboticabal, 27 de julho de 2022

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

PATRÍCIA MESSIAS FERREIRA, nascida em Campo Formoso-BA, Brasil, em 17 de julho de 1997, filha de Maria da Paz Messias Ferreira e Basílio Alves Ferreira. Possui título de Técnica Agrícola com Habilitação em Agropecuária (2014), pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano- Câmpus Senhor do Bonfim, e de Engenheira Agrônoma (2019) pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB)- Cruz das Almas, BA. Durante a graduação foi membra do grupo de pesquisa Manejo de Nutrientes no Solo e em Plantas Cultivas da UFRB (GPNMP), onde realizou pesquisas na área de nutrição de plantas com foco em hortaliças não convencionais e plantas medicinais e aromáticas. Foi bolsista de iniciação científica no período de 2017 a 2019. Em 2021 iniciou o curso de Mestrado pelo programa de Pós-graduação em Agronomia (Ciência do Solo) na Unesp/FCAV, realizando pesquisas relacionadas ao uso do silício aplicado via fertirrigação na mitigação de estresses abióticos, com foco no excesso de micronutrientes metálicos em tratamento de sementes. Ainda durante o mestrado fez parte da Associação de Pós graduandos da Unesp (APG), exercendo o cargo de segunda secretária sociocultural. Atualmente é membra do Grupo de Estudos em Nutrição de Plantas da FCAV/UNESP (Genplant).

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.
(Marthin Luther King)

Aos meus pais, Maria da Paz Messias Ferreira e Basílio Alves Ferreira (*in memoriam*). Por toda preocupação e cuidado, fisicamente da minha mãe e, espiritualmente do meu pai.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a mãe santíssima Nossa Senhora Aparecida, pelo Dom da vida e por me abençoar colocando pessoas tão boas em meu caminho. Por ouvir e atender minhas orações, sempre me guiando e me dando forças para continuar e nunca desistir.

Agradeço também a minha família, que me mostram todos os dias que os laços de alma são mais fortes que os laços de sangue. Em especial a minha mãe, que mesmo com toda a saudade entende que a distância é necessária neste momento da minha vida e que sempre fez de tudo por mim. A minha madrinha Aurivete, a quem considero como minha segunda mãe, por todo carinho e apoio. A minha irmã do coração Patrícia Chaves, por estar comigo em cada etapa da minha vida, compartilhando os sonhos e vibrando a cada conquista. Nada seria sem vocês.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Renato de Mello Prado, pela oportunidade em realizar o Mestrado sob sua orientação, pelos ensinamentos, preocupação e por toda paciência, por sempre me incentivar e mostrar que as dificuldades e os erros são necessários para nosso aprendizado e crescimento. A minha coorientadora, Dra. Gelza Carliane Marques Teixeira, por toda colaboração na minha pesquisa, por todos os ensinamentos, toda paciência, apoio e momentos de conversa em que você dizia que tudo daria certo. Sou imensamente grata.

Agradeço aos amigos que tive a oportunidade de encontrar e conhecer através da Unesp, em especial ao Breno, que tanto me ajudou assim que cheguei em Jaboticabal. Ao Luan, por enfrentar junto comigo todas as dificuldades e toda colaboração durante a realização dos experimentos. Ao Lucas e a Lívia, pela fundamental colaboração na realização da minha pesquisa durante o Mestrado e também pela importante amizade e momentos de descontração vividos. A Maria e a Daiane, pela amizade e apoio pessoal. Ao Jonas, Mariana, Cíntia, Milton, Diler, Bianca e Hortência, pelas conversas e trocas de conhecimento durante esse período.

As minhas queridas amigas de longa data, Gilvanda, Gisele, Janildes e Railda, pela amizade, apoio, preocupação, por acreditarem e torcerem sempre por mim. Mesmo com a distância a nossa amizade continua inabalável.

Agradeço também ao Gustavo Longo, pelo importante apoio emocional e por sempre estar do meu lado me apoiando, acreditando em mim e me dando forças para

continuar batalhando pelos meus objetivos. Agradeço também a seus pais (Eloisa e Luis), que de forma pessoal muito me ajudaram durante a fase final do meu Mestrado. Por toda amizade e por torcerem por mim, sou imensamente grata a vocês.

Agradeço ao departamento de Ciências da Produção Agrícola e a técnica do laboratório de Nutrição de Plantas, Claudinha, pela paciência e colaboração durante as análises dos experimentos.

Agradeço aos professores que contribuíram para formação acadêmica durante a realização do Mestrado, como a Profa. Durvalina, Prof. Fabiano Palaretti, Prof. Wanderley de Melo e, em especial a Profa. Mara Cristina, que tanto se preocupou com meu aprendizado e que me ensinou muito mais que a fertilidade do solo, a senhora é um exemplo de pessoa, agradeço pelas conversas e por todo cuidado e apoio emocional. Sou grata também a Profa. Priscila Lupino Gratão, pela colaboração na realização das análises dos experimentos.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos, muito abrigada!

SUMÁRIO

RESUMO.....	ii
ABSTRACT	iii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Toxicidade de Cu em plantas de soja	3
2.2 Tratamento de sementes de soja com cobre	6
2.3 Importância do silício e sua relação com o cobre em plantas.....	9
3. MATERIAL E MÉTODOS	12
3.1 Material vegetal e Condições de crescimento.....	12
3.2 Delineamento experimental e tratamentos.....	13
3.2.1 Experimento I.....	13
3.2.2 Experimento II.....	14
3.4 Variáveis analisadas	15
3.4.1 Número de folhas, altura da planta, comprimento das raízes e área foliar	15
3.4.2 Número e massa seca de nódulos por planta.....	16
3.4.3 Índice relativo de clorofila e eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm	16
3.4.4 Conteúdo total de clorofila (a+b) e carotenoides	16
3.4.5 Índice de extravasamento de eletrólitos.....	17
3.4.6 Determinação dos teores de fenóis totais.....	17
3.4.7 Produção de massa seca	17
3.4.8 Teor de silício (Si).....	18
3.4.9 Teor de cobre (Cu).....	18
3.4.10 Determinação de nitrogênio total (N) e teor de proteína bruta (PB).....	18
3.4.11 Eficiência na absorção, transporte e utilização do Cu e N.....	18
3.5 Análise estatística	19
4. RESULTADOS	19
5. DISCUSSÃO.....	30
6. CONCLUSÕES.....	33
7. REFERÊNCIAS	34

SILÍCIO VIA FERTIRRIGAÇÃO MITIGA OS EFEITOS DA TOXICIDADE DE COBRE APLICADO VIA SEMENTE EM PLANTAS DE SOJA

RESUMO - A aplicação de doses inadequadas de cobre (Cu) na forma de óxido cúprico (CuO) pode diminuir o crescimento vegetal, isso porque os limites entre a deficiência e a toxicidade são muito próximos. Em plantas de soja, os micronutrientes podem ser fornecidos via tratamento de sementes, sendo um método muito vantajoso para atenuar deficiências na fase inicial de crescimento, mas pode ser tóxico se altas doses de fertilizantes forem aplicadas. O silício (Si) pode atenuar os danos causados pela toxicidade de Cu aplicado no tratamento de sementes de soja, mas não existem relatos. Objetivou-se avaliar os efeitos do Cu na forma de óxido na toxicidade do metal em plantas de soja que recebeu o Cu via tratamento de sementes e se a posterior aplicação de Si via fertirrigação na cultura pode mitigar esse estresse e os mecanismos envolvidos. Foram realizados dois experimentos sob condição controlada, sendo utilizado o delineamento de blocos casualizados em ambos. No primeiro experimento, os tratamentos consistiram em esquema fatorial de 6 x 2, sendo o primeiro fator constituído de doses de Cu: 0, 1, 4, 7, 15 e 29 g kg⁻¹ de semente via tratamento de sementes combinadas com dois tempos de duração dos tratamentos: por 48 e 96 h, com 3 repetições. No segundo experimento, os tratamentos também consistiram em esquema fatorial de 6 x 2, sendo o primeiro fator constituído das mesmas doses utilizadas para o primeiro experimento, combinadas com a ausência e presença (2 mmol L⁻¹) de aplicação de Si via fertirrigação, com 5 repetições. As análises foram realizadas 10 e 38 dias após a emergência, no primeiro e segundo experimento, respectivamente. A aplicação de Si proporcionou aumento do acúmulo de N, da eficiência de utilização de Cu, do número de nódulos, do teor de proteína, diminuiu o índice de extravasamento de eletrólitos, incrementando o acúmulo de massa seca. Altas doses de CuO fornecidos via tratamento de sementes induz toxicidade a partir de 1 g kg⁻¹ de semente em plantas jovens de soja, observados pela diminuição da massa seca das plantas conforme aumento das doses. O fornecimento de Si via fertirrigação no solo foi favorável para o tratamento de sementes com Cu usando óxidos ao modular a eficiência de uso do cobre favorecendo o acúmulo de N e consequentemente a produção de massa seca.

Palavras-chave: estresse abiótico, estresse oxidativo, *Glycine max* (L) Merrill, micronutriente, metal pesado, elemento benéfico, nanossílica

SILICON BY FERTIRRIGATION MITIGATES THE EFFECTS OF TOXICITY OF COPPER APPLIED BY SEED IN SOYBEAN PLANTS

ABSTRACT -The application of inadequate doses of copper (Cu) in the form of cupric oxide (CuO) can reduce plant growth, because the limits between deficiency and toxicity are very close. In soybean plants, micronutrients can be supplied via seed treatment, being a very advantageous method to alleviate deficiencies in the initial phase of growth, but it can be toxic if high doses of fertilizer are applied. Silicon (Si) can attenuate the damage caused by the toxicity of Cu applied in the treatment of soybean seeds, but there are no reports. The objective was to evaluate the effects of Cu in the oxide form on the metal toxicity in soybean plants that received Cu via seed treatment and whether the subsequent application of Si via fertigation in the crop can mitigate this stress and the mechanisms involved. Two experiments were carried out under controlled conditions, using a randomized block design in both. In the first experiment, the treatments consisted of a 6 x 2 factorial scheme, with the first factor consisting of Cu doses: 0, 1, 4, 7, 15 and 29 g kg⁻¹ of seed via seed treatment combined with two times. duration of treatments: for 48 and 96 h, with 3 repetitions. In the second experiment, the treatments also consisted of a 6 x 2 factorial scheme, with the first factor consisting of the same doses used for the first experiment, combined with the absence and presence (2 mmol L⁻¹) of Si application via fertigation, with 5 repetitions. Analyzes were performed 10 and 38 days after emergence, in the first and second experiments, respectively. The application of Si provided an increase in the accumulation of N, in the efficiency of use of Cu, in the number of nodules, in the protein content, decreased the rate of electrolyte leakage, increasing the accumulation of dry mass. High doses of CuO supplied via seed treatment induce toxicity from 1 g kg⁻¹ of seed in young soybean plants, observed by the decrease in the dry mass of the plants as the doses increase. The supply of Si via soil fertigation was favorable for the treatment of seeds with Cu using oxides by modulating the efficiency of copper use, favoring the accumulation of N and consequently the production of dry mass.

Keywords: abiotic stress, oxidative stress, *Glycine max* (L) Merrill, heavy metal, micronutrient, beneficial element, nanosilica

1. INTRODUÇÃO

O fornecimento adequado de micronutrientes, como o cobre (Cu) é de suma importância para incrementar as safras e o rendimentos das culturas. O Cu está associado com a síntese de proteína e clorofila, favorecendo a fotossíntese (Yruela, 2013) e atua na fixação biológica de nitrogênio (FBN) em leguminosas (Marschner, 1995; Malavolta et al., 1997; Epstein e Bloom, 2004; Taiz et al., 2017) beneficiando o acúmulo de N pela planta.

A exigência nutricional de Cu pelas culturas é baixa, mas é fundamental que as plantas sejam adubadas com esse micronutriente dada a sua participação no metabolismo vegetal (Prado, 2021). No entanto, em altas concentrações esse nutriente pode diminuir o crescimento vegetal (Zengin e Munzuroglu, 2005). As desordens nutricionais por toxicidade, por exemplo, podem causar a peroxidação lipídica e o extravasamento de eletrólitos celular (Yusefi-Tanha et al., 2020) diminuindo eficiência quântica do fotossistema II (PSII) (Liu et al., 2021), a eficiência nutricional e o crescimento da planta.

Para alcançar maiores produtividades, busca-se evitar deficiência e excesso nutricional, atendendo a demanda de micronutrientes nas plantas, por diferentes modos de aplicação, como via solo, foliar e nas sementes. A adição de micronutrientes às culturas pelo tratamento de sementes, apresenta diversas vantagens, como a melhoria na uniformidade de aplicação, no aproveitamento pela planta e diminuição dos custos de aplicação (Conceição et al., 2020). Existem estudos com tratamento de sementes de soja indicando benefícios ao corrigir a deficiência destes nutrientes favorecendo o crescimento da cultura com fornecimento de Cu (Galvão, 1999), mas não há pesquisas indicando a melhor dose a ser aplicada no tratamento de sementes.

O fornecimento destes micronutrientes via tratamento de semente embora vantajoso ao atenuar deficiências durante o crescimento inicial da cultura, pode ser danoso caso seja ministrado inadequadamente, podendo induzir toxicidade na planta. Isso ocorre porque altas concentrações de sais próximas à semente podem prejudicar a emergência das plântulas (Pessoa et al., 2000).

Formulações hidrossolúveis (como Cu-EDTA e sulfato de cobre) são mais prontamente absorvidas pelas plantas e, conseqüentemente, são mais propensas a prejudicar as sementes (Scott e Blair, 1988) em relação as fontes nanométricas insolúveis em água (como os óxidos) que apresentam dissolução em meio ácido (Avramescu et al., 2020). O uso de fontes insolúveis (a exemplo do CuO) pode ser uma alternativa por induzir a disponibilidade do micronutriente de forma lenta, diminuindo os riscos de estresses por toxicidade na fase inicial de crescimento que é a de maior sensibilidade, como observado por Montanha et al. (2021) em sementes de soja e milho tratadas com CuO.

Uma estratégia para atenuar os efeitos deletérios causados por toxicidade de Cu em plantas de soja seria com o uso do silício (Si). Embora não seja considerado um nutriente para as plantas, o Si atua como elemento benéfico para o crescimento e desenvolvimento de muitas espécies de plantas (Epstein, 1994). O Si desempenha um papel importante no metabolismo ou na atividade fisiológica e estrutural, aumentando a tolerância e diminuindo os danos causados pela exposição a estresses bióticos e abióticos (Liang et al., 2015), incluindo a toxicidade de metais pesados (Epstein, 1994; Ma e Yamaji, 2008; Cunha e Nascimento, 2009; Ali et al., 2013; Shen et al., 2014; Keller et al., 2015).

O Si aplicado em solução nutritiva aumenta a defesa antioxidante da planta, diminuindo o dano oxidativo pela produção de compostos antioxidantes em raízes e folhas de pepino (*Cucumis sativus* L.) estressadas com altas doses de Cu (Bosnić et al., 2019). Além disso, o Si através da codeposição de Si com Cu na parede celular diminui a disponibilidade intracelular deste metal (Ali et al., 2020; Wu et al., 2013; Etesami e Jeong, 2018).

Essas informações sobre a relação do Cu e Si foram estudadas em experimentação com fornecimento do Cu em solução nutritiva e durante o crescimento inicial de diferentes cultivos. No entanto, o fornecido do Cu via tratamento de sementes tem maior risco de danos no vegetal pelo fato que ela está na fase de plântula e no crescimento inicial, pois nestes estágios a planta pode ter maior sensibilidade. Neste contexto, o Si teria que ter ação rápida para reverter esses danos, mas ainda não existem estudos nestas condições aferindo o potencial do Si em atenuar possível estresse do Cu aplicado diretamente na semente.

