

Aspectos microscópicos da interação feijoeiro-*Colletotrichum lindemuthianum* mediados pelo silício

Maria Fernanda Antunes Cruz; Leonardo Araujo; Leonora Rodriguez Polanco; Fabrício de Ávila Rodrigues (*)

Universidade Federal de Viçosa (UFV), Departamento de Fitopatologia, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, 36570-900 Viçosa (MG), Brasil.
(*) Autor correspondente: fabricio@ufv.br

Recebido: 6/maio/2014; Aceito: 27/jun./2014

Resumo

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum*, é uma das doenças mais destrutivas que afetam a cultura do feijoeiro. Com o objetivo de encontrar alternativas para o controle dessa doença, o presente trabalho investigou, em nível microscópico, o efeito do silício (Si) na resistência do feijoeiro à infecção por *C. lindemuthianum*. Plantas de feijoeiro (cv. Pérola) foram cultivadas em solução nutritiva contendo 0 (-Si) ou 2 mM (+Si) de Si e inoculadas no estágio de crescimento V4 com uma suspensão de conídios de *C. lindemuthianum*. A severidade da antracnose decresceu cerca de 52% nas folhas das plantas supridas com Si (4,4%) em relação às folhas das plantas não supridas (8,5%). Observações de folhas de feijoeiro das plantas não supridas com Si no microscópio eletrônico de varredura revelaram alterações morfológicas nas nervuras em contraste com as folhas de plantas supridas com Si. Utilizando-se a microanálise de raios-X, verificou-se maior concentração dos minerais enxofre, potássio e Si nas folhas das plantas supridas com Si. Em conclusão, o suprimento de Si em plantas de feijoeiro foi importante para reduzir os sintomas da antracnose.

Palavras-chave: *Colletotrichum lindemuthianum*, *Phaseolus vulgaris* L., microscopia eletrônica de varredura, microanálise de raios-X, nutrição mineral.

Microscopic aspects of the interaction bean-*Colletotrichum lindemuthianum* mediated by silicon

Abstract

The anthracnose, caused by the fungus *Colletotrichum lindemuthianum*, is one of the most destructive diseases affecting bean crop. With the objective to find alternative to the control this disease, this study investigated, at the microscopic level, the effect of silicon (Si) on bean resistance to infection by *C. lindemuthianum*. Bean plants (cv. 'Pérola') were grown in nutrient solution containing 0 (-Si) or 2 mM (+ Si) of Si and inoculated in the V4 growth stage with a suspension of conidia of *C. lindemuthianum*. The disease severity decreased by 52% in the leaves of plants supplied with Si (4.4%) in relation to the leaves of non supplied plants (8.5%). Observations of bean leaves of plants not supplied with Si by scanning electron microscopy revealed morphological changes in the veins in contrast with the leaves of plants supplied with Si. By using the X-ray microanalysis, it was found higher concentrations of the minerals sulfur, potassium and Si in the leaves of plants supplied with Si. In conclusion, the supply of Si in bean plants was important to reduce the symptoms of anthracnose.

Key words: *Colletotrichum lindemuthianum*, *Phaseolus vulgaris* L., scanning electron microscopy, X-ray microanalysis, mineral nutrition.

1. INTRODUÇÃO

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Scrib., é uma das doenças mais destrutivas que afetam a cultura do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em regiões tropicais e subtropicais da América Latina e África Central e Oriental (Pastor-Corrales, 1985). Em tais áreas, perdas na produção podem atingir 100% quando são utilizadas sementes infectadas com o patógeno ou cultivares suscetíveis sob

condições ambientais favoráveis ao progresso das epidemias dessa doença (Peloso, 1992).

O fungo *C. lindemuthianum* é capaz de infectar folhas, caule, ramos, vagens e sementes de plantas de feijoeiro em todos os estágios de desenvolvimento (Hall, 1991). Plantas jovens geralmente são mais suscetíveis à infecção pelo patógeno do que as plantas adultas por possuírem tecidos menos lignificados (Hall, 1991). Nas plântulas,

os sintomas da antracnose são lesões escuras nos cotilédones e no hipocótilo (Hall, 1991). Em plantas adultas, as lesões ocorrem com maior frequência nos pecíolos e nas nervuras (Hall, 1991). Tais regiões apresentam manchas de coloração marrom-escuro ou pardas que atingem inicialmente as nervuras principais, chegando às secundárias à medida que a doença progride (Hall, 1991). Nas vagens, as lesões são arredondadas, deprimidas, de tamanho variável e com o centro claro, sendo delimitadas por um anel negro, saliente, com borda marrom-avermelhada (Hall, 1991). Quando as condições de umidade e temperatura são favoráveis, uma massa de conídios de coloração rosada é formada no centro das lesões (Pria et al., 1999).

O uso de cultivares resistentes é considerado a opção mais viável para o controle da antracnose (Singh et al., 1992; Vidigal et al., 2007; Vieira, 1988). No entanto, a existência de várias raças fisiológicas do patógeno representa um obstáculo para a obtenção de novas cultivares de feijoeiro resistentes à antracnose (Rava et al., 1993). A aplicação de fungicidas também é uma medida de controle bastante utilizada pelos agricultores, mesmo levando em consideração o impacto negativo ao ambiente e a possibilidade do fungo desenvolver resistência aos defensivos agrícolas devido à alta variabilidade genética do *C. lindemuthianum* (Rava et al., 1993; Vidigal et al., 2007). Diante dessas preocupações, faz-se necessário encontrar métodos alternativos de controle da antracnose para diminuir as perdas ocasionadas por essa doença na cultura do feijoeiro. O silício (Si), apesar de não ser considerado um nutriente essencial às plantas, destaca-se por reduzir a intensidade de doenças importantes em várias culturas, principalmente gramíneas e algumas dicotiledôneas como café, pepino e soja (Cruz et al., 2012; 2013; Datnoff et al., 2007; Domiciano et al., 2013; Rodrigues et al., 2003; 2005; Sousa et al., 2013). Na interação arroz-*Pyricularia grisea*, o aumento na resistência das plantas pela aplicação de Si foi associado com um aumento na densidade de células silicatadas na epiderme foliar ou à formação de uma espessa camada de sílica abaixo da cutícula, formando uma barreira física que impediu ou atrasou a penetração do fungo (Kim et al., 2004). Dentre os mecanismos fisiológicos e/ou bioquímicos potencializados pelo Si, tem-se constatado um aumento na concentração de compostos fenólicos e fitoalexinas e maior atividade de enzimas de defesa como quitinases e β -1,3-glucanases e a rápida e intensa transcrição de genes associados com a resistência da planta (Liang et al., 2006; Rodrigues et al., 2003; 2005).

