



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA VEGETAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA VEGETAL**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM FISIOLOGIA VEGETAL**

**SILÍCIO POTENCIALIZA AS TAXAS FOTOSSINTÉTICAS MEDIANTE UMA  
MAIOR CONDUTÂNCIA MESOFÍLICA EM FOLHAS DE ARROZ INFECTADAS  
POR *Microdochium oryzae***

Lucas Felisberto Pereira

Fabício Ávila Rodrigues  
**ORIENTADOR**

VIÇOSA, JULHO DE 2015  
MINAS GERAIS – BRASIL

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da  
Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

P436s  
2015  
Pereira, Lucas Felisberto, 1990-  
Silício potencializa as taxas fotossintéticas mediante  
maior condutância mesofílica em folhas de arroz infestadas  
por *Microdochium oryzae* / Lucas Felisberto Pereira. -  
Viçosa, MG, 2015.  
ix, 26f. : il. ; 29 cm.

Inclui apêndice.  
Orientador : Fabrício de Ávila Rodrigues.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de  
Viçosa.  
Referências bibliográficas: f.15-19.

1. Arroz - Doenças e pragas - Aspectos fisiológicos.  
2. *Microdochium oryzae*. 3. Silício. 4. Análise foliar.  
5. Fotossíntese . I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Biologia Vegetal. Programa de  
Pós-graduação em Fisiologia Vegetal. II. Título.

CDD 22. ed. 633.189

LUCAS FELISBERTO PEREIRA

**SILÍCIO POTENCIALIZA AS TAXAS FOTOSSINTÉTICAS  
MEDIANTE UMA MAIOR CONDUTÂNCIA MESOFÍLICA  
EM FOLHAS DE ARROZ INFECTADAS POR *Microdochium  
oryzae***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de Magister Scientiae.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2015

LUCAS FELISBERTO PEREIRA

**SILÍCIO POTENCIALIZA AS TAXAS FOTOSSINTÉTICAS  
MEDIANTE UMA MAIOR CONDUTÂNCIA MESOFÍLICA  
EM FOLHAS DE ARROZ INFECTADAS POR *Microdochium  
oryzae***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de Magister Scientiae.

APROVADA: 27 de Julho de 2015

---

Fábio Murilo DaMatta  
(Co-orientador)

---

Kelly da Silva Coutinho Detmman

---

Fabício Ávila Rodrigues  
(Orientador)

**A Deus, acima de todas as coisas**

Aos meus pais, Geremias de Magalhães Pereira e Aparecida Felisberto Pereira, e aos meus irmãos, Marcos Vinícius Felisberto Pereira e Thamires Felisberto Pereira, pelo amor incondicional, pelo carinho e pelas incessantes orações

**OFEREÇO**

A minha amada noiva Lorena Dantas do Nascimento

pelo amor, companheirismo e compreensão

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a DEUS, pela oportunidade de estudar e me formar em uma das melhores instituições Federais do país.

Agradeço aos meus sogros, Margarete Dantas e Marcio Luis do Nascimento, meus cunhados Marcos Vinícius Dantas do Nascimento, Kelly Dantas do Nascimento e Tiago Dutra, pelas orações e conselhos.

Agradeço ao Prof. Fabrício de Ávila Rodrigues, pela orientação, pela competência, conselhos, amizade, e pelas conversas, através das quais cresci muito tanto como profissional quanto como pessoa.

Agradeço ao Prof. Fábio Murilo DaMatta, pelo muito que me ensinou ao longo de todo este período de convívio, pela amizade, pelo apoio e pela coorientação.

Agradeço aos integrantes do Laboratório de Interação Planta-Patógeno, Jonas, Daniel Debona, Alessandro, Patrícia, Carla, Carlos Aucique-Perez, Caroline, Wilka, Renata, Ernesto, Emersom e Vinícius, pela amizade, acolhida e pelo auxílio nos trabalhos de laboratório.

Agradeço aos amigos de velha data, em especial ao Samuel, pela paciência e humildade em ensinar o muito que sabe; ao Leandro Elias, pela amizade e pelos momentos de descontração; ao Paulo Eduardo, pela grande amizade; a Kelly Detmann, pelo grande carinho e amizade; ao Paulo Cavatte, Lilian Sanglard e Aline pela amizade; ao Nelson, pelo estímulo e ao Rodrigo, um grande amigo para todas as horas, a eles o meu carinho especial.

## **BIOGRAFIA**

Lucas Felisberto Pereira, nasceu na cidade de Viçosa, no estado de Minas Gerais, no dia 05 de Janeiro de 1990. Filho de Geremias de Magalhães Pereira e Aparecida Felisberto Pereira.

No ano de 2007, formou-se Técnico em Agroindústria pelo Instituto Federal Sudeste Minas Gerais, no campus de Rio Pomba. Em 2009, iniciou o curso superior em Agronomia, na Universidade Federal de Viçosa, concluindo-o em 2014, ano em que lhe foi conferido o título de Engenheiro Agrônomo pela mesma instituição. Ainda como graduando, foi bolsista de Iniciação Científica por quatro anos no Departamento de Biologia Vegetal, atuando no Laboratório de Nutrição e Metabolismo de Plantas sob orientação do Prof. Fábio Murilo DaMatta.

Em Fevereiro de 2014, ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, sob orientação do Prof. Fabrício de Ávila Rodrigues, com dissertação defendida em Julho de 2015.