Além desses efeitos, estudos anteriores sugerem que o Si pode promover impactos positivos na FBN, melhorando a simbiose leguminosa-rizóbio e a nodulação radicular (Chung et al., 2020; Johnson et al., 2017; Putra et al., 2022). No entanto, não há informações sobre os efeitos do Si, especialmente com fontes inovadoras oriundas da nanotecnologia, como a nanossílica aplicado via fertirrigação em plantas de soja que receberam Cu no tratamento de sementes.

Neste contexto, fica evidenciado que os efeitos do Si em plantas de soja são limitados, sem esclarecer os mecanismos fisiológicos e nutricionais envolvidos e quais os impactos na FBN. Assim, existe a necessidade de pesquisas que possam compreender melhor os danos causados pela toxicidade de Cu aplicado via tratamento de sementes, bem como, os mecanismos de atuação do Si em plantas de soja sob essas condições.

As hipóteses que surgem são de que: (i) elevadas doses de CuO aplicadas durante o tratamento de sementes podem causar efeitos fitotóxicos em plântulas de soja; (ii) o uso de CuO é eficiente em fornecer Cu no desenvolvimento inicial de soja, evitando a deficiência desse micronutriente; (iii) a fertirrigação com Si após a semeadura pode atenuar desordens nutricionais por toxicidade de Cu a partir da diminuição do estresse oxidativo, aumentando a síntese proteica e a eficiência de uso destes micronutrientes e do N, consequentemente a produção de massa seca de plantas jovens de soja.

Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do Cu na forma de óxido na toxicidade do metal em plantas de soja que recebeu o Cu via tratamento de sementes e se a posterior aplicação de Si via fertirrigação na cultura pode mitigar esse estresse e os mecanismos envolvidos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Toxicidade de Cu em plantas de soja

O cobre (Cu) está presente naturalmente no solo nos estados de valência cuproso (Cu^+) e cúprico (Cu^{2+}) que podem estar fortemente ligados aos colóides organominerais (Yruela, 2013; Prado, 2021). O teor médio de Cu dos solos é cerca de 30 ppm, podendo variar entre 2 a 100 ppm, no entanto, maior parte encontra-se na

forma indisponível para absorção pelas plantas (Yruela, 2013). O Cu é um micronutriente e metal de transição, que está envolvido em muitos processos fisiológicos em plantas, podendo existir em múltiplos estados de oxidação -(Yruela, 2013).

No metabolismo vegetal sua principal função é como ativador ou constituinte de enzimas, como a amino oxidase, lacase, citocromo c oxidase e polifenol oxidase (Yruela, 2005). Apresenta função estrutural em proteínas reguladoras e participa do transporte de elétrons no processo fotossintético por ser constituinte da plastocianina, proteína mais abundante nos cloroplastos das plantas, que atua como carreador de elétrons nas reações fotossintéticas primárias (Yruela, 2013; Prado, 2021).

Está ainda envolvido na respiração mitocondrial, no metabolismo da parede celular e sinalização hormonal, fosforilação oxidativa, sinalização da transcrição e transporte de proteínas e da mobilização de Fe (Marschner, 1995; Raven et al., 1993), influência na permeabilidade dos vasos do xilema à água; controle da produção de DNA e RNA e reprodução das plantas, produção de sementes e pólen fértil; mecanismos de resistência a doenças, principalmente fúngicas.

O Cu participa do grupo prostético da Cu/Zn-superóxido dismutase (Cu/Zn-SOD) localizada no estroma, com ação protetora na planta contra os efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio (ERO) geradas durante o estresse oxidativo derivado das reações fotossintéticas oxigênicas (Prado, 2021).

Em leguminosas, o Cu tem papel importante na fixação de N, sendo requerido pelos nódulos e promovendo aumento na nodulação. Dessa forma, a deficiência de Cu induz diminuição na oferta de carboidratos para a nodulação, e pode haver inibição da atividade da polinioxidase, gerando acúmulo de difenóis, menor produção de melaninas e inibição dos rizóbios. O Cu pode também favorecer o aumento da produção de legemoglobina, que se deve a sua contribuição na retenção de Fe nas raízes (Prado, 2021).

As plantas requerem Cu para o adequado crescimento e desenvolvimento. Deste modo, quando este íon não está disponível sintomas específicos de deficiência podem ser observados em folhas jovens e órgãos reprodutivos. No entanto, em altas concentrações esse micronutriente pode causar toxicidade grave em plantas (Nair e Chung, 2014) que se deve as suas propriedades redox, isso porque o ciclo redox entre

Cu^{2+} e Cu^+ pode catalisar a produção de radicais hidroxila altamente tóxicos. Por exemplo, ele pode transferir elétrons para as moléculas de oxigênio para formar óxidos reativos, convertendo H_2O_2 em radicais hidroxila ($\text{OH}^\cdot$) aumentando o estresse oxidativo danificando as células (Dietz e Herth, 2011; Nair e Chung, 2014), podendo acarretar sérios danos subsequentes ao DNA, lipídios, proteínas e outras biomoléculas (Halliwell e Gutteridge, 1984), levando ao surgimento de sintomas como clorose e até necrose, nanismo, descoloração das folhas e inibição do crescimento das raízes (Marschner, 1995). Certas mudanças na morfologia da raiz, como a inibição do alongamento e o aumento na formação de raízes laterais, podem ser relacionadas à diminuição apurada na atividade de IAA oxidases.

Ainda, a nível celular, a toxicidade de Cu pode resultar em sérios danos, como a ligação com grupos sulfidrilos em proteínas, que inibe a atividade enzimática ou a função da proteína; prejudica processos de transporte celular; indução de deficiência de outros íons essenciais e pode causar dano oxidativo (Dietz e Herth, 2011; van Assche e Clijsters, 1990; Meharg, 1994). Para Marschner (1995), na maioria das espécies, o nível crítico de toxidez de cobre está entre 20-30 $\mu\text{g.g}^{-1}$ de massa da matéria seca. Porém, também são observados diferentes níveis de tolerância ao Cu (feijão é muito mais tolerante que o milho). Foram observados sintomas visuais de fitotoxicidade em plantas de soja cultivadas em solo contaminado com Cu (272 mg kg^{-1} de solo), como surgimento de clorose internerval generalizada em folhas jovens, manchas marrons escuras seguido de ressecamento das folhas e redução no crescimento (Silva et al., 2014). Plantas de soja cultivadas em solo com excesso de Cu (500 mg kg^{-1}) de Cu diminuiu a altura, biomassa e o teor de N (Xiao et al., 2022).

O aumento das concentrações de Cu em solução nutritiva (10–150 μM de CuSO_4) causou toxicidade em plântulas de soja, principalmente na concentração de 150 μM de Cu observado pelo acúmulo de MDA, indicando peroxidação lipídica da membrana e diminuiu a biomassa e o crescimento radicular (Kulikova; Kuznetsova e Kholodova, 2011). Plântulas de soja apresentaram inibição de crescimento e de biomassa da parte aérea e do sistema radicular quando cultivadas em meio contendo 1,5-50 μM CuSO_4 durante 5 dias (Kulikova et al., 2015).

Plantas de soja cultivadas na presença de 40 μM de Cu em solução nutritiva apresentaram sintomas de toxicidade, observados pela diminuição na taxa

fotossintética, produção de massa seca, dano oxidativo na parte aérea, assim como aumento na concentração de Cu nos tecidos vegetais decorrente ao excesso desse elemento no meio de cultivo (Schwalbert et al., 2019). Em estudo semelhante, Sepadi et al. (2015) relataram efeito da toxicidade de Cu em soja cultivadas em hidroponia com 50, 100 e 150 μM de Cu, onde observaram sintomas severos como clorose, necrose, morte da parte aérea, além do aumento do teor de carotenoides e compostos fenólicos.

Em estudos com nanopartículas de CuO, Nair e Chung (2014) observaram que a exposição a concentrações crescentes de CuO (100, 200, 400 e 500 mg L^{-1}) apresentaram efeitos em soja, onde diminuiu o crescimento da parte aérea, o peso e o conteúdo total de clorofila, comprimento da raiz e os pesos frescos, aumentando o nível de peróxido de hidrogênio, atividade de POD (Peroxidase) e teor de lignina das raízes.

O acúmulo de ERO e a peroxidação lipídica foram observados por Chmielowska-Bąk et al. (2022) em raízes das plântulas de soja tratadas solução de CuSO_4 contendo Cu na concentração 15 e 30 mg L^{-1} . Efeito semelhante foi observado por Sánchez-Pardo et al. (2012) em nódulos de soja cultivadas em solução nutritiva, onde o excesso de Cu (192 μM) causou estresse oxidativo e danos à ultraestrutura dos nódulos.

2.2 Tratamento de sementes de soja com cobre

As sementes constituem-se como o principal insumo para implantação de uma lavoura, sendo assim, o uso de sementes de alta qualidade é indispensável para obtenção de um estande ideal, a fim de aumentar as chances de sucesso da lavoura. De acordo com Kolchinski et al. (2006) as sementes de soja que apresentam alta qualidade fisiológica darão origem a plantas com maiores taxas de crescimento e eficiência metabólica, maior produção de matéria seca e maior área foliar, bem como, maiores rendimentos.

O uso de fertilizantes é de extrema importância nas práticas agrícolas, a fim de fornecer nutrientes no sistema solo-planta, podendo ser realizado via solo ou diretamente nos tecidos foliares, via pulverização (Lemes et al., 2017). A prática de

fertilização é responsável por auxiliar o crescimento e desenvolvimento das plantas, aumentando a produtividade das culturas, caso contrário a deficiência dos mesmos resulta em uma série de distúrbios fisiológicos (Prado, 2021; Ayub et al., 2021). A fertilização adequada com micronutrientes é de extrema importância, visto que micronutrientes a exemplo do Cu apresentam redistribuição limitada no floema, o que confere baixa mobilidade nas plantas e, por este motivo podem ser necessárias realização de mais de uma aplicação durante o ciclo, encarecendo o processo de produção (Lemes et al., 2017; Prado, 2021).

Neste sentido, o tratamento de sementes com micronutrientes constitui-se como uma alternativa altamente viável e de relevante importância para produção da soja (Oliveira, 2014), visto que, já são utilizados produtos como: inoculantes, fungicidas, inseticidas, nematicidas para tratar sementes de soja (Oliveira et al., 2013).

O tratamento de sementes com micronutrientes baseia-se no princípio de reserva, em que os mesmos serão translocados das sementes para as plantas, sendo então uma importante fonte de nutrição (Ribeiro e Santos, 1996).

Este método apresenta diversas vantagens, a exemplo da melhor uniformidade de aplicação dos nutrientes, já que são aplicados com maior precisão no volume do solo onde as raízes crescem, promovendo melhor aproveitamento pela planta e, principalmente, diminuição dos custos de aplicação (Luchese et al., 2004). As sementes de soja cultivadas no Brasil são tratadas com fungicidas, com micronutrientes e com inseticidas, visando proteger o estabelecimento das mesmas em campo (Baudet e Peske, 2006).

O fornecimento de micronutrientes via tratamento de sementes têm se tornado uma opção muito interessante, pois dessa forma é possível distribuir esses nutrientes em campo com maior uniformidade e ainda garantir que os mesmos se encontrem próximos da zona de absorção da raiz (Parducci et al., 1989). Isso porque o tratamento de sementes não requer o tráfego de máquinas no campo, pois é realizado em um armazém, o que diminui os custos energéticos e ainda evita a compactação do solo (Montanha et al., 2020). Além de fornecer os nutrientes ao embrião das plantas antes mesmo da germinação (Farooq et al., 2012). É uma forma eficiente de atender a demanda nutricional, além de melhorar o percentual de emergência da cultura favorecendo o desenvolvimento inicial (Nciizah et al., 2020; Frezato et al., 2021).

Estudos anteriores indicam efeitos benéficos na fisiologia e desenvolvimento de diferentes espécies vegetais como resultado do tratamento de sementes com micronutrientes regulares ou nanométricos (Farooq et al., 2012; De La Torre-Roche et al., 2020; Pereira et al., 2021), a exemplo em plantas de milho (*Zea mays*) que foram aplicados carbonato de Cu e ZnO nas sementes (Dias e Cicero 2016), feijão com aplicação de nanopartículas de CuO (Duran et al. 2017), ZnO (Savassa et al., 2018) e Mo (Majda et al., 2019), soja com aplicação de nanopartículas de Fe, ZnO, Cu e Co (Hoe et al., 2018) e tomate com fornecimento de nanopartículas de óxido de ferro (Fe_3O_4) (Lau et al., 2020), sendo restritos os trabalhos que mostrem esses efeitos em plantas de soja que receberam CuO no tratamento de sementes.

Em um estudo realizado em campo sobre os métodos de aplicação de Cu, Galvão (1999) utilizando a dose de $2,4 \text{ kg ha}^{-1}$ de Cu, na forma de CuO no tratamento de sementes, observou acréscimo no rendimento dos grãos de soja, no segundo e no terceiro ano de $2,94$ para $3,38 \text{ t ha}^{-1}$ e de $2,57$ para $3,14 \text{ t ha}^{-1}$, ou seja, um aumento de aproximadamente de 15 e 22%, respectivamente. Estudo realizado por Hoe et al., (2018) verificaram Germinação aprimorada de 57,62%, depois que sementes de soja foram tratadas com nanopartículas à base de Cu na dose de 50 mgL^{-1} em relação ao controle (sem tratamento), além de um aumento da massa seca e crescimento de raízes primárias e folhas também foram relatados

O efeito da aplicação combinada de Cu, Zn e Mo no tratamento de sementes de soja foi estudado por Montanha et al. (2021), e observaram que independente da dose (2 e $4 \text{ mL kg}^{-1} \text{ CuO}$) não houve prejuízo na germinação das sementes e desenvolvimento das plântulas de soja. Este estudo revelou também que os micronutrientes aplicados via tratamento de sementes permaneceram principalmente presos no tegumento da semente, indicando que os nutrientes não atingiram as regiões internas do cotilédone e do endosperma imediatamente durante o tratamento, e que o revestimento de sementes transfere apenas uma fração menor (1% até 45%) dos nutrientes aplicados nas sementes às plântulas e maior parte dos nutrientes foram transferidos para o solo.

A aplicação combinada de Cu, Mn e Zn associado com Mo foi estudada por Teixeira et al. (2022) no tratamento de sementes de soja. Os autores observaram que a aplicação da dose ótima de ($6,7 \text{ g ha}^{-1}$ de Mo) quando aplicada juntamente com

Cu, Mn e Zn proporcionou aumento no acúmulo de N, clorofilas, carotenoides e compostos fenólicos, diminuindo o extravasamento de eletrólitos e aumentando a eficiência fotossintética e a matéria seca das plantas.

2.3 Importância do silício e sua relação com o cobre em plantas

O silício (Si) é o oitavo elemento mais abundante encontrado na natureza e o segundo mais encontrado no solo depois do oxigênio. Desempenha um importante papel nos ciclos das plantas (Sahebi et al., 2015). Constitui cerca de 28% da crosta terrestre (Sommer et al., 2006), no entanto, contribui com apenas 0,03% da biosfera (Fauteux et al., 2005). No solo, compostos de Si estão geralmente presentes como dióxido de silício (SiO_2) que compreende cerca de 50-70% da massa do solo, e em várias formas de aluminossilicatos (Ma e Yamaji, 2006).

As plantas podem absorver o Si pelas raízes na forma de ácido silícico [$\text{Si}(\text{OH})_4$] presente em concentrações entre 0,1 e 2,0 mM (pH <9) e o depois translocam através do xilema para a parte aérea (Epstein, 1994; Yang e Zhang, 2018). Na parte aérea, as concentrações de Si podem variar entre de 0,1% a 10,0% da massa seca (Liang et al., 2015), o que pode ser equivalente ou superior que alguns macronutrientes, os quais são fornecidos por meio de fertilizantes (Meena et al., 2014).