Plantas supridas com Si, e infectadas por diferentes patógenos geralmente respondem de forma mais rápida e intensa à infecção através do acúmulo de compostos fenólicos (Chérif et al., 1992; Menzies et al., 1992). Ao contrário da barreira física formada por células silicatadas, o acúmulo dos fenóis nos tecidos exerce um efeito tóxico, impedindo o ingresso do patógeno no sistema vascular (Chérif et al.,

1992). Em outro estudo, Chérif et al. (1994) observaram aumento na atividade das enzimas quitinases, peroxidases e polifenoloxidasas nas raízes de plantas de pepino supridas com Si e inoculadas com *Pythium ultimum*, ao contrário do que foi observado em plantas não supridas com Si. No patossistema feijoeiro-*C. lindemuthianum*, o Si reduziu a área abaixo da curva do progresso da incidência e severidade da antracnose (Moraes et al., 2006). De acordo com Polanco et al. (2012), plantas de feijão supridas com Si apresentaram um aumento de 55% no período de incubação e diminuição significativa de 32% na área abaixo da curva de progresso da doença em relação às plantas não supridas com Si. O aumento na concentração de lignina assim como a maior atividade de fenilalanina-amoníase e lipoxigenase foram importantes para a resistência de plantas supridas com Si em resposta à infecção por *C. lindemuthianum* (Polanco et al., 2012). Apesar desses resultados promissores, é desconhecido como as plantas de feijoeiro supridas com Si respondem à infecção por *C. lindemuthianum* em nível microscópico. Assim, este trabalho teve como objetivo investigar microscopicamente o efeito do Si na resistência do feijoeiro à infecção por *C. lindemuthianum*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Preparação da solução nutritiva

A solução nutritiva utilizada para o crescimento das plantas de feijoeiro, constituída de: 3 mM KNO_3 ; 2 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0,5 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,25 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,5 mM $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$; 12,5 μM H_3BO_3 ; 1 μM $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,25 μM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 0,25 μM $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0,25 μM $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 25 μM $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e 25 μM EDTA bisódico, foi preparada de acordo com Liao et al. (2004). O Si, fornecido como ácido monossilícico foi obtido pela passagem do silicato de potássio através da resina de troca de cátions (Amberlite IR-120B, H⁺ forma, Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) (Ma et al., 2002). As concentrações de Si utilizadas foram de 0 e 2 mM.

Crescimento das plantas e aplicação dos tratamentos

Sementes de feijoeiro (cv. Pérola) foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 10% (vol/vol), posteriormente lavadas em água estéril por 2 min e germinadas em papel filtro embebido com água estéril por dois dias a 25 °C. As plântulas foram mantidas por dois dias em solução nutritiva meia força iônica sem adição de Si. Após esse período, as plântulas foram transferidas para novos vasos plásticos contendo 5 L de solução nutritiva com ou sem a

presença de Si, sob aeração, até o final do experimento. A solução nutritiva foi trocada a cada quatro dias ou quando a condutividade elétrica atingiu 85% do valor inicial. O pH da solução nutritiva foi verificado diariamente e mantido a 5,5 empregando-se soluções de NaOH ou HCl (1 M), quando necessário.

Procedimento de inoculação

O isolado C15 da raça 81 de *C. lindemuthianum* utilizado para inocular as plantas foi preservado em tiras de papel de filtro dentro de tubos de vidro contendo sílica gel a 4 °C. Pedacinhos de papel filtro contendo micélio do fungo foram transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA). Para a produção do inóculo, pedacinhos de meio BDA (5 mm de diâmetro) contendo micélio do fungo foram colocados na superfície de vagens de feijoeiro esterilizadas cujas bases foram inseridas em meio ágar-água a 3% (vol/vol) contido em tubos de ensaio (Pastor-Corrales, 1985). Esses tubos foram armazenados em câmara de crescimento a 25 °C com fotoperíodo de 12 h luz/12 h escuro por 10 dias. Após o crescimento micelial e a produção de acérvulos contendo conídios, adicionou-se água destilada aos tubos para se obter a suspensão de conídios. A suspensão foi filtrada em gaze dupla e ajustada para a concentração de $1,2 \times 10^6$ conídios mL⁻¹ em hemacitômetro.

Plantas de feijoeiro no estágio de crescimento V4 (Vieira, 1998) foram inoculadas com a suspensão de conídios, em ambas as faces das folhas, utilizando-se atomizador De Vilbiss n. 15. Gelatina a 1% (peso/vol) foi adicionada à água estéril utilizada para preparar a suspensão de conídios para auxiliar a adesão dos conídios às folhas. Imediatamente após a inoculação, as plantas foram transferidas para câmara de nevoeiro a 20 ± 2 °C com umidade relativa de 90% e fotoperíodo de 12 h luz/12 h escuro por 24 horas. Após esse período, as plantas foram mantidas em câmara de crescimento com temperatura de 21 ± 2 °C, umidade relativa de $95\% \pm 2\%$ e fotoperíodo de 225 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fornecido por lâmpadas fluorescentes brancas. As plantas foram mantidas nessa câmara até o término dos experimentos.