Em Março de 2015 foi aprovado no concurso publico para provimento de vaga para Professor do Ensino Básico Técnico e Tecnológico do Instituto Federal Goiano, cargo para o qual tomou posse em Junho de 2015.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	viii
INTRODUÇÃO .....	1
MATERIAL E MÉTODOS .....	3
Crescimento das plantas: .....	3
Inoculação das plantas com <i>Microdochium oryzae</i> .....	3
Determinação dos parâmetros de trocas gasosas e da fluorescência da clorofila a..	4
Estimativas da condutância mesoflica ao CO <sub>2</sub> (g <sub>m</sub> ), taxa de carboxilação máxima (V <sub>cmax</sub> ), taxa máxima de carboxilação limitada pelo transporte de elétrons (J <sub>max</sub> ) e análise quantitativa das limitações à fotossíntese.....	5
Avaliação das plantas inoculadas e não inoculadas .....	8
Determinação da concentração foliar de Si .....	8
Delineamento experimental e análise estatística dos dados .....	8
RESULTADOS .....	9
DISCUSSÃO .....	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	15
APÊNDICE.....	20

## RESUMO

PEREIRA, Lucas Felisberto, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2015. **Silício potencializa as taxas fotossintéticas mediante uma maior condutância mesofílica em folhas de arroz infectadas por *Microdochium oryzae*.** Orientador: Fabrício Ávila Rodrigues.

O arroz (*Oryza sativa*) é um dos grãos mais consumidos no mundo, no entanto, as perdas proporcionadas por patógenos têm de reduzido grandemente sua produtividade. Dentre estes, a escaldadura, causada pelo fungo *Microdochium oryzae*, se destaca por ser uma das principais doenças encontradas no arroz. É sabido ainda que, o Silício (Si) é responsável por conferir resistência a uma grande gama de patógenos, em especial na cultura do arroz, incluindo *M. oryzae*. Para investigar o que proporciona essa maior resistência, plantas de arroz foram crescidas em solução nutritiva, supridas e não supridas com Si, inoculadas e não inoculadas com *M. oryzae*. Foi encontrado que plantas supridas com Si possuíam menores severidades a escaldadura do arroz, que foi relacionada aos maiores teores desse elemento nessas plantas. As plantas supridas com Si e inoculadas, apresentaram maiores taxas fotossintéticas (A), além de maiores rendimento fotoquímico máximo do fotossistema II (FSII) ( $F_v/F_m$ ), a eficiência na captura da energia de excitação pelos centros de reação do FSII ( $F_v'/F_m'$ ) e taxa de transporte de elétrons (ETR), demonstrando que nas plantas supridas com Si, a eficiência na captura e transformação da energia luminosa em química era menos afetada quando o Si era suplementado. A análise da taxa aparente de carboxilação máxima ( $V_{cmax}$ ) e da taxa de carboxilação que é limitada pelo transporte de elétrons ( $J_{max}$ ) em base  $C_c$ , permitiu inferir que, o Si não mitigou os danos bioquímicos proporcionados pela presença do fungo *M. oryzae*, uma vez que nenhuma diferença estatística foi encontrada. Desta forma, os dados conduzem a interpretação de que a suplementação com Si permite melhores A através da manutenção de maiores condutâncias mesofílicas ( $g_m$ ),

proporcionando assim, menores limitações difusivas nas plantas inoculadas, uma vez que a  $g_m$  é grandemente afetada pela presença do patógeno na ausência deste elemento. Ainda, a análise quantitativa das limitações à fotossíntese, corrobora com os resultados encontrados, uma vez que as fortes limitações mesofílicas observadas quando o Si não era adicionado. Desta forma conclui-se que o fornecimento do Si à cultura do arroz mitiga os efeitos deletérios proporcionados pela infecção causada por *M. oryzae*, através da manutenção da condutância do  $CO_2$  presente nas câmaras subestomáticas até os sítios de carboxilação da Rubisco.

**ABSTRACT**

PEREIRA, Lucas Felisberto, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2015. **Silicon enhances photosynthetic rates way increasing mesophyll conductance in rice leaves infected with *Microdochium oryzae***. Adviser: Fabrício Ávila Rodrigues.

Rice (*Oryza sativa*) is one of the most consumed grains in the world, however, losses provided by pathogens have greatly reduced productivity. Among these, scald, caused by the fungus *Microdochium oryzae*, stands out as a major disease found in rice. It is also known that, Silicon (Si) is responsible for conferring resistance to a wide range of pathogens, especially in rice crops, including *M. oryzae*. To investigate what this provides greater resistance, rice plants were grown in nutrient solution, supplied and not supplied with Si, inoculated and not inoculated with *M. oryzae*. It was found that plants supplied with Si had lower severities to scald of rice, which was related to higher levels of aluminum in these plants. The plants supplied with Si and inoculated, had higher photosynthetic rates (A), as well as higher maximum photochemical efficiency of photosystem II (PSII) ( $F_v/F_m$ ), the efficiency of excitation energy capture by PSII reaction centers ( $F_v'/F_m'$ ) and electron transport rate (ETR), demonstrating that plants supplied with Si, the efficiency in the capture and transformation of light energy into chemical was less affected when Si was supplemented. The analysis of the apparent maximum rate of carboxylation ( $V_{cmax}$ ) and carboxylation rate that is limited by the transport of electrons ( $J_{max}$ ) in  $C_c$  base, allowed to infer that the Si not mitigated the biochemical damage provided by the fungus *M. oryzae* presence, since no statistical difference was found. Thus, the data lead to the interpretation that supplementation with Si allows better by maintaining the largest mesophyll conductance ( $g_m$ ), thus providing smaller diffusive limitations on inoculated plants, since  $g_m$  is greatly affected by the presence of the pathogen in

the absence of this element. Furthermore, the quantitative analysis of limitations to photosynthesis corroborates the results, since the mesophyll strong limitations observed when the Si was not added. Thus, it is concluded that the supply of the Si in rice culture mitigates the deleterious effects provided by the infection caused by *M. oryzae*, by the maintenance of the CO<sub>2</sub> present conductance substomatic to the sites of carboxylation of Rubisco.

## INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos produtos agrícolas de maior importância por ser a base da alimentação de grande parte da população mundial. A ocorrência de doenças é um dos fatores que contribuem grandemente para reduzir a produção de grãos de arroz, em cerca de 30% (Oerke, 2006). A escaudadura, causada pelo fungo *Monographella albescens* (Thümen) Parkinson Sivanesan & C. Booth (forma imperfeita *Microdochium oryzae* (Hashioka & Yokogi) Samuels & Hallett), tem causado perdas na produção de arroz, da ordem de 20 a 30%, principalmente em plantios localizados em regiões com elevada umidade e quando a infecção pelo fungo ocorre na fase do emborrachamento dos grãos (Ou, 1985; Prabhu et al., 2006). Os sintomas da escaudadura nas folhas aparecem como pequenas lesões de coloração verde-oliva sem margens definidas, as quais se expandem formando sucessões de faixas concêntricas com alternância das cores marrom-claro e escuro (Filippi et al., 2005). A escaudadura tem sido controlada com a aplicação de fungicidas, uma vez que a disponibilidade de cultivares resistentes aos orizicultores é limitada (Oerke, 2006; Filippi et al., 2005). Buscando uma estratégia para o controle da escaudadura do arroz, Tatagiba et al. (2014) reportaram que uma maior concentração foliar de silício (Si) reduziu a expansão das lesões da escaudadura nas folhas das plantas supridas com esse elemento; essa resposta foi acompanhada de maiores concentrações de compostos fenólicos solúveis totais e de derivados de lignina-ácido tioglicólico e maiores atividades das enzimas peroxidases, polifenoloxidasas, fenilalanina amônia-liases e lipoxigenases.

A infecção de plantas por patógenos de diferentes estilos de vida, tais como *Pyricularia oryzae*, *Microdochium oryzae* e *Bipolaris oryzae* em arroz, *Puccinia pididii* em eucalipto, *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em feijoeiro e *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* em tomate, tem ocasionado reduções na assimilação

líquida de carbono e na fluorescência da clorofila, sendo que, na maioria dos casos, a limitação é atribuída a danos na maquinaria fotossintética das plantas ou por limitações estomáticas à fotossíntese (Berghaus & Reisener, 1985; Díaz et al., 2001; Mandal et al., 2008; Dalagnoll et al., 2012; Schwartz & Singh, 2013; Debona et al., 2014; Tatagiba et al., 2014). Entretanto, estudos procurando demonstrar a importância da condutância mesofílica ( $g_m$ ) como um fator limitante da capacidade fotossintética de plantas em associação com limitações de naturezas estomática e bioquímica, principalmente em se tratando de fatores de estresse bióticos, são extremamente raros na literatura (Flexas et al., 2008). Sampol et al. (2003) até então foram os únicos a relatar que a  $g_m$  foi importante para explicar as reduções fotossintéticas em folhas de videira com sintomas do “grapevine fan leaf vírus”; no entanto, o papel da  $g_m$  no controle da fotossíntese para os muitos outros patossistemas existentes não tem sido estudado.

Detmann et al. (2012) demonstraram que plantas de arroz supridas com Si apresentaram aumento no peso de 1000 grãos e no número de espiguetas culminando com aumento na produtividade, o que foi explicado pelo aumento da taxa fotossintética associada a um substancial aumento nos valores de  $g_m$  nas plantas supridas com Si. Entretanto a importância desses aumentos em  $g_m$  proporcionados pela suplementação com Si após a infecção por patógenos não foi até então relatada. Desta forma, as limitações à fotossíntese proporcionadas por patógenos, podem estar sendo erroneamente atribuídas a limitações de natureza bioquímica e estomática, uma vez que, a limitação mesofílica pode corresponder a frações da ordem de 20 a 50% da limitação total à fotossíntese (Griffiths & Helliker, 2013).

Na literatura atual, existe uma grande lacuna sobre as possíveis influências de patógenos sobre  $g_m$ . Ainda, visto que, plantas de arroz supridas com Si apresentam aumentos na  $g_m$ , os possíveis efeitos desses aumentos na interação de plantas e

patógenos não foram até então esclarecidos. Desta forma, este trabalho teve como objetivo verificar se os aumentos na  $g_m$  em plantas de arroz supridas com Si foram supostamente responsáveis pelas maiores performances fotossintéticas quando infectadas por *M. oryzae*.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Crescimento das plantas.** Plantas de arroz (cv. Primavera) foram cultivadas em vasos plásticos contendo 5 dm<sup>3</sup> de solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950), foi constituída de: 1,0 mmol KNO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>; 0,25 mmol NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> L<sup>-1</sup>; 0,1 mmol NH<sub>4</sub>Cl L<sup>-1</sup>; 0,5 mmol MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O L<sup>-1</sup>; 1,0 mmol Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>; 0,30 μmol CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O L<sup>-1</sup>; 0,33 μmol ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O L<sup>-1</sup>; 11,5 μmol H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>; 3,5 μmol MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O L<sup>-1</sup>; 0,1 μmol (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>.4H<sub>2</sub>O L<sup>-1</sup>; 25 μmol FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O L<sup>-1</sup> e 25 μmol EDTA L<sup>-1</sup> bisódico. O ácido monossilícico, obtido pela passagem do silicato de potássio (PQ Corporation, São Paulo) através de uma coluna contendo resina trocadora de cátions (Amberlite IRA 410) (Ma et al., 2002), foi adicionado à solução nutritiva nas concentrações de 0 e 2 mmol de Si L<sup>-1</sup>.

**Inoculação das plantas com *M. oryzae*.** Utilizou-se o isolado UFV-DFP M612 de *M. oryzae*, o qual se encontrava preservado em tubos de ensaio contendo batata dextrose ágar (BDA) e coberto por óleo mineral em geladeira a 4°C. Aos 25 dias antes da inoculação das plantas com *M. oryzae*, pedaços de meio de cultura BDA contendo micélio do fungo foram transferidos para placas de Petri contendo meio BDA. Quando a colônia do fungo atingiu 3 cm de diâmetro, o mesmo foi repicado para novas placas de Petri contendo meio BDA. As placas de Petri foram mantidas em câmara de crescimento tipo B.O.D. (temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas), por 15 dias. Plantas com 50 dias de idade (estádio inicial de crescimento reprodutivo) (Matsuo & Hoshikawa, 1993) foram inoculadas com *M. oryzae*

utilizando-se de discos de meio BDA ( $0,25 \text{ cm}^2$ ) contendo estruturas do fungo. Três discos foram equidistantemente colocados na face adaxial da sétima, oitava e nona folhas do colmo principal, da base para o ápice, de cada planta, e aderido à superfície da folha com uma leve pressão. As plantas inoculadas foram colocadas em câmara de nevoeiro (temperatura de  $25 \pm 4^\circ\text{C}$  e umidade relativa de  $90 \pm 5\%$ ) onde permaneceram durante cinco dias, sob luz natural (máxima densidade de fluxo de fótons de  $\approx 950 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).