Embora ainda não seja considerado um nutriente para as plantas, provou-se que esse elemento é benéfico para o crescimento e desenvolvimento de muitas espécies de plantas (Epstein, 1994). Sendo classificado por vários autores como sendo um elemento benéfico ou útil, podendo desempenhar um papel importante no metabolismo ou na atividade fisiológica e / ou estrutural e ainda aumentar a resistência das plantas, podendo diminuir os efeitos nocivos causados pela exposição a diferentes estresses bióticos e abióticos (Liang et al., 2015).

O Si promove efeitos benéficos sobre estresses abióticos (Ma e Yamaji, 2006), como toxidez por metais pesados (Epstein, 2009). Além disso, de acordo com Raven (1983), plantas fornecidas com Si resistem ao acamamento, isso porque o Si confere maior resistência mecânica, proporcionando um hábito ereto aos vegetais. Isso pode ser justificado pelo aumento da rigidez das células vegetais devido a associação do Si com as paredes celulares.

Estudos demonstram que o Si alivia os efeitos deletérios causados por metais pesados em plantas cultivadas em solos contaminados (Chen et al., 2000). A mitigação da toxicidade desses contaminantes ocorre pelo estímulo da produção de enzimas antioxidantes na planta, diminuição da disponibilidade desses metais no substrato de cultivo, regulação da translocação de metais da raiz para a parte aérea, modulação da capacidade de ligação de cátions à parede celular e complexando e co-precipitando íons metálicos tóxicos no citoplasma, sequestrando os metais no vacúolo (Flora et al., 2019; Šimková et al., 2018).

Um dos principais efeitos do Si na diminuição da fitotoxicidade causado por metais pesados se dá pela diminuição da absorção e transporte destes metais nas plantas. Muitos autores relatam que a aplicação do Si melhora a tolerância e diminui a toxicidade dos metais pesados em muitas espécies de plantas por diminuir a absorção e a translocação dos metais, bloqueando assim a sua transferência nos tecidos das plantas (Adrees et al., 2015; Etesami e Jeong 2018).

Essa diminuição na absorção de metais pode ser explicada de várias formas. Por exemplo, na presença do Si pode haver estimulação da produção de exsudatos radiculares, que podem formar complexos com metais e diminuir assim a absorção pelas raízes (Kidd et al., 2001). A presença do Si também influenciou na diminuição do transporte apoplasmático de metais, diminuindo assim a concentração de metais livre no apoplasto, o que também explica essa diminuição na absorção de metais (Iwasaki et al., 2002; Rogalla e Römheld, 2002).

Além disso, a deposição de Si na proximidade da endoderme pode diminuir a porosidade da parede celular dos tecidos radiculares internos, formando uma barreira física que pode reduzir a concentração de metal no xilema (Shi et al. 2005; Cunha e Nascimento, 2009; Keller et al., 2015). Ainda segundo Dietzel (2000), a adição de silicato ao solo contribui para a polimerização de compostos de silicato, os quais são referidos como potenciais complexantes de metais pesados.

Quando as plantas são expostas a fortes estresses por metais pode haver estresse oxidativo (Kim et al., 2017) e a aplicação de Si pode atenuar esse estresse, por reduzir a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (Adrees et al., 2015; Kim et al., 2017). Estudos demonstram que a aplicação de Si pode aumentar substancialmente o sistema de defesa da planta, reduzindo o dano oxidativo e

alterando as atividades das enzimas antioxidantes até um certo nível de estresse por metal (Etesami e Jeong, 2018).

Por outro lado, sob desordens nutricionais, o Si atua positivamente aumentando a absorção e translocação de nutrientes aumentando a expressão de transportadores na raiz, que contribui significativamente no crescimento, biomassa e nos parâmetros fisiológicos, gerando aumento da translocação de nutrientes para os brotos, além de modular as vias metabólicas e melhorar a eficiência fotossintética (Ali et al., 2020).

A deficiência de Cu prejudica a atividade fotossintética, respiração e compromete o crescimento, levando ao atrofiamento devido ao comprometimento dos meristemas apicais, bem como enrolamento e murchamento das folhas (Marschner, 1995) embora haja pesquisas comprovando o efeito benéfico do Si na toxicidade por Cu em plantas, ainda não há referências disponíveis sobre o efeito do suprimento de Si na deficiência deste elemento.

Vários autores relatam a ação benéfica do Si em plantas sob estresse de Cu. Em estudos com bambu (*Bambusa vulgaris*), foi observado que a presença de 1,1 mM de Si na forma de ácido monossilícico de potássio-metassilicato diminuiu o dano visível causado pela alta concentração de Cu (100 µM de Cu), aumentando a proporção de ligantes de Cu, os quais podem ligar e aumentar o sequestro de Cu em uma forma que pode ser menos tóxica (Collin et al., 2014).

Plantas de trigo (*Triticum turgidum* L.) tratadas com 30 µM de Cu, a dose de 1,0 mM de Si fornecido na forma de ácido silícico proporcionou diminuição na absorção e translocação de Cu da raiz para a parte aérea (Keller et al. 2015). Em plantas de pepino (*Cucumis sativus* L.) sob estresse por Cu (10 µM), o Si na concentração de 1,5 mM na forma de Si (OH)₄ aumentou a tolerância pela complexação com o metal (Bosnić et al., 2019).

Os estudos envolvendo a sinergia do Si e o Cu foram realizadas com fontes convencionais solúveis e desenvolvidos em solução nutritiva, não havendo estudos com fontes inovadoras, como a nanosílica em plantas de soja.

A nanosílica é uma fonte insolúvel de Si que consiste em nanopartículas de dióxido de silício (SiO₂) em dispersão coloidal, que apresenta características físico-químicas distintas das fontes não nanoparticulada, isso se deve basicamente pelo

pequeno tamanho, (geralmente inferior a 100 nm), elevada área superficial e variadas formas (de Souza Júnior et al., 2022).

A penetrabilidade e a alta área de superfície das nanopartículas de Si os tornam competentemente mais eficazes no uso do elemento em comparação com as fontes tradicionais. Apresentam uma melhor biodisponibilidade e sua eficácia na qualidade nutricional é pronunciada e, podem também estimular o crescimento e aumentar o rendimento promover o bom desempenho da planta (Hu e Xianyu., 2021).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal e Condições de crescimento

Foram realizados dois experimentos na Universidade Estadual Paulista (Unesp), Câmpus de Jaboticabal, São Paulo, Brasil, no período de janeiro a fevereiro de 2022. Um lote de sementes de soja não tratadas da cultivar AS 3590 IPRO foram utilizadas no estudo.

O primeiro experimento foi realizado em condições normais de laboratório, com temperatura média de 26°C e umidade relativa do ar de 80%. No segundo experimento, as plantas foram mantidas em ambiente controlado (casa de vegetação) por um período de 5 dias após a emergência, em seguida, foram transferidas para ambiente a pleno sol (fora da casa de vegetação) para aumentar a incidência de luminosidade.

Durante o período experimental foram registrados diariamente a temperatura média e a umidade relativa, com auxílio de um termo-higrômetro digital (U23-001, Sigma Sensors, Brasil) (Fig1).

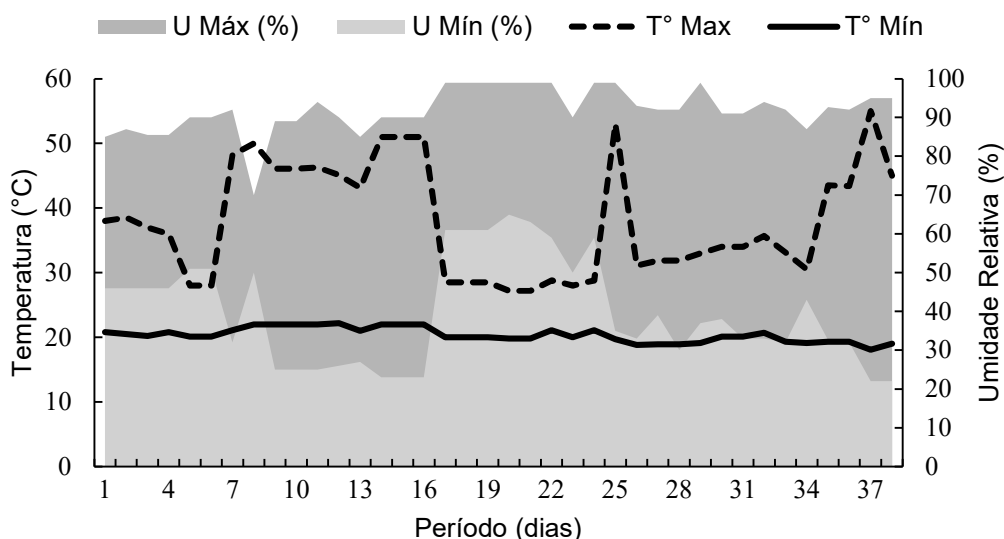


Figura 1. Temperatura máxima (T° Máx) e mínima (T° Mín) e umidade relativa do ar máxima (U Máx) e mínima (U Mín) nas condições de cultivo das plantas durante o período do experimento II.

3.2 Delineamento experimental e tratamentos

3.2.1 Experimento I

O experimento foi desenvolvido em condições controladas. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizados (DBC) em esquema fatorial de 6 x 2, sendo seis doses (D) de Cu: 0; 1; 4; 7; 15 e 29 g kg⁻¹ de semente, equivalente a 0,0; 79,56; 238,68; 477,10; 954,20 e 1.908,40 g ha⁻¹ de Cu ou em 65 kg de sementes, combinadas com duas épocas de avaliação (T) aos 48 h e 96 h após o tratamento das sementes, com 3 repetições

As doses foram aplicadas via tratamento de sementes utilizando óxido cúprico (Cu: 342,5 g L⁻¹ e tamanho de partícula = 3 µm (D90)) como fonte. Na dose 0 g kg⁻¹ de Cu, as sementes foram tratadas apenas com água deionizada.

Foram utilizados recipientes de polipropileno com capacidade para 1 dm³ preenchidos com areia de textura média, previamente lavada com água corrente,

solução de HCl (0,3%, v:v) e água deionizada. Em cada recipiente foram semeadas 50 sementes de cada tratamento, constituindo uma parcela experimental. Os vasos foram umedecidos diariamente apenas com água deionizada. A umidade do substrato foi mantida em 60% da capacidade máxima de retenção de água.

3.2.2 Experimento II

O experimento em casa de vegetação foi realizado em delineamento em blocos inteiramente casualizados (DBC). Os tratamentos consistiram em um esquema fatorial de 6 x 2, sendo seis doses (D) de Cu (0; 1; 4; 7; 15 e 29 g kg⁻¹ de semente) combinadas com a presença (+Si) e a ausência (-Si) de Si, com 5 repetições.

O fornecimento de Si foi realizado utilizando como fonte a nanossílica (Bindzil 830, ϕ 8,5-9,7 nm, 168,3 g L⁻¹ de Si, área superficial específica: 300m² g⁻¹; pH: 10,5; densidade: 1,2 g cm⁻³; Na₂O: 0,5%; viscosidade: 7cP. AkzoNobel).

Na condição de +Si, foi aplicado uma concentração de 2 mmol L⁻¹ via fertirrigação simulando lâmina de 2,5 mm. O valor pH da solução foi ajustada em 5,5 $\pm$ 0,2 com ácido clorídrico (HCl) ou hidróxido de sódio (NaOH) 1,0 mol L⁻¹ conforme necessário. A aplicação do Si foi realizada diariamente, iniciando aos 5 dias após a emergência durante toda a fase de condução do experimento.

Em cada vaso foram semeadas oito sementes de soja e aos cinco dias após a emergência plena (DAE) foi realizado desbaste, deixando apenas duas plantas por vaso, constituindo uma unidade experimental

Na semeadura foi realizada a aplicação de inoculante contendo estirpes de *Bradyrhizobium elkanii* (Biomax® premium) na dose de 3,6 mL L⁻¹ via sulco de semeadura. As plantas foram irrigadas diariamente mantendo 70% da capacidade de retenção de água do solo pelo método das pesagens dos vasos, proposto por Klar et al. (1966).

Foram utilizados recipientes de polipropileno com capacidade para 2 dm³ preenchidos com 1,5 dm³ de amostras de solo classificado como Neossolo Quartzarênico (Santos et al., 2018). A análise química do solo foi realizada para fins de fertilidade, de acordo com o método descrito por Raij et al. (2001), com os seguintes resultados: pH CaCl₂= 5; matéria orgânica = 11 g dm⁻³; P res.= 11 mg dm⁻³; S=18 mg dm⁻³; B<0,12 mg dm⁻³; Cu= 0,2 mg dm⁻³; Fe= 9 mg dm⁻³; Mn= 1,7 mg dm⁻³; Ca= 11

$\text{mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{Mg} = 6 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{K} = 1,9 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{Al} = 0 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{H} + \text{Al} = 20 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; SB (soma das bases) = $18,5 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; CTC (capacidade de troca catiônica) = $38,1 \text{ mmol}_c \text{ dm}^{-3}$; V (saturação por bases - $\text{V} = \text{SB} \times 100 / \text{CTC}$) = 49%. O teor de Si era de 3 mg dm^{-3} conforme determinado pelo método descrito por Korndörfer et al. (2004). A granulometria do solo foi de 540 g kg^{-1} de areia, 380 g kg^{-1} de argila e 90 g kg^{-1} de silte (Camargo et al., 1986).

Foi incorporado calcário (Poder Relativo de Neutralização Total = 125; $\text{CaO} = 58,5\%$; $\text{MgO} = 9\%$) a fim de elevar a saturação por bases ($\text{V}\%$) para 50% e fornecer cálcio. Foi realizado a fertilização com fósforo (P) na dose igual a 100 mg dm^{-3} , utilizando como fonte o superfosfato simples.

O fornecimento dos demais nutrientes foi realizado via fertirrigação, sendo: potássio (K), boro (B), zinco (Zn) e manganês (Mn) nas doses iguais a 150, 1, 4 e 6 mg dm^{-3} , respectivamente. Com as fontes de fertilizantes: cloreto de potássio, ácido bórico, sulfato de zinco e sulfato de manganês, respectivamente. O fornecimento de Fe foi realizado via aplicação foliar, utilizando como fonte quelato de ferro, na concentração de $0,15 \text{ g L}^{-1}$ aos 15 dias após a semeadura.

3.4 Variáveis analisadas

No experimento I as plantas foram coletadas aos 10 dias após a emergência (DAE) sendo determinado apenas a produção de massa seca (item 3.4.7) e teor de Cu (item 3.4.9). No experimento II, as plantas foram coletadas aos 38 DAE e todas as análises descritas no tópico 3.4 foram determinadas.

3.4.1 Número de folhas, altura da planta, comprimento das raízes e área foliar

Foram mensurados o número de folhas nas plantas de soja, realizado por contagem manual, considerando todas as folhas totalmente expandidas. A altura das plantas e o comprimento das raízes, foram medidas com auxílio de uma régua graduada em centímetros. A altura da planta foi medida desde a base do caule até a extremidade apical da planta e para comprimento das raízes foi medida a distância desde o colo da planta até a extremidade da raiz.

A área foliar foi medida com auxílio de um equipamento L-3100, LICOR, EUA.

3.4.2 Número e massa seca de nódulos por planta

O número e massa seca de nódulos foi determinado após a coleta das plantas, sendo retirados os nódulos presentes nas raízes e contados manualmente para determinação do número. Seguidamente, foram lavadas em água corrente, solução detergente (0,1% v/v), solução de ácido clorídrico (0,3% v/v) e água deionizada, acomodados em sacos de papel e secos em estufa de circulação forçada de ar ($65 \pm 5^\circ\text{C}$), e logo após, foram pesados em balança analítica para obtenção da massa seca.

3.4.3 Índice relativo de clorofila e eficiência quântica do fotossistema II (Fv/Fm)

O índice relativo de clorofila foi medido no terço médio do primeiro trifólio das plantas, sendo estimado a partir da média de cinco leituras utilizando um medidor de clorofila Opti-sciences® CCM-200.