Avaliação da severidade da antracnose e determinação da concentração foliar de Si

Os folíolos da terceira folha de 36 plantas de cada tratamento foram selecionados para avaliar a severidade da antracnose às 96 horas após inoculação (hai) de acordo com a escala diagramática proposta por Godoy et al. (1997). Para a determinação da concentração foliar de Si, após o término dos experimentos, as folhas das plantas das repetições de cada tratamento foram coletadas, lavadas em água deionizada e secas a 65 °C durante 72 horas. Posteriormente, as folhas foram moídas em moinho tipo Thomas-Wiley com peneira

de 40 mesh. A concentração foliar de Si foi determinada por análise colorimétrica da digestão alcalina de 0,1 g de tecido foliar seco (Korndörfer et al., 2004).

Microscopia eletrônica de varredura e microanálise de raios-X em tecidos foliares

Amostras dos folíolos da terceira folha de 36 plantas ($\approx 5 \text{ cm}^2$) foram coletadas às 96 hai e processadas de acordo com Araujo et al. (2014) para microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de raios-X por dispersão em energia (EDS). As amostras foram mantidas em solução de fixativo composto de glutaraldeído 2,5% (v/v) preparado em tampão cacodilato de sódio (0,05 M, pH 7,2) por 7 dias em geladeira a 4 °C. Após essa etapa, o fixativo foi removido, os espécimes foram lavados em tampão cacodilato de sódio (por 15 min, três vezes), pós-fixados em tetróxido de ósmio 0,5% em água por 1 hora e lavados duas vezes por 15 min em água destilada. Em seguida, os espécimes foram desidratados em gradiente de etanol (30%, 50%, 70%, 80%, 95% e 100%, duas vezes, por 15 min cada). Após a desidratação, os espécimes foram submetidos à secagem ao ponto crítico no aparelho Critical Point Dryer (Bal-Tec, Modelo CPD030), montados em stubs e recobertos com um filme de ouro paládio (60 nm) por meio de pulverização catódica. Para a microanálise de raios-X, as amostras foram recobertas com uma fina camada de carbono (Quorum Q150 T, East Grinstead, West Sussex, Inglaterra, UK). Ao final dessa etapa, os espécimes foram observados no MEV (LEO modelo VP1430), o qual foi operado entre 15-20 kV para obtenção das eletromicrografias. Os elementos silício (Si), potássio (K), cálcio (Ca), enxofre (S), ferro (Fe), magnésio (Mg) e manganês (Mn) foram detectados por EDS (Tracor TN5502, Middleton, WI, USA) associado ao MEV. Para cada tratamento, três stubs com quatro amostras de tecido foliar foram examinados no MEV e um total de dez imagens foram obtidas a partir de cada amostra.

Delineamento experimental e análises estatísticas

Dois experimentos foram instalados em delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos [ausência (-Si) ou presença (+Si) de Si na solução nutritiva] e 12 repetições para avaliação da severidade da antracnose e da concentração foliar de Si. Os dados dos dois experimentos foram combinados após determinação da homogeneidade de variância pelo teste de Cochran (Gomez e Gomez, 1984). Cada unidade experimental correspondeu a um vaso plástico contendo 5 L de solução nutritiva e três plantas de feijoeiro.

3. RESULTADOS

Concentração de Si foliar e severidade da antracnose

A concentração foliar de Si foi significativamente maior para as plantas supridas com Si (1,25 dag/kg) em relação às plantas não supridas com Si (0,42 dag/kg). A severidade da antracnose decresceu cerca de 52% nas folhas das plantas supridas com Si (4,4%) em relação às folhas das plantas não supridas (8,5%).

Microscopia eletrônica de varredura

Pelas eletromicrografias de varredura foi possível observar alterações morfológicas (destruição do tecido vascular resultando em perda de conformação) nas nervuras das folhas das plantas não supridas com Si em comparação com as nervuras das plantas supridas com Si, as quais se mostraram menos danificadas (Figura 1).

Microanálise de raios-X

Pela microanálise de raios-X verificou-se maior concentração dos elementos Si, K e S nas folhas das plantas supridas com Si em relação às folhas das plantas não supridas com esse elemento (Tabela 1). Houve um aumento de 114% na concentração de Si nas folhas das plantas supridas com esse elemento (Tabela 1). Níveis elevados de deposição de Si, K e S foram observados próximo das nervuras das folhas das plantas supridas com Si em comparação com as folhas das plantas não supridas com esse elemento (Figuras 2 e 3).

4. DISCUSSÃO

O presente trabalho apresenta as primeiras evidências, em nível microscópico, de que a resistência do feijoeiro à antracnose é potencializada pelo silício. É reconhecida a importância do Si na redução da intensidade de várias doenças em importantes culturas comerciais (Cruz et al., 2012; 2013; Datnoff et al., 2007; Domiciano et al., 2013;