### **Determinação dos parâmetros de trocas gasosas e da fluorescência da clorofila**

a. Os parâmetros de trocas gasosas taxa líquida de assimilação de  $\text{CO}_2$  (A), condutância estomática ( $g_s$ ), concentração de  $\text{CO}_2$  nas cavidades subestomáticas ( $C_i$ ) e a taxa de transpiração (E), foram estimados em plantas inoculadas e não inoculadas com *M. oryzae*, supridas ou não de Si, das 9:00 às 13:00 h (horário solar), sob irradiância de  $1000 \mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  e concentração externa de  $\text{CO}_2$  ( $C_a$ ) de  $400 \mu\text{mol mol}^{-1}$  ar. Três sistemas portáteis de trocas gasosas de fluxo aberto (LI-6400XT; LI-COR Inc., Lincoln, NE) foram utilizados simultaneamente durante as avaliações. Os parâmetros de fluorescência da clorofila a (Chl a) foram obtidos por meio de câmaras de fluorescência integradas na mesma pinça na qual os parâmetros de trocas gasosas foram mensurados. Para a obtenção da fluorescência inicial ( $F_0$ ), as folhas, previamente adaptadas ao escuro (30 min), foram iluminadas com um fraco feixe de luz actínica modulada ( $0,03 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). Para mensurar a fluorescência máxima ( $F_m$ ), pulsos saturantes de luz branca de  $8000 \mu\text{mol}$  de fótons  $\text{m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  foram aplicados durante 0,8 s. Com base nos valores de  $F_0$  e  $F_m$ , calculou-se o rendimento fotoquímico máximo do fotossistema II (FSII) ( $F_v/F_m$ ), como:  $F_v/F_m = [(F_m - F_0)/F_m]$ . Numa próxima etapa, com as folhas aclimatadas à luz, um pulso de saturação ( $8000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ; 0,8 s) foi emitido de modo a se alcançar a fluorescência máxima estando a folha adaptada à luz ( $F_m'$ ). Em seguida, a luz actínica foi desligada e a

iluminação na faixa do vermelho distante ( $2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) foi aplicada nas folhas para que a fluorescência inicial, após a adaptação à luz ( $F_0'$ ), fosse mensurada. Assim, de posse dos valores dos parâmetros  $F_0'$  e  $F_m'$ , estimou-se a eficiência na captura da energia de excitação pelos centros de reação do FSII,  $F_v'/F_m' = [(F_m' - F_0')/F_m']$  (Logan et al., 2007). A proporção de luz absorvida pelas clorofilas associadas ao FSII, a qual é utilizada na etapa fotoquímica da fotossíntese, foi expressa como  $\phi_{\text{PSII}} = [(F_m' - F_s)/F_m']$  (Genty et al., 1989). A taxa de transporte de elétrons (J) foi calculada a partir da equação  $J = \phi_{\text{PSII}}\alpha\beta DFFF$ , em que  $\alpha$  é a absorptância foliar e  $\beta$  é o fator que leva em consideração o particionamento da energia luminosa entre os dois fotossistemas, e DFFF é definida como a densidade de fluxo de fótons fotossintéticos. O produto  $\alpha\beta$  foi estimado segundo Valentini et al. (1995) a partir da relação entre  $\phi_{\text{PSII}}$  e o rendimento quântico aparente de fixação de  $\text{CO}_2$  ( $\phi_{\text{CO}_2}$ ), obtida variando a intensidade de luz sob condições não-fotorrespiratórias; entretanto, devido as dificuldades de se determinar um  $\alpha\beta$  para as plantas inoculadas, utilizou-se para essas o mesmo  $\alpha\beta$  das plantas não inoculadas. A resposta de A às diferentes concentrações internas de  $\text{CO}_2$  (curvas  $A/C_i$ ) foi obtida a partir de um conjunto de plantas para cada um dos quatro tratamentos. As medições iniciaram-se a uma  $C_a$  de  $400 \mu\text{mol CO}_2 \text{mol}^{-1}$  e, uma vez atingido o “steady-state”, a concentração de  $\text{CO}_2$  foi gradualmente diminuída até  $50 \mu\text{mol mol}^{-1}$  e, posteriormente, gradualmente aumentada até  $1600 \mu\text{mol mol}^{-1}$ . Desse modo, as curvas  $A/C_i$  consistiram de 12 pontos com diferentes valores de  $C_a$ . Finalmente, as correções para o vazamento de  $\text{CO}_2$  dentro e fora da câmara do LI-6400 foram aplicadas a todos os dados de trocas gasosas de acordo com Rodeghiero et al. (2007).

**Estimativas da condutância mesofílica ao  $\text{CO}_2$  ( $g_m$ ), taxa de carboxilação máxima ( $V_{\text{cmax}}$ ), taxa máxima de carboxilação limitada pelo transporte de**

**elétrons ( $J_{\max}$ ) e análise quantitativa das limitações à fotossíntese.** A concentração cloroplastídica de  $\text{CO}_2$  ( $C_c$ ) foi estimada de acordo com Harley et al. (1992), a saber:

$$C_c = (F^*(J + 8(A + R_L)) / (J - 4(A + R_L)))$$

Em que:  $J$  e  $A$  foram obtidos por meio de trocas gasosas e das medições de fluorescência da Chl  $a$  conduzidas sob luz de saturação;  $R_L$  foi estimada como sendo a metade da respiração noturna (Niinemets et al., 2005, 2006, 2009b) e  $F^*$  foi definido como sendo o ponto de fotocompensação do  $\text{CO}_2$  na ausência de respiração mitocondrial. O valor conservado de  $F^*$  para o arroz foi obtido de acordo com Li et al. (2009).