A eficiência quântica do fotossistema II (PSII) foi determinada medindo a fluorescência da clorofila com um fluorômetro Opti-sciences® Os30P, pelo cálculo da razão entre fluorescência máxima e variável, conforme proposto por Lichtenthaler et al. (2005). Para tal, a região amostrada foi submetida ao escuro para adaptação de no mínimo 30 min antes da excitação do pulso de luz vermelha de 1 s. As medições foram realizadas entre as 7h30 min e às 9h30 min.

3.4.4 Conteúdo total de clorofila (a+b) e carotenoides

A análise do conteúdo total de clorofila (a+b) e carotenoides foram realizadas de acordo com Lichtenthaler (1987). Foram coletados entre 0,025 e 0,030 g de folhas frescas (discos foliares) do terço médio do primeiro trifólio completamente desenvolvido, e em seguida acomodados em tubos de ensaio com capacidade para 1,5 mL, e envoltos com folha de alumínio, contendo 2 mL acetona (80%). Após 72 h, foi realizada leitura de carotenoides nos extratos em espectrofotômetro a 470 nm (caroteno [c] + xantofilas[x]) e a 645 nm e 662 nm para a leitura de clorofila a e b, respectivamente.

3.4.5 Índice de extravasamento de eletrólitos

O índice de extravasamento de eletrólitos foi determinado utilizando cinco discos foliares (129 mm² cada) retirados do terço médio do primeiro trifólio completamente desenvolvido. Os discos foram colocados em um béquer contendo 20 mL de água deionizada em temperatura ambiente por 2 h. Após esse período, a condutividade elétrica inicial (EC1) foi medida utilizando um medidor de condutividade (AK51, Akso, Brasil). Posteriormente, as amostras foram colocadas em autoclave a 121°C por 20 min e, após resfriamento, foi realizada nova leitura da condutividade elétrica para determinação da condutividade elétrica final (EC2). O extravasamento foi estimado com a equação proposta por Dionisio-Sese e Tobita (1998): $EC1/EC2 \times 100$.

3.4.6 Determinação dos teores de fenóis totais

Os teores de fenóis totais foram determinados segundo o método proposto por Singleton e Rossi (1965). Para a extração foram coletados 0,1 g de folhas frescas (discos foliares) e transferidos para tubos tipo falcon, com capacidade para 15 mL envoltos com papel alumínio. Foram adicionados 2 mL de metanol concentrado, permanecendo em repouso por 3 horas no escuro. 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, envoltos em papel alumínio e o volume completado com adição de 10 mL de água deionizada e 0,5 mL de Folin-Ciocalteu 2 N. A solução foi mantida em repouso por 3 minutos e foram adicionados 1,5 mL de carbonato de sódio 20%, permanecendo em repouso por 2 horas. Decorrido esse tempo, foi realizada a leitura da absorbância das amostras em espectrofotômetro (765 nm).

3.4.7 Produção de massa seca

As plantas foram coletadas e particionadas em parte aérea e raiz, lavadas em água corrente, solução detergente (0,1% v/v), solução de ácido clorídrico (0,3% v/v) e água deionizada. Posteriormente acomodadas em sacos de papel e secos em estufa com circulação forçada de ar (65±5°C), até atingir massa constante. Após a secagem, o material foi pesado em balança analítica para obtenção da massa seca.

3.4.8 Teor de silício (Si)

Os teores de Si na parte aérea e raízes foram determinados conforme método descrito por Kraska e Breitenbeck (2010), mediante digestão úmida, pela adição de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e hidróxido de sódio (NaOH), sendo a reação induzida em estufa a 120°C , durante quatro horas. A determinação do teor de Si foi realizada em espectrofotômetro a 410 nm, segundo o método de colorimétrica descrito por Korndörfer et al. (2004). Com base no teor e na massa seca, calculou-se o acúmulo dos elementos na parte aérea e nas raízes das plantas.

3.4.9 Teor de cobre (Cu)

O teor de Cu foi determinado a partir de amostras secas previamente moídas em moinho Wiley, seguindo a metodologia descrita por Bataglia et al. (1983). Com base no teor e na massa seca, calculou-se o acúmulo dos elementos na parte aérea e nas raízes das plantas.

3.4.10 Determinação de nitrogênio total (N) e teor de proteína bruta (PB)

O teor de N foi determinado pela adição de ácido sulfúrico concentrado a amostras de material vegetal previamente seco e moído, seguido de destilação e titulação com ácido sulfúrico (Bataglia et al., 1983). Os teores de proteína bruta (PB) foram obtidos segundo a AOAC International (2005) multiplicando a quantidade N total nas amostras pelo fator de conversão 6,25.

3.4.11 Eficiência na absorção, transporte e utilização do Cu e N

As eficiências nutricionais de Cu e N das plantas foram obtidas utilizando dados de acúmulo destes nutrientes e a massa seca da planta, seguindo indicação de Fageria e Baligar (2005). Para isso, utilizaram-se fórmulas para cálculo da eficiência de absorção (acúmulo na planta inteira/massa da raiz), transporte ((acúmulo da parte aérea/acúmulo na planta inteira) x 100) e utilização ((massa seca da planta inteira)²/acúmulo da planta inteira).

3.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), pelo teste F. Os dados qualitativos foram comparados pelo teste *t* de Student (LSD) a 5% de probabilidade ($p \leq 0,05$). Os dados quantitativos foram analisados utilizando regressão linear ou polinomial, escolhendo o modelo significativo com maior coeficiente de determinação, utilizando o programa estatístico AgroEstat® (Barbosa e Maldonado Junior, 2020).

4. RESULTADOS

A interação entre os fatores ($T \times D$) foi significativa para o acúmulo de Cu na parte aérea, raiz e na planta inteira ($p < 0,01$). O acúmulo de Cu aumentou em ambos tecidos da planta com um ajuste polinomial quadrático em ambas os tempos (48 e 96 h após o tratamento das sementes) (Fig. 2a, c, e).

O acúmulo máximo de Cu foi de 1461,7; 717 e 2039,5 mg por planta, na parte aérea, raiz e na planta inteira, respectivamente, correspondendo às doses de Cu 17,6; 32,4 e 20,2 g kg⁻¹ de semente, para as plantas de soja cujas sementes foram tratadas 48 h antes do plantio (Fig. 2a, c, e), e para as sementes tratadas 98 h antes do plantio, o acúmulo máximo de Cu foi de 1417; 1212 e 2679 mg por planta, nas doses de Cu 18,5; 19,1 e 18,8 g kg⁻¹ de semente, na parte aérea, raiz e na planta inteira, respectivamente.

Apenas o fator isolado D foi significativo ($p < 0,01$) para a massa seca da parte aérea e raiz (Fig. 2b, d, f). Foi observado um ajuste polinomial quadrático em ambos os tempos, com exceção para a massa seca da parte aérea no tempo 96h, que seguiu um ajuste linear decrescente.

O máximo acúmulo de matéria seca foi de 3 e 0,8 g na dose de Cu 4,15 e 13,9 g kg⁻¹ de semente, na parte aérea e na raiz, respectivamente, que receberam o tratamento das sementes 48 h antes do plantio e de 0,6 g na raiz correspondente a dose de Cu 10,12 g kg⁻¹ de semente, 96 h antes do plantio.

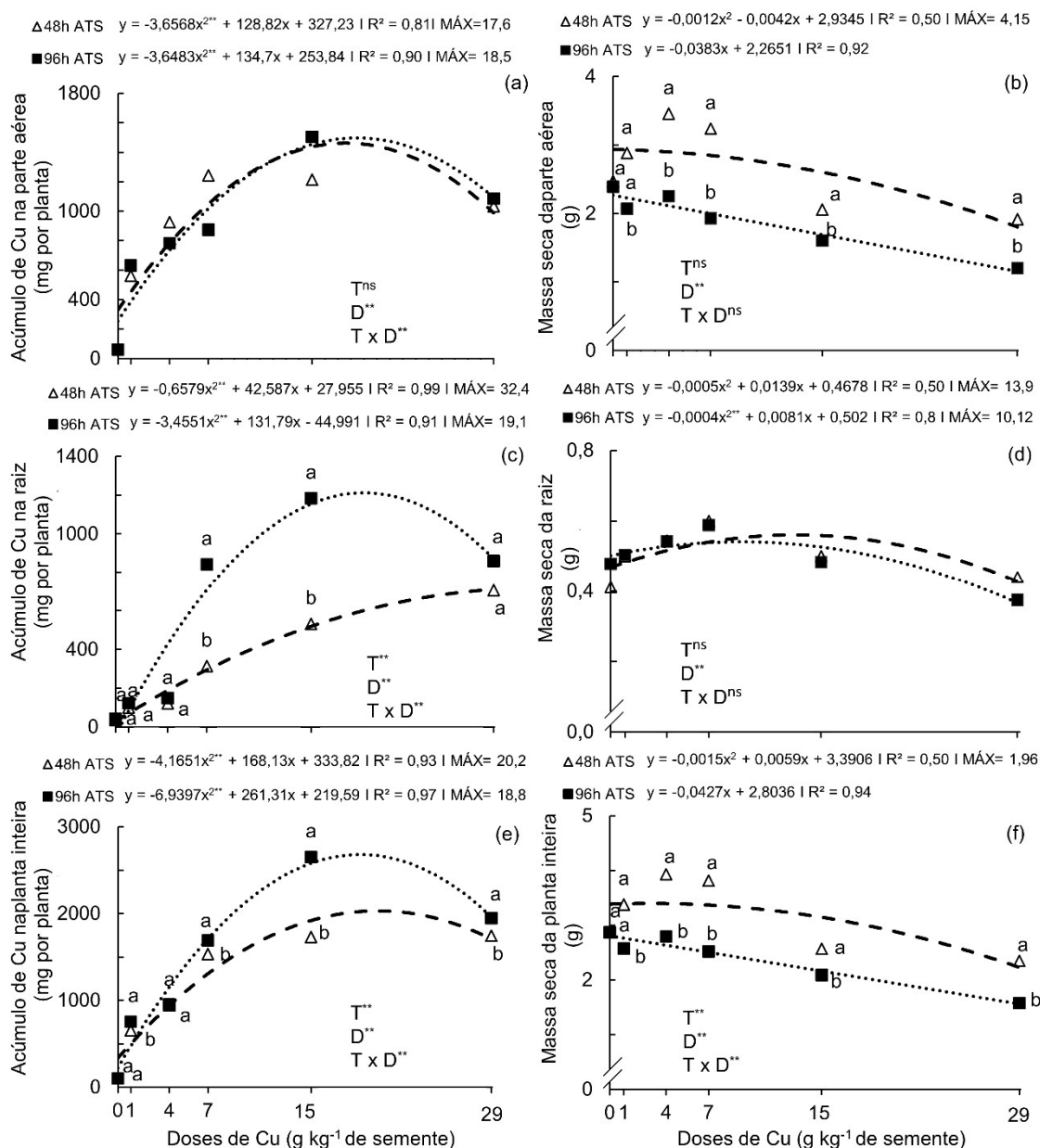


Figura 2. Acúmulo de Cu na parte aérea (a), nas raízes (c) e na planta inteira (e), massa seca da parte aérea (b), raiz (d) e planta inteira (f), em plantas de soja cultivadas sob doses de Cu: 0; 1; 4; 7; 15 e 29 g kg^{-1} de semente. ** e *: Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente; ns: não significativo pelo teste-F. Letras iguais não diferenciam entre as sementes tratadas 48 e 96h anterior ao plantio pelo teste t-Student a 5% de probabilidade.

Todos os fatores (T, D e T $\times$ D) foram significativos para a massa seca da planta inteira (Fig. 2f). O acúmulo de massa seca aumentou nas plantas que receberam o tratamento das sementes 48 h antes do plantio com um ajuste polinomial quadrático, apresentando um acúmulo máximo de 3,4 g na dose de Cu 1,96 g kg^{-1} de semente,

enquanto as plantas que receberam tratamento das sementes 96 h antes do plantio apresentaram diminuição na massa seca, com um ajuste linear decrescente.

Todos os fatores (Si, D e Si $\times$ D) foram significativos para o acúmulo de Cu na parte aérea, raiz e na planta inteira ($p < 0,01$). O acúmulo de Cu aumentou em ambos tecidos da planta com um ajuste polinomial quadrático em ambas as condições de Si (ausência e presença de Si) (Fig. 3a, c, e).

O acúmulo máximo de Cu na parte aérea foi de 61,4 e 25,5 mg por planta, correspondendo às doses de Cu 24,8 e 15,2 g kg⁻¹ de semente, para as plantas de soja cultivadas na ausência e na presença de Si, respectivamente (Fig. 3a). Na raiz, o acúmulo máximo de Cu corresponde a 64 e 44,6 mg por planta nas doses de Cu 29 e 17,9 g kg⁻¹ de semente, na ausência e na presença de Si, respectivamente (Fig. 3c). Na planta inteira, o acúmulo máximo de Cu foi de 119,5 e 68,8 correspondendo às doses de Cu 23,1 e 17,6 g kg⁻¹ de semente, nas plantas cultivadas sem e com a fertirrigação de Si, respectivamente.

A interação entre os fatores e interação (Si; D; Si $\times$ D) foi significativa para o acúmulo de Si na parte aérea e na planta inteira ($p < 0,01$), enquanto para as raízes, apenas o fator isolado de Si foi significativo ($p < 0,01$). O acúmulo de Si aumentou na parte aérea, raiz e na planta inteira com um ajuste polinomial quadrático quando as plantas foram fertirrigadas com Si. Na condição de ausência de Si, nenhum modelo matemático foi significativo para a parte aérea ($y = 7,1$), raiz ($y = 7,2$) e na planta inteira ($y = 14,2$). O máximo acúmulo de Si na parte aérea, raiz e planta inteira foi de 13,2, 10,5 e 23,8 mg por planta na planta inteira correspondendo às doses de Cu 13, 14,6 e 13,5 g kg⁻¹ de semente, respectivamente (Fig. 3b, d, f).