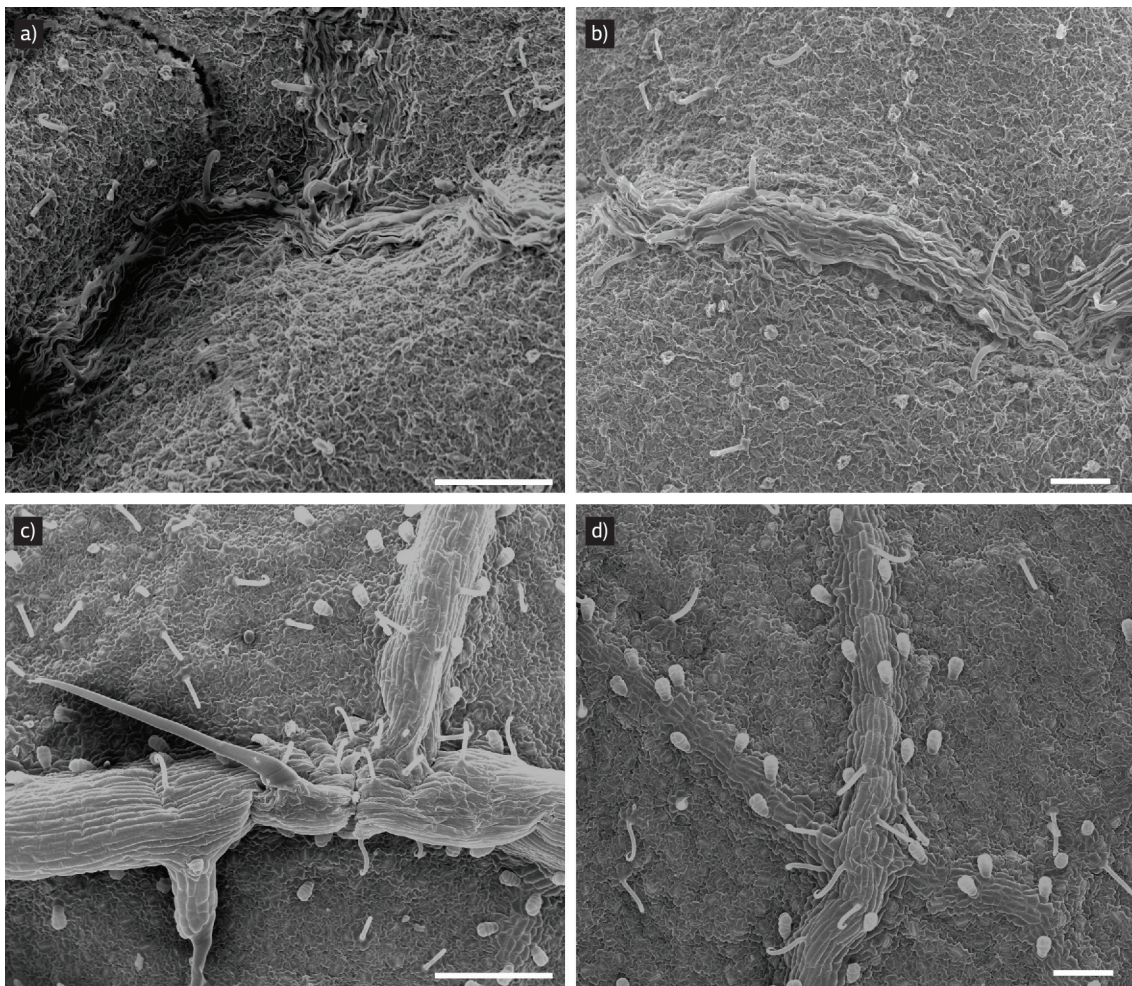


Figura 1. Eletromicrografias de varredura de folhas de plantas de feijoeiro cultivadas em solução nutritiva na ausência (a e b) ou presença (c e d) de silício às 96 horas após inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum*; barras a e c = 200 μ m; b e d = 100 μ m.

Sousa et al., 2013). De acordo com Polanco et al. (2012), uma maior concentração de Si nas folhas de plantas de feijoeiro supridas com Si reduziu a área abaixo da curva do progresso da antracnose e contribuiu para o aumento do período de incubação. Dados similares foram encontrados em outras dicotiledôneas, por exemplo, no patossistema soja-*Phakopsora pachyrhizi* (Lemes et al., 2011). Lemes et al. (2011) verificaram aumento no período de incubação e redução na

área abaixo da curva de progresso da ferrugem asiática em plantas supridas com silício em comparação a plantas não supridas com esse elemento. Curvêlo et al. (2013) verificaram aumento no período de incubação e no período latente da ramulose em folhas de plantas de algodoeiro das cultivares NuOpal e BRS Buriti supridas com Si. No presente estudo, a maior concentração foliar de Si contribuiu para reduzir a severidade da antracnose em plantas de feijoeiro supridas com este elemento, de forma semelhante ao que ocorre em outros patossistemas (Datnoff et al., 2007).

Tabela 1. Concentração mineral (Intensidade; c/s) de silício (Si), potássio (K), cálcio (Ca), enxofre (S), ferro (Fe), magnésio (Mg) e manganês (Mn) em amostras de folhas de plantas de feijoeiro cultivadas em solução nutritiva na ausência (-Si) ou presença (+Si) de silício (Si) às 96 horas após inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum* utilizando-se a técnica de microanálise de raios-X

Minerais	Tratamentos	
	-Si	+Si
Si	4,380	9,393
K	56,032	59,833
Ca	29,553	20,232
S	3,109	4,107
Fe	0,441	0,350
Mg	6,088	5,950
Mn	0,398	0,136

Nas eletromicrografias de varredura foi possível observar deformação das nervuras principais nas folhas das plantas não supridas com Si enquanto que nas folhas das plantas supridas com Si as nervuras foram menos danificadas pela colonização por *C. lindemuthianum*. Durante o progresso da antracnose, ocorre inicialmente necrose da nervura principal, seguida de murcha dos folíolos devido à grande quantidade de hifas do fungo no interior dos vasos do xilema (Godoy et al., 1997). O fungo *C. lindemuthianum* produz enzimas líticas que degradam a parede celular do feijoeiro e toxinas não seletivas que danificam ainda mais as células do tecido foliar do hospedeiro, principalmente as nervuras (Bailey et al., 1992; O'Connell et al., 1985). No presente