A condutância ao  $\text{CO}_2$ , dos espaços intercelulares até seu sítio de fixação no estroma dos cloroplastos, denominada condutância mesofílica ( $g_m$ ), foi estimada a partir da inclinação de  $A$  vs ( $C_i - C_c$ ):

$$A = g_m(C_i - C_c)$$

de tal modo que a estimativa de  $g_m$  representa um valor médio obtido ao longo dos pontos utilizados na relação  $C_i < 300 \mu\text{mol mol}^{-1}$  ar.

Uma vez que todos os métodos disponíveis para estimar  $g_m$  baseiam-se em modelos que possuem várias suposições, todas as limitações técnicas, além de fontes de erro existentes devem ser consideradas de modo a obter estimativas confiáveis para este parâmetro (Pons et al., 2009). Assim, para se aumentar a confiabilidade dos dados, a  $g_m$  também foi estimada utilizando-se uma abordagem alternativa descrita por Gu et al. (2010) como técnica de ajuste à curva por exaustivas otimizações duplas (Exhaustive Dual Optimization (EDO)). Para tal, os dados das curvas  $A/C_i$  foram enviados para o “Oak Ridge National Laboratory” (OakRidge, TN, Estados

Unidos), que utiliza EDO para criar parâmetros a partir das curvas  $A/C_i$  baseados nos modelos de Farquhar-von Caemmerer-Berry (1980). A média dos valores de  $g_m$  para os quatro tratamentos obtidos pelo método descrito por Harley et al. (1992), quando combinados com as médias obtidas pela abordagem descrita por Gu et al. (2010), resultaram em uma correlação linear significativa ( $r^2 = 0,97$ ,  $P < 0,01$ ). Com base nessa correlação, todos os valores abaixo analisados corresponderam a valores obtidos por meio do método descrito por Harley et al. (1992).

Os valores de  $V_{c_{max}}$  e  $J_{max}$  foram calculados a partir das curvas  $A/C_i$  ajustando o modelo mecanístico de assimilação do  $CO_2$  proposto por Farquhar et al. (1980) e utilizando  $C_c$  baseado nos parâmetros cinéticos da Rubisco dependentes da temperatura ( $K_c$  e  $K_0$ ) (Bernacchi et al., 2002). Desta forma, foi obtido o  $V_{c_{max}}$  e  $J_{max}$  em base  $C_i$  ( $V_{c_{max}} C_i$  e  $J_{max} C_i$ ) e  $C_c$  ( $V_{c_{max}} C_c$  e  $J_{max} C_c$ ). Os procedimentos de ajuste das curvas estão detalhados em Detmann et al. (2012). Posteriormente, os parâmetros fotossintéticos  $V_{c_{max}} C_i$ ,  $J_{max} C_i$ ,  $V_{c_{max}} C_c$ ,  $J_{max} C_c$  e  $g_m$  foram normalizados para  $25^\circ C$  utilizando-se das equações de resposta à temperatura de acordo com Sharkey et al. (2007).

As limitações fotossintéticas foram particionadas em seus componentes funcionais: limitação estomática (LS), mesofílica (LM) e bioquímica (LB). Para tal, utilizaram-se os valores de  $A$ ,  $g_s$ ,  $g_m$ ,  $V_{c_{max}}$ ,  $\Gamma^*$ ,  $C_c$  e  $K_m = K_c (1 + O/K_0)$  com base no método proposto por Grassi & Magnani (2005), a saber:

$$LS = ((g_{tot}/g_s) \times (\partial A/\partial C_c)) / (g_{tot} + (\partial A/\partial C_c))$$

$$LM = ((g_{tot}/g_m) \times (\partial A/\partial C_c)) / (g_{tot} + (\partial A/\partial C_c))$$

$$LB = g_{tot} / (g_{tot} + (\partial A/\partial C_c))$$

Em que:  $g_s$  é a condutância estomática ao  $CO_2$ ,  $g_m$  é a condutância mesofílica à difusão do  $CO_2$  e  $g_{tot}$  é a condutância total ao  $CO_2$  desde o ambiente até os cloroplastos ( $g_{tot}=1/[(1/g_s)+(1/g_m)]$ ).

$\partial A/\partial C_c$  foi calculado tal como:

$$\partial A/\partial C_c = [V_{cmax}(\Gamma^* + K_m)] / (C_c + K_m)^2$$

**Avaliação das plantas inoculadas e não inoculadas.** 24 h Antes da avaliação do experimento, as plantas inoculadas foram transferidas para uma casa de vegetação onde seriam avaliadas, por um período de para aclimatação. Os dados de trocas gasosas, fluorescência da Chl a e as curvas  $A/C_i$  foram analisadas na região logo abaixo ou logo acima do disco contendo o micélio do fungo, na oitava e na nona folha do colmo principal das plantas de cada repetição. As plantas não inoculadas foram analisadas juntamente e nas mesmas condições que as plantas inoculadas.

**Determinação da concentração foliar de Si.** Amostras da sétima, oitava e nona folha do colmo principal das plantas das repetições de cada tratamento foram coletadas às 120 (hai), lavadas em água destilada e secas em estufa com ventilação forçada de ar a 70°C até atingirem peso constante. Posteriormente, as folhas, sem bainha, foram moídas em moinho tipo Thomas-Wiley, equipado com peneira de 20 mesh. A concentração foliar de Si foi determinada de acordo com Korndörfer et al. (2004).

**Delineamento experimental e análise estatística dos dados.** O experimento foi instalado em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial  $2 \times 2$ , com cinco repetições. Os fatores estudados foram: doses de Si (0 e 2 mmol Si L<sup>-1</sup>) e plantas inoculadas e não inoculadas com *M. oryzae*. Cada unidade experimental foi constituída por um vaso plástico contendo cinco plantas de arroz. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram

comparadas pelo teste-t ( $P \leq 0,05$ ) utilizando o software SAS versão 9.0 (SAS Institute, Inc., Cary, NC).