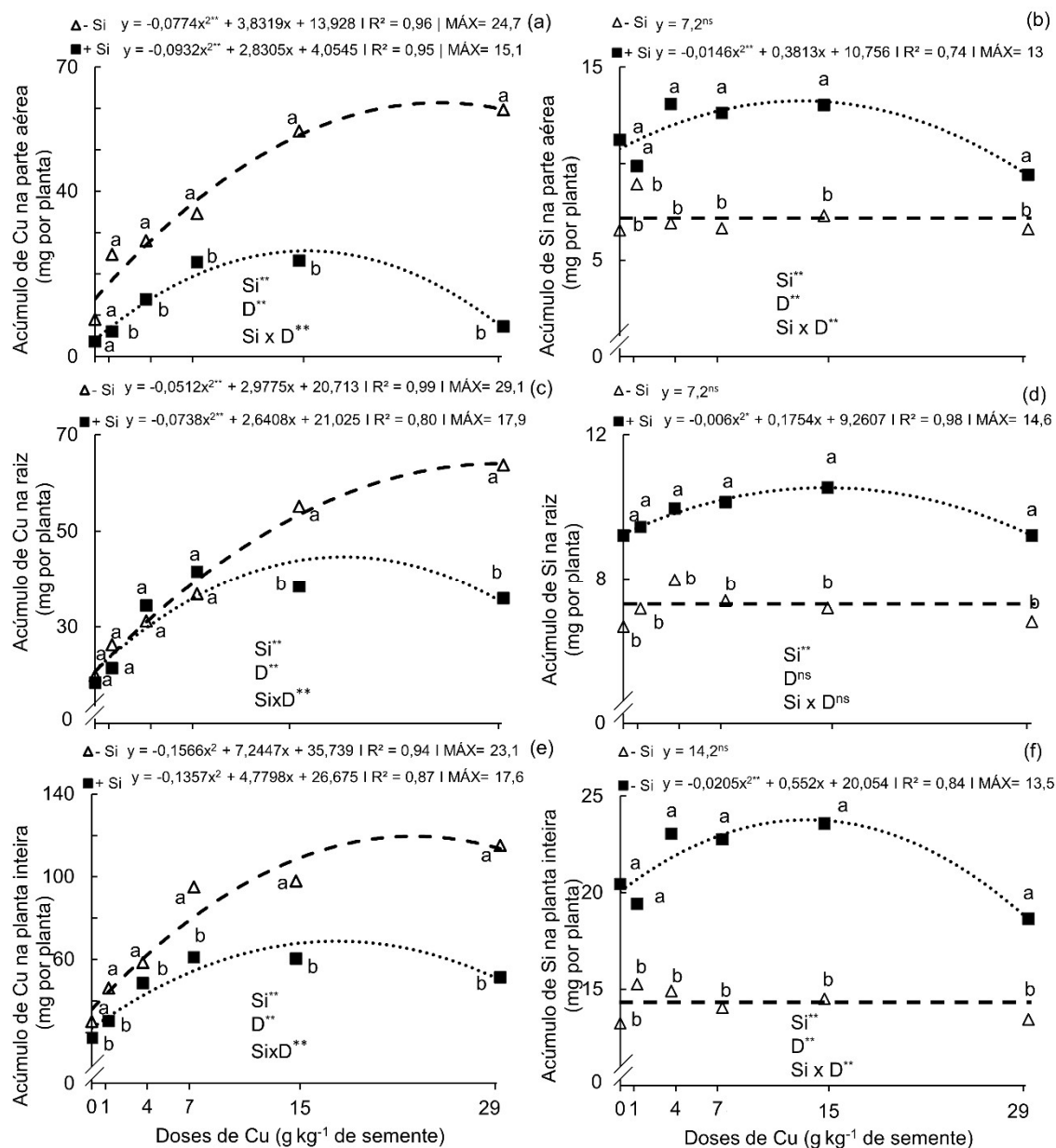


Figura 3. Acúmulo de Cu na parte aérea (a), nas raízes (c) e na planta inteira (e), acúmulo de Si na parte aérea (b), nas raízes (d) e na planta inteira (f) em plantas de soja cultivadas sob doses de Cu: 0; 1; 4; 7; 15 e 29 g kg⁻¹ de semente) na presença (+Si) e ausência (-Si) de Si. ** e *: Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente; ^{ns}: não significativo pelo teste-F. Letras iguais não diferenciam entre a presença e ausência de Si pelo teste t-Student a 5% de probabilidade.

A interação entre os fatores (Si × D) foi significativa ($p < 0,01$) para o índice de extravasamento de eletrólitos. O ajuste polinomial quadrático foi observado na presença de Si, enquanto para a condição de ausência desse elemento não foi

observado ajuste para nenhum modelo matemático ($y = 76,6$). Na ausência de Si, o índice de extravasamento de eletrólitos aumentou independente da dose de Cu estudada. Por outro lado, as plantas que receberam Si via fertirrigação apresentaram diminuição deste índice, conforme aumento das doses de Cu. O mínimo de índice de extravasamento de eletrólitos nas folhas de soja foi de 20,6 % correspondente a dose de Cu de 21 g kg⁻¹ de semente (Fig. 4a).

Para os compostos fenólicos, apenas os fatores isolados Si e D foram significativos (ambos $p < 0,01$). O ajuste polinomial quadrático foi observado para a condição de ausência de Si, enquanto na presença desse elemento não foi observado nenhum ajuste matemático ($y = 27,7$). O fornecimento de Si via fertirrigação favoreceu maior incremento de compostos fenólicos nas plantas de soja, independente da dose estudada. Por outro lado, na ausência deste elemento foi observado uma diminuição na produção desses compostos. O máximo de compostos fenólicos produzidos na ausência de Si foi de 24 g de EAG 100g⁻¹ na dose de Cu equivalente a 7 g kg⁻¹ de semente (Fig. 4b).

Para o índice de cor verde, apenas o fator isolado de D foi significativo ($p < 0,01$), seguindo um ajuste polinomial quadrático na presença de Si, enquanto um ajuste linear decrescente foi observado na ausência desse elemento benéfico. O fornecimento de Si resultou em um índice de cor verde de 16 na dose de Cu 12 g kg⁻¹ de semente (Fig. 4c).

Não houve efeito significativo dos fatores (Si, D e Si $\times$ D) para Chl a+b (Fig. 4d), e eficiência quântica do PSII - expressa pelos valores de Fv/Fm (Fig. 4f). Não houve ajuste para nenhum modelo matemático ($y = 0,25$ e $y = 0,71$ para Chl a+b e Fv/Fm nas condições de Si).

Para os carotenoides a interação entre os fatores foi significativa (Si $\times$ D) ($p < 0,01$). O conteúdo de carotenoides diminuiu na condição de -Si na dose de 29 g kg⁻¹ de semente, com ajuste linear decrescente. Já para a condição de +Si não foi observado ajuste a nenhum modelo matemático ($y = 0,26$) (Fig. 4e).

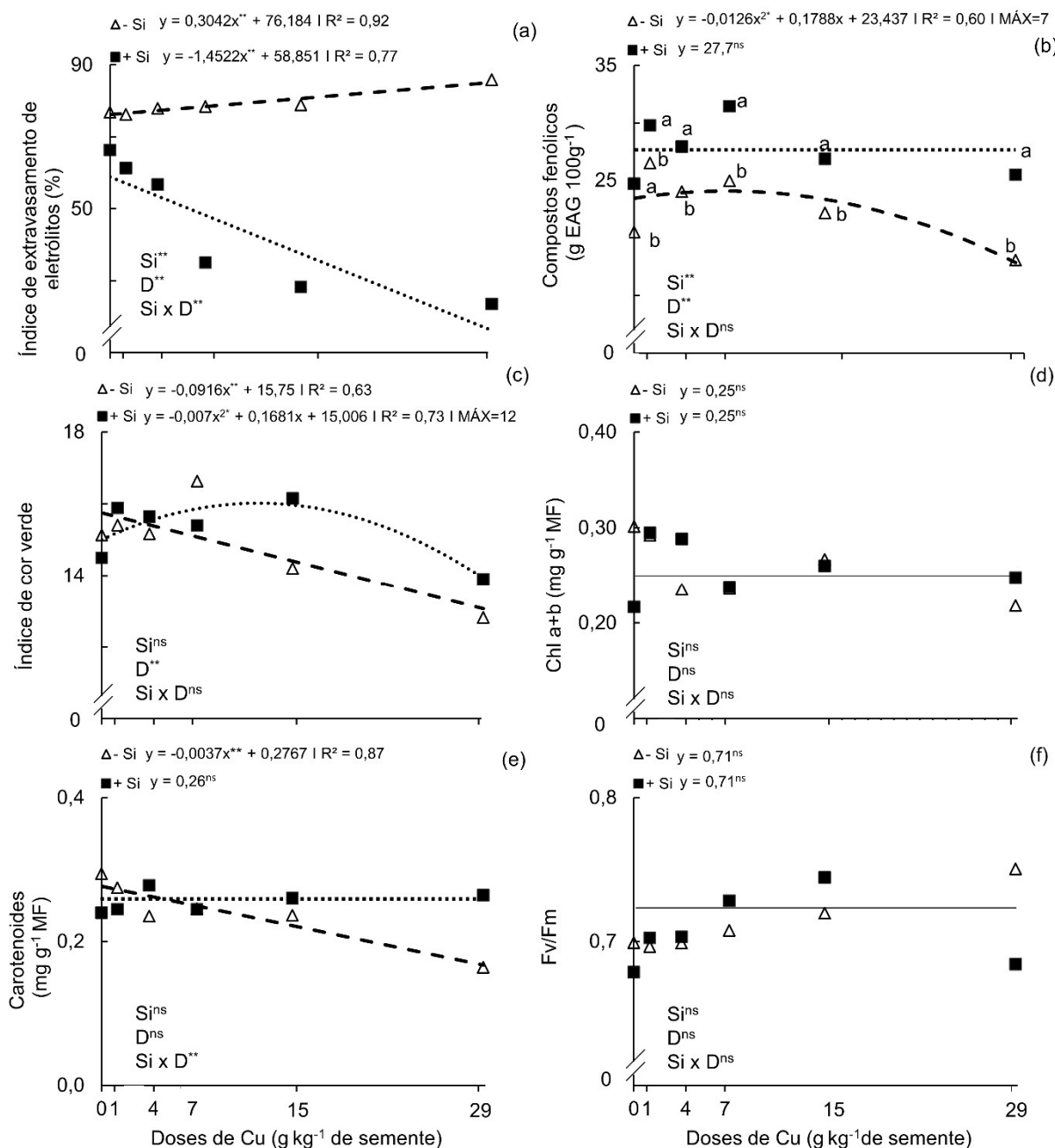


Figura 4. Índice de extravasamento de eletrólitos (a), compostos fenólicos (b), índice de cor verde (c), Chl a+b (d), carotenoides (e), Fv/Fm (f) em plantas de soja cultivadas sob doses de Cu: 0; 1; 4; 7; 15 e 29 g kg⁻¹ de semente) na presença (+Si) e ausência (-Si) de Si. ** e *: Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente; ns: não significativo pelo teste-F. Letras iguais não diferenciam entre a presença e ausência de Si pelo teste t-Student a 5% de probabilidade.

Apenas o efeito isolado do Si foi significativo para o número de nódulos, ($p < 0,01$). Para a massa seca de nódulos não houve efeito significativo dos fatores (Si,

D e Si $\times$ D) (Fig. 5ab). Ambas as condições de Si não apresentaram ajuste matemático, para número de nódulos ($y=41$ e $y=60$) e massa seca de nódulos ($y=0,15$ e $y=0,16$), na ausência e presença de Si, respectivamente. O fornecimento de Si promoveu aumento no número de nódulos de 46% em relação a ausência de Si (Fig. 5a).

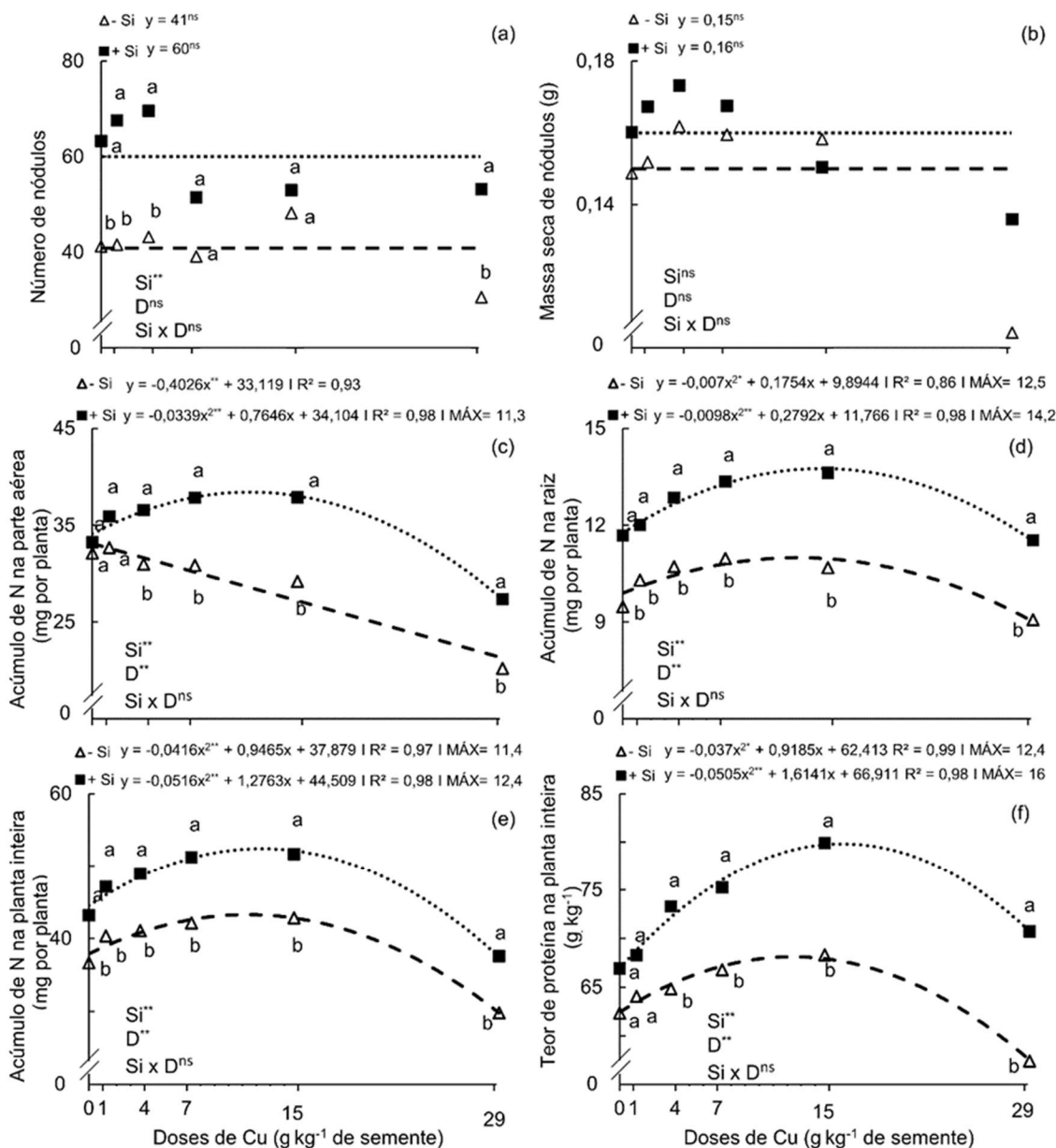


Figura 5. Número de nódulos (a), massa seca de nódulos (b), acúmulo de N na parte aérea (c), raiz (d), na planta inteira (e), teor de proteína na planta inteira (f) em plantas de soja cultivadas sob doses de Cu: 0; 1; 4; 7; 15 e 29 g kg⁻¹ de semente) na presença (+Si) e ausência (-Si) de Si. ** e *: Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente; ns: não significativo pelo teste-F. Letras iguais não diferenciam entre a presença e ausência de Si pelo teste t-Student a 5% de probabilidade.

A interação entre os fatores (Si × D) não foi significativa para o acúmulo de N na parte aérea, raiz, na planta inteira e no teor de proteína bruta. Os fatores isolados de Si ($p < 0,01$) e D ($p < 0,01$) foram significativos para todas as variáveis. O ajuste polinomial quadrático foi observado para as condições de Si, exceto para o acúmulo de N na parte aérea na condição de -Si, que seguiu um ajuste linear decrescente (Fig. 5c-f).

O máximo acúmulo de N nas plantas de soja, cultivadas sob fertirrigação de Si foi de 38,4; 13,8 e 52,4 mg por planta na parte aérea, raiz e na planta inteira, correspondendo às doses de Cu: 11,3, 14,2 e 12,4 g kg⁻¹ semente, respectivamente. Na ausência de Si, o acúmulo máximo de N foi de 11 e 43,3 nas doses de Cu: 11,5 e 12,4 g kg⁻¹ semente nas raízes e na planta inteira, respectivamente (Fig. 5c-e).

Para o teor de proteína na planta inteira, na presença de Si o máximo teor foi de 79,8 g kg⁻¹ e na ausência: 68,1 g kg⁻¹ nas doses de Cu: 16 e 12,4 g kg⁻¹ semente, respectivamente (Fig. 5f).

Todos os fatores e interação (Si, D e Si × D) foram significativos para a eficiência de absorção e de translocação de Cu (ambos $p < 0,01$). A eficiência de absorção de Cu apresentou ajuste polinomial quadrático na ausência e presença de Si (Fig. 6a, c). A máxima eficiência de absorção e de translocação de Cu na presença de Si foi de 0,05 g g⁻¹, e 36% observadas nas concentrações de Cu: 18,8 e 14,2 g kg⁻¹ de semente, e na ausência de Si: 0,1 g g⁻¹ e 64,3%, nas doses de Cu: 32,5 e 18 g kg⁻¹ de semente, respectivamente.