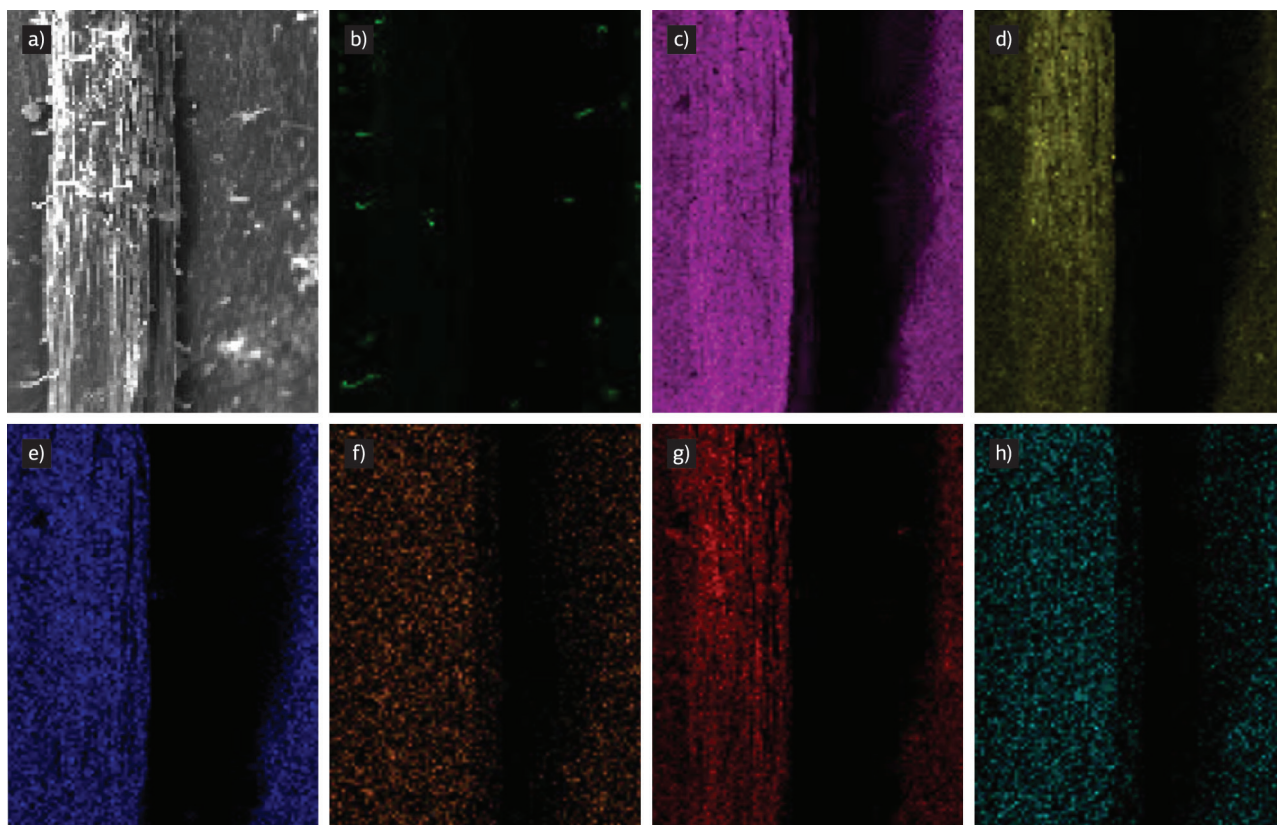


Figura 2. Eletromicrografia de varredura (a) e mapas de deposição dos minerais silício (b; Si), potássio (c; K), cálcio (d; Ca), enxofre (e; S), ferro (f; Fe), magnésio (g; Mg) e manganês (h; Mn) em amostras de folhas de plantas de feijoeiro cultivadas em solução nutritiva na ausência de Si às 96 horas após inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum* utilizando-se a técnica de microanálise de raios-X; Nos mapas de raios-X, pontos fluorescentes de coloração verde, púrpura, amarelo, azul escuro, salmão, vermelho e azul-claro correspondem à acumulação de Si, K, Ca, S, Fe, Mg e Mn, respectivamente, nas folhas de plantas de feijoeiro; o preto indica a ausência dos elementos no tecido foliar.