## RESULTADOS

A concentração de Si foliar aumentou significativamente em 90% nas plantas supridas com esse elemento em relação às plantas não supridas (Fig. 1A). A severidade da escaldadura foi reduzida significativamente em 88% nas plantas supridas com Si em comparação com as plantas não supridas com esse elemento (Fig. 1B).

Para o fator inoculação das plantas, não houve efeito significativo apenas para os parâmetros  $C_i$ , LS e LB. Para o fator doses de Si, não houve efeito significativo apenas para os parâmetros  $g_s$ ,  $C_i$ ,  $C_c$ , E,  $V_{cmax} C_c$  e  $J_{max} C_c$ . Para a interação inoculação das plantas  $\times$  doses de Si, houve efeito significativo apenas para o parâmetro  $F_v/F_m$  (Tabela 1).

Na presença de Si, houve aumento significativo de 15 e 44% para A, de 6 e 12% para  $F_v'/F_m'$ , de 9 e 25% para ETR, de 20 e 49% para  $V_{cmax} C_i$ , de 16 e 35% para  $J_{max} C_i$ , de 29 e 52% para  $g_m$ , respectivamente, para as plantas não inoculadas e inoculadas com *M. oryzae* (Figuras 2A, 3B e C, 4A e B e 5). O parâmetro  $F_v/F_m$  aumentou significativamente em 8% apenas nas plantas supridas com Si e inoculadas com *M. oryzae*. Nas plantas inoculadas com *M. oryzae*, houve reduções significativas de 62 e 43% para A, de 56 e 55% para E, de 55 e 42% para  $g_s$ , de 59 e 48% para  $C_c$ , de 21 e 16% para  $F_v'/F_m'$ , de 15 e 8% para  $F_v/F_m$ , de 50 e 38% para ETR, de 70 e 53% para  $V_{cmax} C_i$ , de 39 e 21% para  $J_{max} C_i$ , de 40 e 45% para  $V_{cmax} C_c$ , de 23 e 15% para  $J_{max} C_c$ , de 68 e 54% para  $g_m$ , respectivamente, para plantas não supridas e supridas com Si (Figuras 2A, B, C e D, 3A, B e C, 4A, B, C e D e 5).

Na análise quantitativa das limitações à fotossíntese, observou-se diferença significativa para os fatores inoculação de plantas e doses de Si somente para LM. Na presença de Si, houve redução significativa de 15 e 27% para LM, respectivamente, nas plantas não inoculadas e inoculadas. Nas plantas inoculadas com *M. oryzae*, houve aumentos de 33 e 21% para LM, respectivamente, para plantas não supridas e supridas de Si (Figura 6B). As limitações difusivas totais (LS+LM) corresponderam a 65% do total nas plantas inoculadas e não supridas com Si enquanto que nas plantas supridas, os valores referentes às limitações difusivas corresponderam a 55% do total (Figura 6A e B).

## DISCUSSÃO

O Si tem sido responsável por conferir resistência às plantas a fatores estressantes de ordem abiótica e biótica (Rodrigues et al., 2003, 2004, 2005; Epstein, 2009; Resende et al., 2012; Aucique-Perez et al., 2014). No presente estudo, observou-se que plantas supridas com Si apresentaram menor severidade da escaldadura associada a uma maior concentração foliar de Si.

O suprimento com proporcionou Si maiores valores de A nas plantas não inoculadas, corroborando, assim, com os resultados relatados por Detmann et al. (2012), o quais atribuíram esses aumentos aos incrementos em  $g_m$ . Ainda, a infecção das folhas de arroz por *M. oryzae* proporcionou reduções em A em magnitude similar à reportada por Tatagiba et al. (2015), reflexo da maior severidade e de danos relacionados a maquinaria fotossintética. Entretanto, o Si mitigou os efeitos deletérios da infecção causada por *M. oryzae*, uma vez que os valores de A foram superiores em relação aos das plantas não supridas com Si. Dados similares foram encontrados por Aucique-Perez et al. (2014), em que o Si aparentemente mitigou os

efeitos deletérios do patógeno *Pyricularia oryzae* em plantas de trigo, acarretando, em decorrência, maiores valores de  $A$ .

O parâmetro  $g_s$  é um dos principais fatores que limitam  $A$  e qualquer fator estressante que proporcione sua redução pode implicar em redução nos valores de  $A$ , pois reduz-se sobremaneira o influxo de  $CO_2$  desde a atmosfera até as cavidades subestomáticas (Flexas, 2004). Dessa forma, fica evidente que o Si não contribuiu para manutenção da  $g_s$  nas plantas infectadas e, embora as reduções após a inoculação sejam significativas, a importância de  $g_s$  como um fator limitante para a fotossíntese foi menor se comparado as limitações mesofílicas e bioquímicas.

Patógenos necrotróficos, de maneira geral, produzem enzimas líticas que degradam a parede celular das folhas culminando em profundos impactos no metabolismo fotossintético (Scholes, 2009). Dessa forma, os parâmetros de fluorescência da clorofila  $a$  vêm sendo utilizados de maneira eficiente para identificar danos a maquinaria fotossintética ocasionados por patógenos, os quais que podem estar associados a reduções em  $F_v/F_m$ ,  $F_v'/F_m'$  e ETR (Debona et al., 2014; Aucique-Perez et al., 2015; Tatagiba et al., 2015). As reduções nos parâmetros de fluorescência da chl  $a$  nas plantas inoculadas e não supridas com Si demonstram a ocorrência de danos a maquinaria fotossintética devido as reduções em  $F_v/F_m$  com possível ocorrência de fotoinibição e redução na performance fotossintética das plantas. Ainda, a redução conjunta da ETR e da eficiência com que a energia de excitação é capturada pelos centros de reação do PSII abertos (definida como  $F_v'/F_m'$ ), gera um excesso de poder reductor, que pode culminar em danos fotooxidativos (Maxwell and Johnson, 2000; Aucique-Perez et al., 2015). Entretanto, nas plantas supridas com Si, observaram-se valores significativamente maiores nos parâmetros de fluorescência da chl  $a$ , permitindo deduzir que as reações dependentes da luz e a conversão desta em energia química foram maiores nas plantas

supridas com Si mesmo após a inoculação, resultando em maior eficiência fotossintética.