Para a eficiência de uso de Cu, apenas os fatores isolados Si e D apresentaram efeito significativo (ambos $p < 0,01$). O ajuste linear decrescente foi observado em ambas as condições de Si. Plantas que receberam Si foram mais eficientes no uso de Cu, quando comparadas com as plantas que não receberam o elemento (Fig. 6e).

Apenas os efeitos isolados de Si e D apresentaram efeito significativo para a eficiência de absorção de N (ambos $p < 0,01$) (Fig. 6b) e eficiência de translocação de N, Si ($p < 0,01$) e D ($p < 0,05$) (Fig. 6d). Para a eficiência de uso de N, apenas o fator isolado D ($p < 0,01$) apresentou efeito significativo (Fig. 6e). O ajuste polinomial quadrático foi observado para a eficiência de absorção de N na condição de +Si e -Si. Para eficiência de translocação na condição de -Si e para o uso de N na condição de

+Si. Ainda para a eficiência de translocação de N, nenhum modelo matemático se ajustou na condição de +Si ($y = 74$). A eficiência de uso de N na ausência de Si seguiu um ajuste linear decrescente.

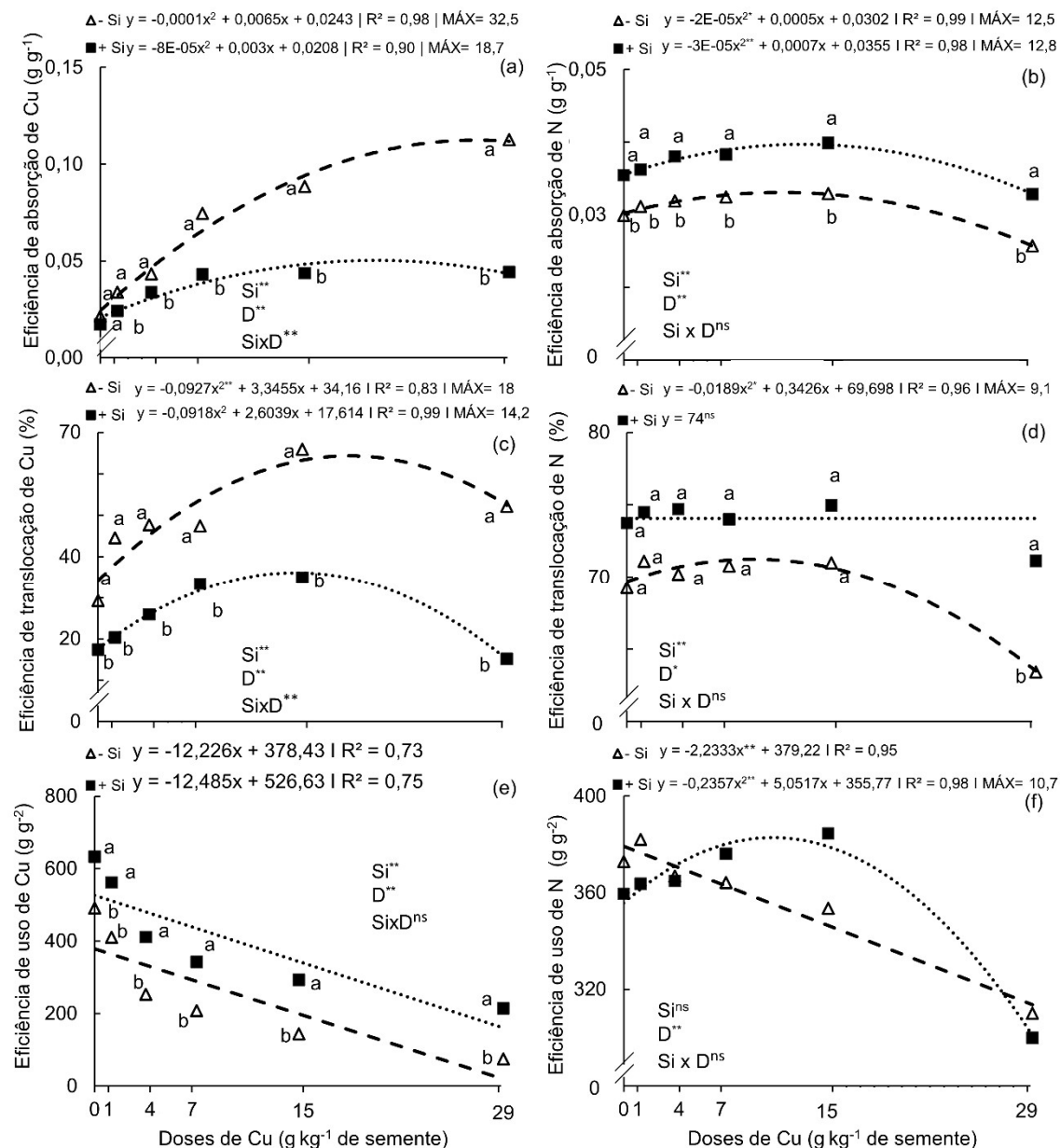


Figura 6. Eficiência de absorção, translocação e uso de Cu (a, c, e) e de N (b, d, f) em plantas de soja cultivadas sob doses de Cu: 0; 1; 4; 7; 15 e 29 g kg⁻¹ de semente) na presença (+Si) e ausência (-Si) de Si. ** e *: Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente; ^{ns}: não significativo pelo teste-F. Letras iguais não diferenciam entre a presença e ausência de Si pelo teste t-Student a 5% de probabilidade.

A máxima eficiência de absorção de N foi de 0,03 e 0,04 g g⁻¹ na dose de Cu: 12,5 e 12,8 g kg⁻¹ semente, em ambas as condições de Si (- Si e +Si, respectivamente). A máxima eficiência de translocação de N foi de 71,2 % correspondente a concentração de Cu: 9,1 g kg⁻¹ semente, em -Si. A máxima eficiência de uso de N na presença de Si foi de 383 g g⁻² correspondente a dose de Cu de 10,7 g kg⁻¹ semente (Fig. 6b).

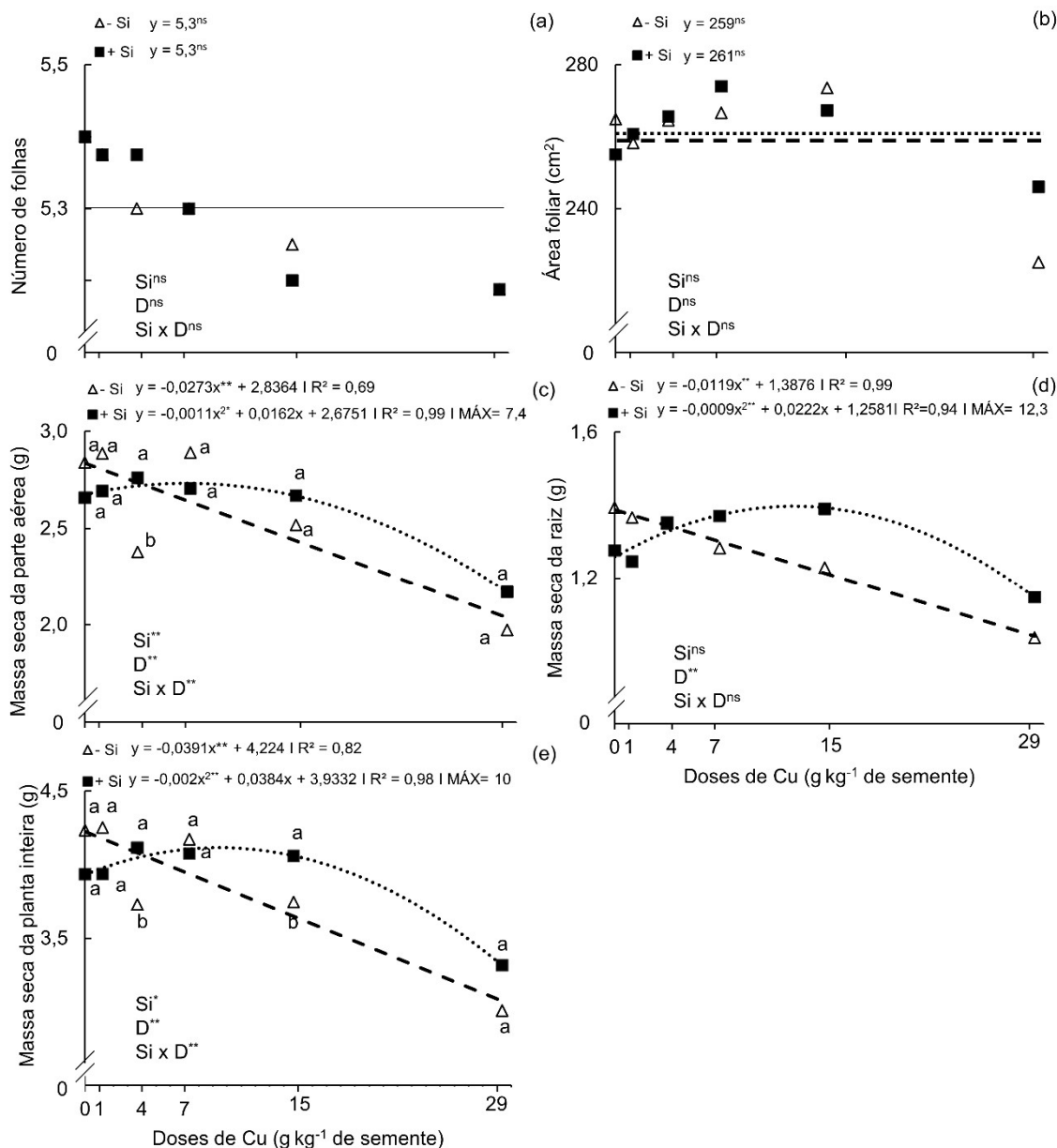


Figura 7. Número de folhas (a), área foliar (b), massa seca da parte aérea (c), raiz (d) e na planta inteira (e) em plantas de soja cultivadas sob doses de Cu: 0; 1; 4; 7; 15 e 29 g kg⁻¹ de semente) na presença (+Si) e ausência (-Si) de Si. ** e *: Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente; ns: não significativo pelo teste-F. Letras iguais não diferenciam entre a presença e ausência de Si pelo teste t-Student a 5% de probabilidade.

Não foi observado efeito significativo dos fatores (Si, D e Si $\times$ D) para o número de folhas ($y = 5,3$ -Si e $+ Si$) e área foliar ($y = 259$, -Si e $y = 261$, +Si) (Fig. 7a-b).

Todos os fatores e interação (Si, D e Si $\times$ D) foram significativos para a massa seca da parte aérea ($p < 0,01$) e na planta inteira (Si $p < 0,05$, D e Si $\times$ D $p < 0,01$) (Fig. 7c, e). Para a massa seca da raiz apenas o fator isolado de D foi significativo ($p < 0,01$) (Fig. 7d). Foi observado ajuste polinomial quadrático na presença de Si e ajuste linear decrescente na ausência, para todas as variáveis. A produção máxima de matéria seca da parte aérea, raiz e na planta inteira foi de 2,7; 1,4 e 4,1 g, correspondente às doses de Cu: 7,4; 12,3 e 10 g kg^{-1} de semente, respectivamente.

Todos os fatores (Si, D e Si $\times$ D) não apresentaram efeito significativo para a altura da planta. Não houve ajuste matemático para as condições de Si ($y = 25$ para ambas as condições) (Fig. 8a).

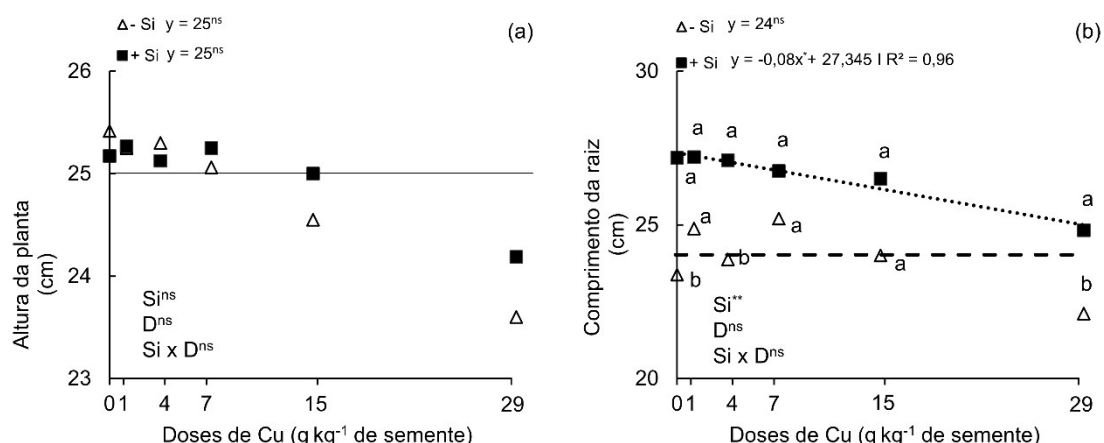


Figura 8. Altura da planta (a) e comprimento da raiz (b) em plantas de soja cultivadas sob doses de Cu: 0; 1; 4; 7; 15 e 29 g kg^{-1} de semente) na presença (+Si) e ausência (-Si) de Si. ** e *: Significativo a 1% e 5% de probabilidade, respectivamente; ns: não significativo pelo teste-F. Letras iguais não diferenciam entre a presença e ausência de Si pelo teste t-Student a 5% de probabilidade.

Apenas o fator isolado de Si apresentou efeito significativo ($p < 0,01$) para comprimento da raiz. O ajuste linear decrescente foi observado na presença de Si, enquanto na ausência desse elemento não foi observado ajuste matemático ($y = 24$) (Fig. 8b).

5. DISCUSSÃO

A aplicação de Cu via tratamento de sementes resultou em aumento no acúmulo desse micronutriente tanto na fase de plântula quanto no crescimento inicial das plantas de soja (Fig.2 e 3 a, c, e), demonstrando que a estratégia de tratar as sementes antes do plantio é eficiente para fornecê-los na fase inicial de crescimento de plantas de soja, evitando assim a carência deste micronutriente.

O enriquecimento no acúmulo de Cu com a aplicação do micronutriente via tratamento de sementes foi mais evidente com o fornecimento de altas doses (a cima de 15g kg^{-1} semente). Isso indica que essa forma de aplicação pode induzir mais facilmente as perdas por toxicidade quando comparados com perdas por deficiência.

O aumento do acúmulo de Cu obtido com o fornecimento de maiores doses deve-se à melhoria na eficiência de absorção (Fig. 6a). Esse fato se deu porque a aplicação via sementes permitiu maior contato com as raízes, primeiro órgão de absorção. Aliado a isso, existe o fato de que houve uma maior concentração dos elementos na forma de óxidos na região da rizosfera (Montanha et al., 2021).

A baixa solubilidade dos óxidos de cobre pode induzir um efeito imediato na plântula muito restrito e maior efeito residual no crescimento inicial da cultura. No entanto, fontes novas como óxido cúprico microparticulado dependendo da dose pode liberar mais Cu disponível e causar efeito imediato na fase de plântulas, mas isso ainda não foi comprovado.

A liberação imediata do Cu nestas fontes pode nutrir as plântulas, havendo risco de induzir toxicidade e prejudicar nesta fase e até no crescimento inicial da cultura. A eficiência de translocação (Fig. 6c), que representa a quantidade do nutriente transportada para a parte aérea, diminuiu à medida que maiores quantidades de Cu foram aplicadas. Esse efeito pode ser explicado pela limitada capacidade das plantas em remobilizar Cu das raízes para a parte aérea (Prado, 2021). No entanto, a eficiência de uso deste elemento (Fig. 6e) diminuiu com o aumento das doses fornecidas via sementes, uma vez que, à medida que há aumento na disponibilidade do micronutriente, a capacidade de utilização pelas plantas tende a diminuir (Dias et al., 2015).