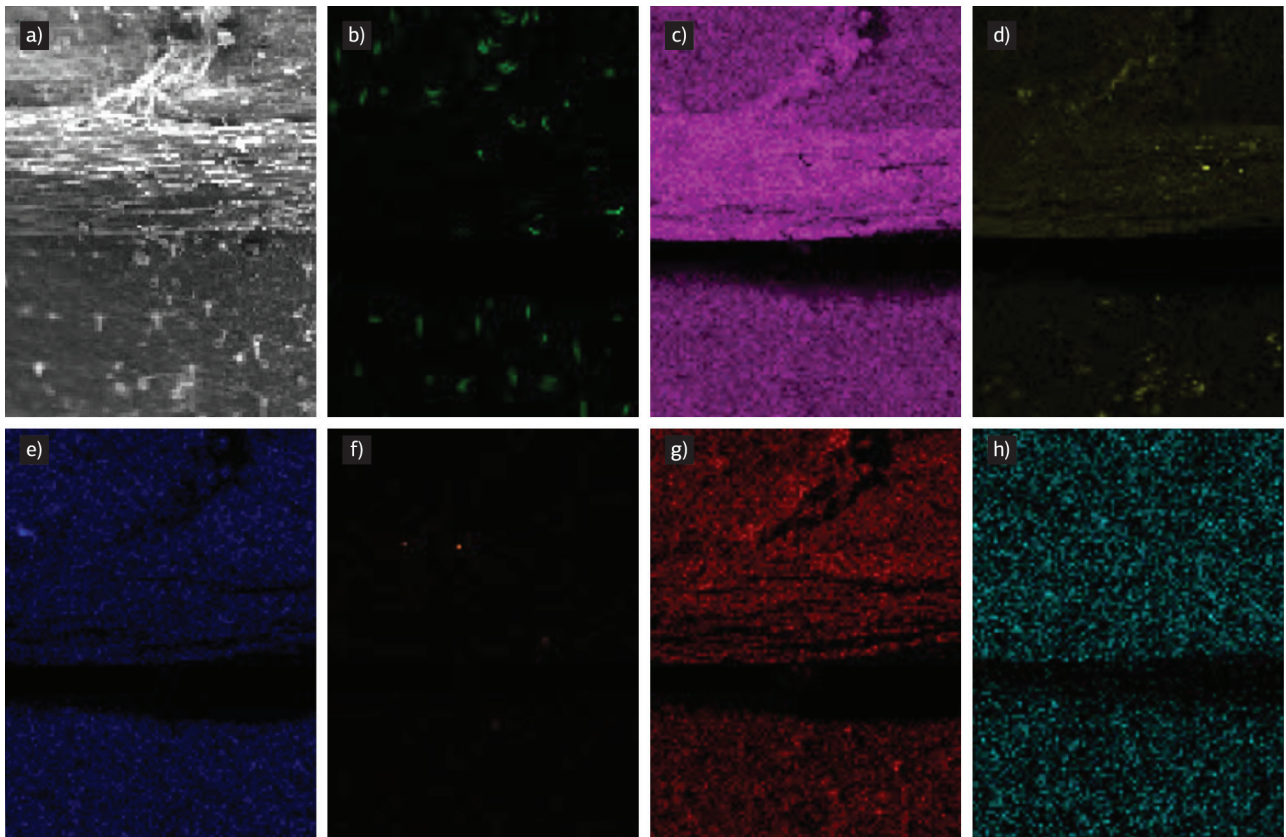


Figura 3. Eletromicrografia de varredura (a) e mapas de deposição dos minerais silício (b; Si), potássio (c; K), cálcio (d; Ca), enxofre (e; S), ferro (f; Fe), magnésio (g; Mg) e manganês (h; Mn) em amostras de folhas de plantas de feijoeiro cultivadas em solução nutritiva na presença de Si às 96 horas após inoculação com *Colletotrichum lindemuthianum* utilizando-se a técnica de microanálise de raios-X; nos mapas de raios-X, pontos fluorescentes de coloração verde, púrpura, amarelo, azul-escuro, salmão, vermelho e azul-claro correspondem à acumulação de Si, K, Ca, S, Fe, Mg e Mn, respectivamente, nas folhas de plantas de feijoeiro; o preto indica a ausência dos elementos no tecido foliar.

estudo, as alterações morfológicas nas nervuras das folhas das plantas não supridas com Si provavelmente comprometeram o transporte de água e nutrientes, o que foi comprovado pelo murchamento precoce dos folíolos dessas plantas. Ao contrário, a barreira física proporcionada pela deposição de Si nas nervuras das folhas das plantas supridas com Si pode ter afetado a penetração e a colonização de *C. lindemuthianum* nos tecidos foliares. Polanco et al. (2012) ressaltaram a importância da lignina e das enzimas fenilalanina-amoníase e lipoxigenase para a maior resistência das plantas supridas com Si à antracnose.

Folhas das plantas de feijoeiro supridas com Si apresentaram altos níveis dos elementos Si, K e S próximo às nervuras. Isa et al. (2010) também encontraram altos níveis de Si, K e S em raízes, caule e folhas de plantas de arroz supridas com Si. Esses autores ainda verificaram que plantas de arroz supridas com Si apresentaram maior desenvolvimento de raízes laterais e aumento na concentração total de minerais (Isa et al., 2010). A concentração de alguns elementos químicos nos tecidos vegetais pode aumentar a resistência à infecção por patógenos (Haneklaus et al., 2007; Prabhu et al., 2007). Maiores concentrações de S

sobre tecidos de caules de cacaueteiro e mangueira foram associados com o aumento da resistência, respectivamente, a *Verticillium dahliae* e a *Ceratocystis fimbriata* (Cooper et al., 1996; Araujo et al., 2014). O S pode diminuir diretamente a intensidade de diversas doenças pela sua ação antimicrobiana ou, indiretamente, pelo aumento da resistência do hospedeiro (Haneklaus et al., 2007). Sugimoto et al. (2009) constataram que plantas de soja supridas com potássio apresentaram sintomas reduzidos de podridão radicular causada por *Phytophthora sojae*. A microanálise de raios-X mostrou acúmulo de K em torno do câmbio, xilema e floema no tecido da haste da soja, tecidos preferencialmente infectados por *P. sojae* (Sugimoto et al., 2009). Embora, ainda não seja bem compreendida a função fisiológica do K para os mecanismos de resistência das plantas às doenças, várias funções têm sido atribuídas a esse elemento, como: alterações na disponibilidade de proteínas ou aminoácidos, diminuição da permeabilidade celular e redução da suscetibilidade do tecido à maceração causada por enzimas líticas e penetração do patógeno através do espessamento da cutícula e paredes celulares (Prabhu et al., 2007). No presente estudo, os altos níveis de S nas folhas das plantas de feijoeiro supridas com

Si podem ser associadas a um possível efeito antimicrobiano contra *C. lindemuthianum*. Além disso, altos níveis de Si e K nas folhas de feijoeiro podem ter contribuído para o fortalecimento das paredes celulares, que prejudicou a colonização por *C. lindemuthianum*, ajudando a explicar, assim, a redução nos sintomas da antracnose nas folhas das plantas supridas com Si.

5. CONCLUSÃO

A maior concentração foliar de Si contribuiu para reduzir os sintomas da antracnose nas nervuras das folhas das plantas supridas com esse elemento. Além disso, a resistência ao fungo *C. lindemuthianum* em plantas de feijoeiro supridas com Si parece estar associada com maiores concentrações foliares de S e K.