$V_{\text{cmax}}$  e  $J_{\text{max}}$  são parâmetros que expressam a máxima atividade da Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco) e a taxa máxima de transporte de elétrons, respectivamente (von Caemmerer, 2000). O  $V_{\text{cmax}}$  é dependente da quantidade de proteínas Rubisco presente na folha e  $J_{\text{max}}$  das proteínas que compõem as membranas dos tilacóides. As reduções nos valores de  $V_{\text{cmax}}$  e  $J_{\text{max}}$ , expressos em base  $C_i$ , para as plantas infectadas por *M. oryzae* indicam, a ocorrência de forte limitação bioquímica a fotossíntese (von Caemmerer, 2000). Entretanto, nas plantas inoculadas e não supridas com Si em relação às supridas com esse elemento, as reduções observadas nos valores desses parâmetros foram mais proeminentes, permitindo postular que o Si estaria atuando em nível bioquímico aliviando, assim, as limitações bioquímicas decorrentes da infecção por *M. oryzae*. Entretanto, existem muitos relatos de que as reduções observadas em  $V_{\text{cmax}} C_i$  e  $J_{\text{max}} C_i$  são decorrentes de reduções em  $g_m$  e que, após analisar  $V_{\text{cmax}} C_c$  e  $J_{\text{max}} C_c$  as reduções desaparecem, uma vez que os efeitos de  $g_m$  foram desconsiderados (Flexas et al., 2002, 2007). Assim, considerando que não houve efeito do Si para  $V_{\text{cmax}} C_c$  e  $J_{\text{max}} C_c$ , os maiores valores obtidos para  $A$  em plantas inoculadas e supridas de Si não foram associados a menores limitações bioquímicas, mas sim difusivas. Em outras palavras, as diferenças encontradas para  $V_{\text{cmax}}$  e  $J_{\text{max}}$  em base  $C_i$  não foram observadas quando os mesmos foram calculados em base  $C_c$  (Flexas et al., 2002, 2004, 2007; Sargadoy et al., 2010).

É sabido que plantas de arroz supridas com Si apresentaram aumentos significativos na condutância do mesófilo ao  $\text{CO}_2$ , que por sua vez estiveram diretamente relacionados com maiores rendimentos em produtividade (Detmann et al., 2012). Os dados do presente estudo vão de acordo com os resultados reportados

por Detmann et al. (2012), já que os maiores valores de  $g_m$  ocorreram para as plantas supridas com Si. Por sua vez, os valores de  $g_m$  também foram maiores para as plantas inoculadas e supridas com Si em relação as plantas não supridas. Considerando que os valores de  $g_m$  foram maiores para as plantas inoculadas e supridas com Si em relação as plantas não supridas, ficou demonstrado notoriamente o efeito do Si em contribuir para que os valores de  $g_m$  tornem-se maiores e, conseqüentemente, os valores de  $A$ , para as plantas infectadas por *M. oryzae*.

Sampol et al. (2003) foram os primeiros a reportar que a  $g_m$  foi o principal fator que contribuiu para limitar  $A$  na interação planta-patógeno. Entretanto, nenhum estudo até então realizado correlacionou a importância dos incrementos de  $g_m$  proporcionados pelo suprimento do Si, principalmente para patossistemas em arroz, haja vista que o arroz é respondente as aplicações de Si. Assim, este estudo é o primeiro a relatar que a menor severidade, maiores  $A$  e  $g_m$  nas plantas inoculadas, somente existiram devido ao suprimento de Si o qual contribuiu para mitigar os efeitos deletérios da infecção causada por *M. oryzae*. Ainda, a análise quantitativa das limitações na fotossíntese indicou que as plantas não supridas com Si e infectadas por *M. oryzae* apresentaram limitações mesofílicas significativamente maiores do que as das plantas supridas. Assim, fica demonstrado o papel positivo do Si pode em reduzir os sintomas da escaldadura mediante a manutenção da difusão do  $CO_2$  dos espaços intercelulares até os sítios de carboxilação da Rubisco, o que foi grandemente afetado nas folhas das plantas não supridas com Si durante o processo infeccioso de *M. oryzae*.

Conclui-se que, embora *M. oryzae* tenha tido a capacidade de causar danos bioquímicos nas folhas das plantas supridas ou não com Si, os mesmos foram mais drásticos na ausência de Si desse elemento. A análise dos parâmetros  $V_{cmax}$  e  $J_{max}$  nas bases  $C_i$  e  $C_c$ , respectivamente, os maiores valores  $g_m$  e as menores limitações

mesofílicas nas plantas supridas com Si e nestas, contribuíram sobremaneira para menores limitações difusivas e com isso maiores  $A$  após a infecção por *M. oryzae*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bernacchi CJ, Portis AR, Nakano H, von Caemmerer S, Long SP, 2002. Temperature response of mesophyll conductance. Implications for the determination of Rubisco enzyme kinetics and for limitations to photosynthesis in vivo. *Plant Physiology* 130, 1992–1998.

von Caemmerer S, 2000. *Biochemical models of leaf photosynthesis*. Collingwood, Australia: CSIRO Publications.

Detmann KC, Araújo WL, Martins SCV, Sanglard LMVP, Reis JV, Detmann E, Rodrigues FA, Nunes-Nesi A, Fernie AR, DaMatta FM, 2012. Silicon nutrition increases grain yield, which, in turn, exerts a feed-forward stimulation of photosynthetic rates via enhanced mesophyll conductance and alters primary metabolism in rice. *New Phytologist* 196, 752–762.