Neste estudo foi possível observar que o excesso de Cu proporcionou efeitos prejudiciais nas plantas de soja, principalmente em doses altas (a partir de 15 g kg⁻¹ de Cu), evidenciados pela diminuição do acúmulo de N (Fig. 5a,c,e). Esse efeito ocorreu porque o excesso de Cu pode reduzir a atividade de enzimas como a nitrato redutase -(enzima envolvida na transformação de N) em plantas, podendo ligar-se a sítios ativos das enzimas e inibir o metabolismo de N, diminuindo consequentemente a absorção de N pelas raízes (Rui et al., 2018; Hippler et al., 2016; Xiong et al., 2006). E, além de diminuir o número de nódulos, ao mesmo tempo que houve aumento do estresse oxidativo, indicado pelas altas taxas de índice de extravasamento de eletrólitos (Fig. 4a), diminuição do conteúdo de compostos fenólicos (Fig. 4b), do índice de cor verde (Fig. 4c), refletindo na diminuição da altura e massa seca das plantas (Fig. 7c,d,e).

Uma estratégia de mitigar os efeitos danosos causados pelo desequilíbrio de Cu em soja seria mediante adição de Si fornecido via fertirrigação. O efeito benéfico do Si foi observado claramente quando altas doses de Cu foram fornecidos via tratamento de sementes. O Si proporcionou diminuição na absorção e translocação de Cu da raiz para a parte aérea, além de aumentar a eficiência de uso deste elemento. Esse fato pode ser justificado pelo efeito do Si induzir menor absorção e transporte destes metais nas plantas e bloquear a transferência em seus tecidos (Adrees et al., 2015; Etesami e Jeong, 2018). Essa diminuição na absorção de metais mediada pelo Si também pode ser explicada através da estimulação da produção de exsudatos radiculares, que podem complexar os metais e diminuir a absorção pelas raízes (Kidd et al., 2001).

A presença do Si também influencia na diminuição do transporte apoplasmático de metais, diminuindo assim a concentração de metais livre no apoplasto, o que também explica essa diminuição na absorção de metais (Iwasaki et al., 2002; Rogalla e Römheld, 2002). Outra razão que explica essa melhoria do Si à toxicidade pode ser devido a deposição de Si na proximidade da endoderme podendo diminuir a porosidade da parede celular dos tecidos radiculares internos, formando uma barreira física que pode diminuir a concentração de metal no xilema (Shi et al., 2005; Cunha e Nascimento, 2009; Keller et al., 2015).

Além disso, a adição de Si ao solo contribui para a polimerização de compostos de silicato, os quais são referidos como potenciais complexantes de metais pesados (Dietzel, 2000), o Si presente no solo pode ainda aumentar a proporção de ligantes de Cu (I) (orgânico e inorgânico), que podem complexar e aumentar o sequestro de Cu em uma forma que pode ser menos tóxica (Collin et al., 2014). Keller et al. (2015) observaram que em plantas de trigo (*Triticum turgidum* L) tratadas com 30 μ M de Cu a presença do Si promoveu diminuição na absorção e translocação de Cu da raiz para a parte aérea.

O fornecimento de Si via fertirrigação também induziu aumento no acúmulo de N (Fig. 5c-f), em relação à ausência do elemento benéfico. O Si melhorou a eficiência de absorção e translocação do nutriente na planta (Fig. 6b, d), que refletiu em maior teor de proteína bruta (Fig. 5f), principalmente em níveis tóxicos de Cu (29 g kg⁻¹ semente). O Si atua aumentando a absorção e translocação de nutrientes aumentando a expressão de transportadores na raiz, que contribui nos parâmetros fisiológicos, gerando aumento da translocação de nutrientes (Ali et al., 2020).

O maior acúmulo de N deve-se a melhoria na FBN, que foi observado pelo aumento de número de nódulos mediado pelo Si, nas plantas que receberam Cu no tratamento de sementes. Esse efeito do Si no aumento do número de nódulos foi anteriormente evidenciado em plantas de feijão-caupi (*Vigna unguiculata*) (Nelwamondo e Dakora, 1999), alfafa (*Medicago sativa*) (Johnson et al., 2017) e soja (*Glycine max*) (Steiner et al., 2018). No entanto, a explicação para esse efeito ainda não foi bem elucidada, estudos atuais sugerem que o aumento da produção de flavonoides no nódulo pelo fornecimento de Si pode resultar no aumento da nodulação radicular (Putra et al., 2022).

O Si contribuiu também com sua ação antioxidante, promovendo aumento na produção de compostos fenólicos no excesso de Cu. O Si atua no metabolismo de compostos fenólicos e carotenoides favorecendo sua síntese (Chen et al., 2016). Quando as plantas são expostas ao estresse nutricional como toxicidade, ocorre o estresse oxidativo (Kim et al., 2017) e a aplicação de Si pode atenuar esse estresse, por diminuir a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (Adrees et al., 2015; Kim et al., 2017). O Si pode ter exercido ação enzimática levando ao incremento na ativação de enzimas envolvidas no metabolismo de defesa secundária (Oliveira et al.,

2019). O efeito benéfico mediado pelo Si no conteúdo de fenóis, favoreceu o equilíbrio do sistema antioxidante, com eliminação direta do oxigênio molecular ativo e do H_2O_2 , que inibiu a peroxidação lipídica (Sharma et al., 2012) e assim evitou a degradação de compostos celulares.

Os resultados desse estudo encontraram efeitos semelhantes associado ao Si ao diminuir o índice de extravasamento de eletrólito na toxicidade de Cu (Fig.4a) indicando diminuição do estresse oxidativo devido a produção de antioxidantes, evitando danos na membrana e o efluxo do citosol para espaço livre entre as células. Assim, apesar de existir uma preocupação do risco de toxicidade dos micronutrientes no tratamento de semente especialmente quando se associa ao Cu o uso de óxidos insolúveis como fonte associadas ou não ao fornecimento de Si podem diminuir os danos ao usar altas doses.

O estudo propõe de forma inédita a aplicação de dose ótima de Cu correspondente a 10 g kg^{-1} de semente no tratamento de sementes usando fonte inovadora combinada com o fornecimento de Si via fertirrigação para favorecer a eficiência da adubação nitrogenada e para promover incrementos na produtividade da cultura da soja, evitando risco de estresse por toxicidade nutricional.

6. CONCLUSÕES

Altas doses de Cu fornecidos via tratamento de sementes induz toxicidade a partir de 1 g kg^{-1} de semente em plantas jovens de soja, pela diminuição da massa seca das plantas conforme aumento das doses.

O fornecimento de Si via fertirrigação no solo é eficiente para aliviar os danos causados por doses tóxicas de Cu usando óxidos em plantas jovens de soja ao modular a eficiência de uso do cobre favorecendo o acúmulo de N nas plantas de soja e consequentemente a produção de massa seca.

7. REFERÊNCIAS

- Adrees M, Ali S, Rizwan M, Zia-ur-Rehman M, Ibrahim M, Abbas F, Farid M, Qayyum MF, Irshad MK (2015). Mechanisms of silicon-mediated alleviation of heavy metal toxicity in plants: A review. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 119, 186–197. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.05.011>
- Ali N, Réthoré E, Yvin JC, Hosseini SA (2020). The regulatory role of silicon in mitigating plant nutritional stresses. **Plants** 9 (12): 1–18. <https://doi.org/10.3390/plants9121779>
- Ali S, Farooq MA, Yasmeen T, Hussain S, Arif MS, Abbas F, Bharwana SA, Zhang G (2013). The influence of silicon on barley growth, photosynthesis and ultra-structure under chromium stress. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 89: 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.11.015>
- Ayub MA, Ur Rehman MZ, Umar W, Adnan M, Farooqi ZUR, Naveed M, Ahmad HR (2021). Physiological mechanisms and adaptation strategies of plants under heavy metal micronutrient deficiency/toxicity conditions. In: **Frontiers in Plant-Soil Interaction**. Academic Press, p. 413-458.
- Avramescu ML, Chénier M, Palaniyandi S, Rasmussen PE (2020). Dissolution behavior of metal oxide nanomaterials in cell culture medium versus distilled water. **Journal of Nanoparticle Research** 22(8). <https://doi.org/10.1007/s11051-020-04949-w>
- Baudet L, Peske ST (2006). A logística do tratamento de sementes. **Seed News**. v.10, n.1, p.20-23.
- Bevilacqua LR, Fossati F, Dondero G (1987). ‘Callose’ in the impermeable seed coat of *Sesbania punicea*. **Annals of Botany** 59(3): 335–341. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087322>

Bityutskii N, Pavlovic J, Yakkonen K, Maksimovi V (2014). Contrasting effect of silicon on iron, zinc and manganese status and accumulation of metal-mobilizing compounds in micronutrient-deficient cucumber. **Plant Physiology and Biochemistry** 74: 205–211. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.11.015>

Bosnić D, Nikolić D, Timotijević G, Pavlović J, Vaculík M, Samardžić J, Nikolić M (2019). Silicon alleviates copper (Cu) toxicity in cucumber by increased Cu-binding capacity. **Plant and Soil** 441(1–2):629–641. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04151-5>

Camargo OA de, Moniz AC, Jorge JA, Valadares JMAS (1986). **Métodos de análise química, mineralógica e física de solos do Instituto Agrônomo de Campinas**. Instituto Agrônomo de Campinas - IAC.

Chen D, Cao B, Wang S, Liu P, Deng X, Yin L, Zhang S (2016). Silicon moderated the K deficiency by improving the plant-water status in sorghum. **Scientific Reports** 6(1):1–14. <https://doi.org/10.1038/srep22882>

Chmielowska-Bąk J, Shcheglova E, Rosik K, Yushin N, Ziniovskaya I, Decker J (2022). Oxidative RNA modifications as an early response of soybean (*Glycine max* L.) exposed to copper and lead. **Frontiers in Plant Science**, 3437. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.828620>

Chung YS, Lee U, Heo S, Silva RR, Na CI, Kim Y (2020). Image-based machine learning characterizes root nodule in soybean exposed to silicon. **Frontiers in Plant Science** 11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.520161>

Collin B, Doelsch E, Keller C, Cazevieuille P, Tella M, Chaurand P, Panfili F, Hazemann JL, Meunier JD (2014). Evidence of sulfur-bound reduced copper in bamboo exposed to high silicon and copper concentrations. **Environmental Pollution** 187:22–30. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.12.024>

Conceição GM, Cunha VDS, Fipke GM, Bruning LA, Rossato A da C, Martin TN (2020). Mineral supplementation of soybean seeds with different initial nutrient levels.

Acta Scientiarum - Agronomy 42:1–9.

<https://doi.org/10.4025/actasciagron.v42i1.42484>

Cooke J, Leishman MR (2016). Consistent alleviation of abiotic stress with silicon addition: a meta-analysis. **Functional Ecology** 30(8):1340–1357.

<https://doi.org/10.1111/1365-2435.12713>

Cunha KPV da, Nascimento CWA do (2009). Silicon effects on metal tolerance and structural changes in Maize (*Zea mays* L.) grown on a cadmium and zinc enriched soil.

Water, Air, and Soil Pollution 197(1–4):323–330. <https://doi.org/10.1007/s11270-008-9814-9>

Chen H M, Zheng CR, Tu C, Shen ZG (2000). Chemical methods and phytoremediation of soil contaminated with heavy metals. *Chemosphere*, v. 41, n. 1–2, p. 229–234. doi: 10.1016/s0045-6535(99)00415-4.

de Souza Júnior, JP, de Mello Prado R, Campos CNS, Teixeira GCM, Ferreira PM, (2022). Nanosilica-mediated plant growth and environmental stress tolerance in plants: mechanisms of action. **Silicon Nano-silicon Environ. Stress Manag. Crop Qual. Improv.** 325–337. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91225-9.00023-6>

Debona D, Rodrigues FA, Datnoff LE (2017). Silicon's role in abiotic and biotic plant stresses. **Annual Review of Phytopathology** 55:85–107.

<https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080516-035312>

De La Torre-Roche R, Cantu J, Tamez C, Zuverza-Mena N, Hamdi H, Adisa IO, Elmer W, Gardea-Torresdey J, White JC (2020). Seed biofortification by engineered nanomaterials: a pathway to alleviate malnutrition? **J Agr Food Chem** 68:12189–12202. <https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1021/acs.jafc.0c04881>

Dias MAN, Cicero SM, Novembre ADLC (2015). Uptake of seed-applied copper by maize and the effects on seed vigor. **Bragantia** 74(3):241–246. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.0044>

Dias MAN, Cicero SM (2016). Effect of copper carbonate and zinc oxide applied to seeds on copper and zinc uptake by maize seedlings. **Bragantia** 75:286–291. <https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1590/1678-4499.533>

Dietzel M (2000). Dissolution of silicates and the stability of polysilicic acid. **Geochimica et Cosmochimica Acta** 64(19):3275–3281. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(00\)00426-9](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(00)00426-9)

Dietz KJ, Herth S (2011). Plant nanotoxicology. **Trends in plant science**, 16(11), 582–589. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.08.003>

Duran NM, Savassa SM, de Lima RG, de Almeida E, Linhares FS, van Gestel CAM, de Carvalho HWP (2017). X-ray spectroscopy uncovering the effects of Cu based nanoparticle concentration and structure on *Phaseolus vulgaris* germination and seedling development. **J Agr Food Chem** 65:7874–7884. <https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1021/acs.jafc.7b03014>

Epstein E (1994). The anomaly of silicon in plant biology. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 91(1):11–17. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.1.11>

Epstein E, Bloom AJ (2004). **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives** (2nd ed.). Sinauer Associates Is an Imprint of Oxford University Press.

Etesami H, Jeong BR (2018). Silicon (Si): Review and future prospects on the action mechanisms in alleviating biotic and abiotic stresses in plants. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 147:881–896. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.09.063>

Farooq M, Wahid A, Siddique KHM (2012). Micronutrient application through seed treatments - a review. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition** 12:125–142. <https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.4067/s0718-95162012000100011>

Fauteux F, Remus-Borel W, Menzies JG, Belanger RR (2005). Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi: mini review. **FEMS Microbiology Letters**, V. 249, Issue 1, p. 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.femsle.2005.06.034>.

Flora C. et al (2019). Silicon alleviates long-term copper toxicity and influences gene expression in *Nicotiana tabacum*. **Journal of Plant Nutrition**, v. 42, n. 8, p. 864–878.

Frezato P, Braga AAO, Sorace MAF, Cossa CA, Pires CEM, Machado VJJ, Osipi EAF (2021). Ação de bioestimulantes e nutrientes via tratamento de sementes na germinação e desenvolvimento de plântulas de *Glycine max* L. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 18674-18679.