AGRADECIMENTOS

F.A. Rodrigues agradece ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pela bolsa de produtividade em pesquisa. Os autores agradecem ao Núcleo de Microscopia e Microanálise da Universidade Federal de Viçosa pela utilização do MEV, EDS e os equipamentos auxiliares.

REFERÊNCIAS

- ARAUJO, L.; BISPO, W.M.S.; CACIQUE, I.S.; MOREIRA, W.R.; RODRIGUES, F.A. Resistance in mango against infection by *Ceratocystis fimbriata*. *Phytopathology*, v.104, p-820-833, 2014.
- BAILEY, J.A.; O'CONNELL, R.J.; NASH, C. Infection strategy of *Colletotrichum lindemuthianum* species. In: BAILEY, J.A.; JEGGER, M.J. (Ed.). *Colletotrichum: biology, pathology and control*. Wallingford: CAB International, 1992. p.88-120.
- CHÉRIFF, M.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R.R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Phytophthora* spp. *Phytopathology*, v.84, p.236-242, 1994. <http://dx.doi.org/10.1094/Phyto-84-236>
- CHÉRIFF, M.; MENZIES, J.; BENHAMOU, N.; BÉLANGER, R.R. Studies of silicon distribution in wounded and *Phytophthora ultimum* infected cucumber plants. *Physiology and Molecular Plant Pathology*, v.41, p.371-385, 1992. [http://dx.doi.org/10.1016/0885-5765\(92\)90022-N](http://dx.doi.org/10.1016/0885-5765(92)90022-N)
- COOPER, R.M.; RESENDE, M.L.V.; FLOOD, J.; ROWAN, M.G.; BEALE, M.H.; POTTER, U. Detection and cellular localization of elemental sulphur in disease resistant genotypes of *Theobroma cacao*. *Nature*, v.379, p.159-162, 1996. <http://dx.doi.org/10.1038/379159a0>
- CRUZ, M.F.A.; RODRIGUES, F.A.; DINIZ, A.P.C.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. Potassium silicate and calcium silicate on the resistance of soybean to *Phakopsora pachyrhizi* infection. *Bragantia*, v.72, p.1-5, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/brag.2013.052>
- CRUZ, M.F.A.; SILVA, L.F.; RODRIGUES, F.A.; ARAUJO, J.M.; BARROS, E.G. Silício no processo infeccioso de *Phakopsora pachyrhizi* em folíolos de plantas de soja. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.47, p.141-145, 2012.
- CURVÊLO, C.R.S.; RODRIGUES, F.A.; SILVA, L.C.; NASCIMENTO, K.J.T.; BERGER, P.G. Mecanismos bioquímicos da defesa do algodoeiro à mancha de ramulária mediados pelo silício. *Bragantia*, v.72, p.41-51, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052013005000017>
- DATNOFF, L.E.; RODRIGUES, F.A.; SEEBOLD, K.W. Silicon and plant disease. In: DATNOFF, L.E.; ELMER, W.H.; HUBER, D.M. (Ed.). *Mineral Nutrition and Plant Disease*. St Paul: APS Press, 2007. p.233-246.
- DOMICIANO, G.P.; RODRIGUES, F.A.; GUERRA, A.M.N.; VALE, F.X.R. Infection process of *Bipolaris sorokiniana* on wheat leaves is affected by silicon. *Tropical Plant Pathology*, v.38, p.258-263, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S1982-56762013005000006>
- GODOY, C.V.; CARNEIRO, S.M.; LAMAUTI, M.T.; PRIA, M.D.; AMORIM, L.; BERGER, R.D.; FILHO, A.B. Diagrammatic scales for bean diseases: development and validation. *Zeitschrift für Pflanzenkrankh. und Pflanzenerk.*, v.104, p.336-345, 1997.
- GOMEZ, K.A.; GOMEZ, A.A. *Statistical Procedures for Agricultural Research*. 2nd ed. New York: John Wiley, 1984. 680p.
- HALL, R. *Compendium of Bean Diseases*. St Paul: The American Phytopathological Society Press, 1991. 71p.
- HANEKLAUS, S.; BLOEM, E.; SCHNUG, E. Sulfur and plant disease. In: DATNOFF, L.E.; ELMER, W.H.; HUBER, D.M. (Ed.). *Mineral nutrition and plant disease*. Saint Paul: APS Press, 2007. p.101-118.
- ISA, M.; BAI, S.; YOKOYAMA, T.; MA, J.F.; ISHIBASHI, Y.; YUASA, T.; IWAYA-INOUE, M. Silicon enhances growth independent of silica deposition in a low-silica rice mutant, *lsi1*. *Plant Soil*, v.331, p.361-375, 2010. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-009-0258-9>
- KIM, S.G.; KIM, K.W.; PARK, E.W.; CHOI, D. Silicon-induced cell wall fortification of rice leaves: a possible cellular mechanism of enhanced host resistance to blast. *Phytopathology*, v.92, p.1095-1103, 2004. PMID:18944220. <http://dx.doi.org/10.1094/PHTO.2002.92.10.1095>
- KORNDÖRFER, G.H.; PEREIRA, H.S.; NOLLA, A. Análise de silício: solo, planta e fertilizante. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia, 2004. 34p. (Boletim Técnico, 2).
- LEMES, E.M.; MACKOWIAK, C.L.; BLOUNT, A.; MAROIS, J.J.; WRIGHT D.L.; COELHO, L.; DATNOFF, L.E. Effects of silicon applications on soybean rust development under greenhouse and field conditions. *Plant Disease*, v.95, p.317-324, 2011. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-07-10-0500>
- LIANG, Y.C.; HUA, H.X.; ZHU, Y.G.; ZHANG, J.; CHENG, C.M.; ROMHELD, V. Importance of plant species and external silicon concentration to active silicon uptake and transport. *New Phytologist*, v.172, p.63-72, 2006. PMID:16945089. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01797.x>

- LIAO, H.; YAN, X.; RUBIO, G.; BEEBE, S.E.; BLAIR, M.W.; LYNCH, J.P. Genetic mapping of basal root acquisition efficiency in common bean. *Functional Plant Biology*, v.31, p.959-970, 2004. <http://dx.doi.org/10.1071/FP03255>
- MA, J.F.; TAMAI, K.; ICHI, M.; WU, G.F. A rice mutant defective in Si uptake. *Plant Physiology*, v.130, p.2111-2117, 2002. PMID:12481095 PMCid:PMC166723. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.010348>
- MENZIES, J.; BOWEN, P.; EHRET, D.L.; GLASS, A.D.M. Foliar application of potassium silicate reduce severity of powdery on cucumber, muskmelon, and zucchini squash. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, v.117, p.902-905, 1992.
- MORAES, S.R.; POZZA, E.A.; ALVES, E.; POZZA, A.A.; CARVALHO, J.C.; LIMA, P.H.; BOTELHO, A.O. Efeito de fontes de silício na incidência e na severidade da antracnose do feijoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, v.31, p.283-291, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582006000100012>
- O'CONNELL, R.J.; BAILEY, J.A.; RICHMOND, D.V. Cytology and physiology of infection *Phaseolus vulgaris* infected by *Colletotrichum lindemuthianum*. *Physiology Plant Pathology*, v.27, p.75-98, 1985. [http://dx.doi.org/10.1016/0048-4059\(85\)90058-X](http://dx.doi.org/10.1016/0048-4059(85)90058-X)
- PASTOR-CORRALES, M. Enfermedades del frijol causadas por hongos. In: LÓPEZ, M.; FERNÁNDEZ, F.; SCHOONHOVEN, A. (Ed.). *FRIJOL: Investigación y Producción*. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1985. p.172-180.
- PELOSO, M.J. Antracnose do feijoeiro no Estado de Minas Gerais, Brasil. In: PASTOR-CORRALES, M.A. (Ed.). *La antracnosis del Frijol Común, Phaseolus vulgaris*, en América Latina Doc. de trabajo 113. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1992. p.86-108.
- POLANCO, L.R.; RODRIGUES, F.A.; NASCIMENTO, K.J.T.; SHULMAN, P.; SILVA, L.C.; NEVES, F.W.; VALE, F.X.R. Biochemical aspects of bean resistance to anthracnose mediated by silicon. *Annals of Applied Biology*, v.161, p.140-150, 2012. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7348.2012.00558.x>
- PRABHU, A.S.; FAGERIA, N.K.; HUBER, D.M.; RODRIGUES, F.A. Potassium and plant disease. In: DATNOFF, L.E.; ELMER, W.H.; HUBER, D.M. (Ed.). *St Paul: APS Press*, 2007. p.57-78. PMID:21124653 PMCid:PMC2980722.
- PRIA, M.D.; SILVA, O.C.; COSTA, J.L.S.; SOUZA, E.D.T.; BERNI, R.F. Diagnose de doenças. In: CANTERI, M.G.; DALLA PRIA, M.; SILVA, O.C. (Ed.). *Principais doenças fúngicas do feijoeiro: orientações para manejo econômico e ecológico*. Ponta Grossa: UEPG, 1999. p.17-34.
- RAVA, C.A.; MOLINA, J.; KAUFFMANN, M.; BRIONES, I. Determinación de razas fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* en Nicaragua. *Fitopatologia Brasileira*, v.18, p.388-391, 1993.
- RODRIGUES, F.A.; BENHAMOU, N.; DATNOFF, L.E.; JONES, J.B.; BÉLANGER, R.R. Ultrastructural and cytochemical aspects of silicon mediated rice blast resistance. *Phytopathology*, v.93, p.535-46, 2003. PMID:18942975. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.5.535>
- RODRIGUES, F.A.; JURICK, W.M.; DATNOFF, L.E.; JONES, J.B.; ROLLINS, J.A. Silicon influences cytological and molecular events in compatible rice-*Magnaporthe grisea* interactions. *Physiology and Molecular Plant Pathology*, vol.66, p.144-159, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pmpp.2005.06.002>
- SINGH, S.P.; PASTOR-CORRALES, M.; MOLINA, A.; OTOYA, M. Breeding common bean for resistance to anthracnose. In: PASTOR-CORRALES, M.A. (Ed.). *La Antracnosis del Frijol Común, Phaseolus vulgaris*, en América Latina. Doc. de trabajo 113. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1992. p.198-211. PMID:1634489.
- SOUSA, R.S.; RODRIGUES, F.A.; SCHURT, D.A.; SOUZA, N.F.A.; CRUZ, M.F.A. Cytological aspects of the infection process of *Pyricularia oryzae* on leaves of wheat plants supplied with silicon. *Tropical Plant Pathology*, v.38, p.472-477, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S1982-56762013000600002>
- SUGIMOTO, T.; WATANABE, K.; FURIKI, M.; WALKER, D.R.; YOSHIDA, S.; AINO, M.; KANTO, T.; IRIE, K. The effect of potassium nitrate on the reduction of phytophthora stem rot disease of soybeans, the growth rate and zoospore release of *Phytophthora sojae*. *Journal of Phytopathology*, v.157, p.379-389, 2009. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0434.2008.01500.x>
- VIDIGAL, F.P.S.; GONÇALVES, V.M.C.; KELLY, J.D.; KIRK, W.W. Sources of resistance to anthracnose in traditional common bean cultivars from Paraná, Brazil. *Journal of Phytopathology*, v.155, p.108-113, 2007. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01203.x>
- VIEIRA, C. *Doenças e pragas do feijoeiro*. 2. ed. Viçosa: Imprensa Universitária, 1988. 231p.