Galvão EZ, (1999). Methods of copper application and evaluation of its availability for soybean grown on a cerrado red-yellow Latosol. **Revista Brasileira de Ciência Do Solo** 23(2):265–272. <https://doi.org/10.1590/S0100-06831999000200010>

Gonzalo MJ, Lucena JJ, Hernández-apaolaza L (2013). Plant physiology and biochemistry effect of silicon addition on soybean (*Glycine max*) and cucumber (*Cucumis sativus*) plants grown under iron deficiency. **Plant Physiology et Biochemistry** 70:455–461. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.06.007>

Graven P, Koster CG de, Boon JJ, Bouman F (1996). Structure and macromolecular composition of the seed coat of the Musaceae. **Annals of Botany** 77(2):105–122. <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0013>

Halliwell B, Gutteridge JMC (1984). Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. **Biochem. J.** 219:1-14

Hoe PT, Mai NC, Lien LQ, Ban NK, Minh CV, Chau NH, Buu NQ, Hien DT, Van NT, Hien LTT, Linh TM (2018). Germination responses of soybean seeds to Fe, ZnO, Cu and Co nanoparticle treatments. **Int J Agric Biol** 20:1562–1568. <https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.17957/ijab/15.0670>

Hu J e Xianyu Y (2021). When nano meets plants: A review on the interplay between nanoparticles and plants. **Nano Today**, 38, 101143. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2021.101143>

Iwasaki K, Maier P, Fecht M, Horst WJ (2002). Leaf apoplastic silicon enhances manganese tolerance of cowpea (*Vigna unguiculata*). **Journal of Plant Physiology**, 159(2):167–173. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-00691>

Johnson SN da, Hartley SE, Ryalls JMW, Frew A, DeGabriel JL, Duncan M, Gherlenda AN (2017). Silicon-induced root nodulation and synthesis of essential amino acids in a legume is associated with higher herbivore abundance. **Functional Ecology** 31(10): 1903–1909. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12893>

Keller C, Rizwan M, Davidian JC, Pokrovsky OS, Bovet N, Chaurand P, Meunier JD (2015). Effect of silicon on wheat seedlings (*Triticum turgidum* L.) grown in hydroponics and exposed to 0 to 30 μ M Cu. **Planta** 241(4):847–860. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2220-1>

Kidd PS, Llugany M, Poschenrieder C, Gunsé B, Barceló J (2001). The role of root exudates in aluminium resistance and silicon-induced amelioration of aluminium toxicity in three varieties of maize (*Zea mays* L.). **Journal of Experimental Botany**, 52(359):1339–1352.

Kim Y, Khan AL, Waqas M, Lee I (2017). Silicon regulates antioxidant activities of crop plants under abiotic-induced oxidative stress: A review. **Frontiers in Plant Science**, 8(April):1–7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00510>

Klar AE, Villa Nova NA, Marcos ZZ, Cervellini A (1966). **Determinação da umidade do solo pelo método das pesagens**. Anais Da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 23:15–30.

Kolchinski EM, Schuch LOB, Peske ST (2006). Crescimento inicial de soja em função do vigor das sementes. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 2, p. 163-166.

Korndörfer GH, Pereira HS, Nolla A (2004). **Análise de silício no solo, planta e fertilizantes** (2nd ed.). UFU.

Kulikova AL, Kuznetsova NA, Kholodova VP (2011). Effect of copper excess in environment on soybean root viability and morphology. **Russ J Plant Physiol** 58, 836 <https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1134/S102144371105013X>

Kulikova AL, Kuznetsova NA, Burmistrova NA (2015). Change in growth and physiological parameters in soybean seedlings in response to toxic action of copper. **Russian Journal of Plant Physiology**, 62(4), 455-464. <https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1134/S1021443715040111>

Lau E, Carvalho LB, Pereira AES, Montanha GS, Correa CG, Carvalho HWP, Ganin AY, Fraceto LF, Yiu HHP (2020). Localization of coated iron oxide (Fe_3O_4) nanoparticles on tomato seeds and their effects on growth. **ACS Appl Bio Mater** 3:4109–4117. <https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1021/acsabm.0c00216>

Lemes E, Mendonça A, Dias L, Brunet A, Oliveira S, Fin S, Meneghello G (2017). Tratamento de sementes de soja com zinco: efeito na qualidade fisiológica e produtividade. In: **Colloquium Agrariae**. ISSN: 1809-8215. p. 76-86.

Liang Y, Nikolic M, Bélanger R, Gong H, Song A (2015). **Silicon in Agriculture**. Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-9978-2>

Liu C, Yu Y, Liu H, Xin H (2021). Effect of different copper oxide particles on cell division and related genes of soybean roots. **Plant Physiology and Biochemistry**, 163:205–214. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.03.051>

Luchese AV, Junior ACG, Luchese EB, Braccini MCI (2004). Emergência e absorção de cobre por plantas de milho (*Zea mays*) em resposta ao tratamento de sementes com cobre. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.6, p.1949-1952.

Ma, JF (2004). Role of silicon in enhancing the resistance of plants to biotic and abiotic stresses. **Soil science and plant nutrition**, 50(1), 11-18. <https://doi.org/10.1080/00380768.2004.10408447>

Ma JF, Yamaji N (2006). Silicon uptake and accumulation in higher plants. **Trends Plant Sci.**11, p. 392–397. doi: 10.1016/j.tplants.2006.06.007.

Ma JF, Yamaji N (2008). Functions and transport of silicon in plants. **In Cellular and Molecular Life Sciences** 65 (19):3049–3057. <https://doi.org/10.1007/s00018-008-7580-x>

Majda C, Khalid D, Aziz A, Rachid B, Badr AS, Lotfi A, Mohamed B (2019). Nutri-priming as an efficient means to improve the agronomic performance of molybdenum in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Sci Total Environ** 661:654–663. <https://doi.org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.scitotenv.2019.01.188>

Malavolta E, Vitti GC, Oliveira SA (1997). **Avaliação do Estado Nutricional das Plantas - Princípios e Aplicações** (2nd ed.). Potáfos.

Marschner H (1995). **Mineral nutrition of higher plants** (2nd ed.). Elsevier.

Meena V, Dotaniya M, Coumar V, Rajendiran S, Kundu S, Rao AS (2014). A case for silicon fertilization to improve crop yields in tropical soils. **Proc. Natl. Acad. Sci., Sect. B: Biol. Sci.** 84, p.505–518. <https://doi.org/10.1007/s40011-013-0270-y>

Meharg AA (1994). Integrated tolerance mechanisms-constitutive and adaptive plant-responses to elevated metal concentrations in the environment. **Plant Cell Environ.** 17:989-993.

Montanha GS, Dias MAN, Corrêa CG, de Carvalho HWP (2021). Unfolding the fate and effects of micronutrients supplied to soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) and maize (*Zea mays* L.) through seed treatment. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition.** <https://doi.org/10.1007/s42729-021-00598-7>

Montanha GS, Rodrigues ES, Marques JPR, et al (2020). Zinc nanocoated seeds: an alternative to boost soybean seed germination and seedling development. **SN Appl. Sci.** 2, 857 <https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1007/s42452-020-2630-6>

Nair PMG, Chung IM (2014). A Mechanistic Study on the Toxic Effect of Copper Oxide Nanoparticles in Soybean (*Glycine max* L.) Root Development and Lignification of Root Cells. **Biol Trace Elem Res** 162, 342–352. <https://doi.org/10.1007/s12011-014-0106-5>

Nciizah AD, Rapetsoa MC, Wakindiki II, Zerizghy MG (2020). Micronutrient seed priming improves maize (*Zea mays*) early seedling growth in a micronutrient deficient soil. **Heliyon**, v. 6, n. 8, p. 04766.

Nelwamondo A, Dakora FD (1999). Silicon promotes nodule formation and nodule function in symbiotic cowpea (*Vigna unguiculata*). **New Phytologist** 142(3):463–467. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1999.00409.x>

Oliveira S, Lemes ES, Tavares LC (2013). Tratamento de sementes: Ferramenta promissora e eficiente para o agricultor. **Seed News**, Pelotas. Ano. XVII, n. 2.

Oliveira SESL, Mendonça AO, Ritter R, MENEGHELLO GE (2014). Efeitos da aplicação de silício via sementes na produtividade e na qualidade de sementes de soja. **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer -v.10, n.19.

Parducci, S. Santos OS, Camargo RP, Leão RMA, Batista RB (1989). Micronutrientes Biocrop. Campinas: **Microquímica**, 101p.

Pavlovic J, Samardzic J, Maksimovi V, Timotijevic G, Stevic N, Laursen KH, Hansen TH, Husted S, Schjoerring JK, Liang Y, Nikolic M (2013). Silicon alleviates iron deficiency in cucumber by promoting mobilization of iron in the root apoplast. **New Phytologist** 198:1096–1107. <https://doi.org/10.1111/nph.12213>

Pereira AES, Oliveira HC, Fraceto LF, Santaella C (2021). Nanotechnology potential in seed priming for sustainable agriculture. **Nanomaterials-Basel** 11:267. <https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.3390/nano11020267>

Pessoa ACS, Luchese EB, Luchese AV (2000). Germinação e desenvolvimento inicial de plantas de milho, em resposta ao tratamento de sementes com boro. **R Bras Ci Solo**, Viçosa, v.24, n.4, p.939-945.

Prado R. de Mello (2021). **Mineral nutrition of tropical plants** (1st ed.). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-71262-4>

Putra R, Waterman JM, Mathesius U, Wojtalewicz D, Powell JR, Hartley SE, Johnson S N (2022). Benefits of silicon-enhanced root nodulation in a model legume are contingent upon rhizobial efficacy. **Plant and Soil**. <https://doi.org/10.1007/s11104-022-05358-9>

Raij B, Andrade J, Cantarella H, Quaggio J (2001). **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. IAC.

Raven J A (1983). The transport and function of silicon in plants. **Biol Rev Camb Philos.** p. 179–207.

Ribeiro ND, Santos OS (1996). Aproveitamento do zinco aplicado na semente na nutrição da planta. **Ciência Rural**, v.26, n.1, p.159-165.

Rogalla H, Römheld V (2002). Role of leaf apoplast in silicon-mediated manganese tolerance of *Cucumis sativus* L. **Plant, Cell & Environment** 25(4):549–555. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00835.x>

Sahebi M, Hanafi M M, Siti Nor Akmar A, Rafii MY, Azizi P, Tengoua FF, ... & Shabanimofrad M (2015). Importance of Silicon and Mechanisms of Biosilica Formation in Plants. **BioMed Research International**, p. 1–16. <https://doi.org/10.1155/2015/396010>

Savassa SM, Duran NM, Rodrigues ES, de Almeida E, van Gestel CAM, Bompadre TFV, de Carvalho HWP (2018). Effects of ZnO nanoparticles on *Phaseolus vulgaris* germination and seedling development determined by X-ray spectroscopy. **ACS Appl Nano Mater** 1:6414–6426. [https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1021/acsanm.8b01619](https://doi.org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1021/acsanm.8b01619)

Sánchez-Pardo B, Fernández-Pascual M, Zornoza P (2012). Copper microlocalisation, ultrastructural alterations and antioxidant responses in the nodules of white lupin and soybean plants grown under conditions of copper excess. **Environmental and Experimental Botany**, 84, 52-60. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.04.017>

Santos HG, Jacomine PKT, Anjos LHC, Oliveira VA, Lumbrales JF, Coelho M, Almeida JA, Araújo Filho JC, Oliveira JB, Cunha TJF (2018). **Brazilian Soil Classification System** (2ª). Embrapa Soils.

Scott J, Blair G (1988). Phosphorus seed coatings for pasture species. I. Effect of source and rate of phosphorus on emergence and early growth of phalaris (*Phalaris aquatica* L.) and lucerne (*Medicago sativa* L.). **Australian Journal of Agricultural Research** 39(3): 437. <https://doi.org/10.1071/AR9880437>

Schwalbert R, Silva LO, Schwalbert RA, Tarouco CP, Fernandes GS, Marques AC, Nicoloso FT (2019). Physiological responses of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) cultivars to copper excess. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 91. <https://doi.org/10.1590/0001-3795201920190121>

Sepadi PM, Mokwala PW, Nikolova RV, Du Plessis HJ, Nukeri F (2015). The effects of elevated copper and zinc concentrations on hydroponically cultivated soybean (*Glycine max* [L Merr]) at the vegetative growth stage. **South African Journal of Botany**, (98), 200. <https://doi-org.ez87.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.sajb.2015.03.117>Getr

Sharma P, Jha AB, Dubey RS, Pessarakli M (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany** 1–26. <https://doi.org/10.1155/2012/217037>

Shen X, Xiao X, Dong Z, Chen Y (2014). Silicon effects on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of peanut under aluminum stress. **Acta Physiologiae Plantarum** 36(11):3063–3069. <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1676-8>

Shi Q, Bao Z, Zhu Z, He Y, Qian Q, Yu J (2005). Silicon-mediated alleviation of Mn toxicity in *Cucumis sativus* in relation to activities of superoxide dismutase and ascorbate peroxidase. **Phytochemistry** 66(13):1551–1559. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2005.05.006>

Silva MLDS, Vitti GC, Trevizam A R (2014). Heavy metal toxicity in rice and soybean plants cultivated in contaminated soil. **Revista Ceres**, 61, 248-254. <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2014000200013>

Šimková L. et al (2018). The Effect of Silicon on the Activity and Isozymes Pattern of Antioxidative Enzymes of Young Maize Roots under Zinc Stress. **Silicon**, v. 10, n. 6, p. 2907–2910.

Sommer M, Kaczorek D, Kuzyakov Y, Breuerl J (2006). Silicon pools and fluxes in soils and landscapes - a review. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science**, v. 169, n. 3, p. 310–329. <https://doi.org/10.1002/jpln.200521981>

Souza FHD. de, Marcos-Filho J (2001). The seed coat as a modulator of seed-environment relationships in Fabaceae. **Revista Brasileira de Botânica** 24(4):365–375. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042001000400002>

Steiner F, Zuffo AM, Bush A, Santos DM da S (2018). Silicate fertilization potentiates the nodule formation and symbiotic nitrogen fixation in soybean. **Pesquisa Agropecuaria Tropical** 48(3):212–221. <https://doi.org/10.1590/1983-40632018v4851472>

Taiz L, Zeiger E, Møller IM, Murphy A (2017). **Fisiologia e desenvolvimento vegetal** (6ª). Artmed.

Teixeira GCM, de Mello Prado R, Rocha AMS, de Cássia Piccolo M (2020). Root- and foliar-applied silicon modifies C: N: P ratio and increases the nutritional efficiency of pre-sprouted sugarcane seedlings under water deficit. **Plos One** 15(10):e0240847. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0240847>

Teixeira GCM, Prado RDM, Rocha AMS, Silva JLFD, Lata-Tenesaca LF, Dias MAN (2022). The adequate dose of Mo required for soybean seed treatment is low when associated with Cu, Mn, and Zn compared to its association with Co and Ni, although increasing the risk of toxicity. **Journal of Plant Nutrition**, 1-15. <https://doi.org/10.1080/01904167.2022.2092510>

Wang L, Ning C, Pan T, Cai K (2022). Role of Silica Nanoparticles in Abiotic and Biotic Stress Tolerance in Plants: A Review. **International Journal of Molecular Sciences** 23(4):1947. <https://doi.org/10.3390/IJMS23041947>

Wu JW, Shi Y, Zhu YX, Wang YC, Gong HJ (2013). Mechanisms of enhanced heavy metal tolerance in plants by silicon: A review. **Pedosphere** 23(6):815–825. **Soil Science Society of China**. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(13\)60073-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(13)60073-9)

Yang JL, Zhang GL (2018). Silicon cycling by plant and its effects on soil Si translocation in a typical subtropical area. **Geoderma**, v. 310, p.89–98.

Yruela, I. (2005). Copper in plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, 17, 145-156. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202005000100012>

Yruela I (2013). Transition metals in plant photosynthesis. **Metallomics** 5(9):1090–1109. <https://doi.org/10.1039/c3mt00086a>

Yusefi-Tanha E, Fallah S, Rostamnejadi A, Pokhrel LR (2020). Particle size and concentration dependent toxicity of copper oxide nanoparticles (CuONPs) on seed yield and antioxidant defense system in soil grown soybean (*Glycine max* cv. Kowsar). **Science of the Total Environment** 715. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136994>

Van Assche F, Clijsters H (1990). Effects of metals on enzyme activity in plants. **Plant Cell Environ.** 13:195-206

Xiao Y, Ma J, Xian J, Peijnenburg WJ, Du Y, Tian D, Tu L (2022). Copper accumulation and physiological markers of soybean (*Glycine max*) grown in agricultural soil amended with copper nanoparticles. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, 229, 113088. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.113088>

Zengin FK, Munzuroglu O (2005). Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica** 47(2):157–164. <https://www.researchgate.net/publication/255618030>