Epstein E, 2009. Silicon: its manifold roles in plants. *Annals of Applied Biology* 155, 155–160.

Farquhar GD, von Caemmerer S, Berry JA, 1980. A biochemical model of photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation in leaves of C<sub>3</sub> species. *Planta* 149, 78–90.

Genty B, Briantais JM, Baker NR, 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron-transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta* 990, 87–92.

Filippi MC, Prabhu AS, 2005. *Escaldadura do Arroz e seu controle*. Circular Técnica 72. Santo Antônio de Goiás GO. Embrapa Arroz e Feijão.

Flexas J, Medrano H, 2002. Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: An evaluation of stomatal and mesophyll limitations. *Function Plant Biology* 29, 461-471.

Flexas J, Bota J, Loreto F, Cornic G, Sharkey TD, 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology* 6, 269–279.

Flexas J, Ortuño MF, Ribas-Carbó M, Díaz-Espejo A, Florez-Sarasa ID, Medrano H, 2007. Mesophyll conductance to CO<sub>2</sub> in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist* 175, 501–511.

Flexas J, Barbour MM, Brendel O, Cabrera HM, Carriqui M, Díaz-Espejo A, Douthe C, Dreyer E, Ferrio JP, Gago J et al., 2012. Mesophyll diffusion conductance to CO<sub>2</sub>: an unappreciated central player in photosynthesis. *Plant Science* 193, 70–84.

Flexas J, Ribas-Carbó M, Díaz-Espejo A, Galmés J, Medrano H, 2008. Mesophyll conductance to CO<sub>2</sub>: current knowledge and future prospects. *Plant, Cell and Environment* 31, 602–621.

Griffiths H, Helliker BR, 2013. Mesophyll conductance: internal insights of leaf carbon exchange. *Plant, Cell and Environment* 36, 733–735.

Gu L, Pallardy SG, Tu K, Law BE, Wullschlegel SD, 2010. Reliable estimation of biochemical parameters from C3 leaf photosynthesis-intercellular carbon dioxide response curves. *Plant, Cell and Environment* 33, 1852–1874.

Grassi G, Magnani F, 2005. Stomatal, mesophyll conductance and biochemical limitations to photosynthesis as affected by drought and leaf ontogeny in ash and oak trees. *Plant, Cell and Environment* 28, 834–849.

Harley PC, Loreto F, Marco GD, Sharkey TD, 1992. Theoretical considerations when estimating the mesophyll conductance to CO<sub>2</sub> flux by analysis of the response of photosynthesis to CO<sub>2</sub>. *Plant Physiology* 98, 1429–1436.

Korndörfer GH, Pereira HS, Nolla A, 2004. Análise de silício: solo, planta e fertilizante. *Boletim Técnico*. Uberlândia, Brazil: Universidade Federal de Uberlândia.

Li Y, Gao Y, Xu X, Shen Q, Guo S, 2009. Light-saturated photosynthetic rate in high-nitrogen rice (*Oryza sativa* L.) leaves is related to chloroplastic CO<sub>2</sub> concentration. *Journal of Experimental Botany* 60, 2351–2360.

Logan BA, Adams WW, Demmig-Adams B, 2007. Avoiding common pitfalls of chlorophyll fluorescence analysis under field conditions. *Function Plant Biology* 34, 853–859.

Ma JF, Tamai K, Yamaji N, Mitani N, Konishi S, Katsuhara M, Ishiguro M, Murata Y, Yano M, 2006. A silicon transporter in rice. *Nature* 440, 688–691.

Ma JF, Yamaji N, Mitani N, Tamai K, Konishi S, Fujiwara T, Katsuhara M, Yano M, 2007. An efflux transporter of silicon in rice. *Nature* 448, 209–212.

Maxwell K and Johnson GN, 2000. Chlorophyll fluorescence a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51, 659–668.

Matsuo T, Hoshikawa K, 1993. *Science of the rice plant: Morphology*. Tokyo, Food and Agriculture Policy Research Center, 688p.

Niinemets U, Cescatti A, Rodeghiero M, Tosens T, 2005. Leaf internal diffusion conductance limits photosynthesis more strongly in older leaves of Mediterranean evergreen broad-leaved species. *Plant, Cell and Environment* 28, 1552–1566.

Niinemets U, Cescatti A, Rodeghiero M, Tosens T, 2006. Complex adjustments of photosynthetic potentials and internal diffusion conductance to current and previous light availabilities and leaf age in Mediterranean evergreen species *Quercus ilex*. *Plant, Cell and Environment* 29, 1159–1178.

Niinemets U, Díaz-Espejo A, Flexas J, Galmés J, Warren CR 2009. Role of mesophyll diffusion conductance in constraining potential photosynthetic productivity in the field. *Journal of Experimental Botany* 60, 2249–2270.

OU SH, 1985. *Rice diseases*, 2.ed. Kew: Commonwealth Mycological Institute. 380 p.

- Oerke EC, 2006. Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science* 144, 31-43.
- Perez, CEA, Rodrigues FA, Moreira WR, DaMatta FM, 2014. Leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence in wheat plants supplied with silicon and infected with *Pyricularia oryzae*. *Phytopathology* 104, 143-149.
- Pons TL, Flexas J, von Caemmerer S, Evans JR, Genty B, Ribas-Carbó M, Brugnoli E, 2009. Estimating mesophyll conductance to CO<sub>2</sub>: methodology, potential errors and recommendations. *Journal of Experimental Botany* 60, 2217–2234.
- Prabhu AS, Filippi MCC, Ribeiro AS, 2006. Doenças e seu controle. In: Santos, A.B.; Stone, L.F.; Vieira, N.R.A. (Ed.). *A cultura do arroz no Brasil*. 2.ed. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA/CNPAP, p.561-590.
- Rodeghiero M, Niinemets Ü, Cescatti A, 2007. Major diffusion leaks of clamp-on leaf cuvettes still unaccounted: how erroneous are the estimates of Farquhar et.al. model parameters? *Plant, Cell and Environment* 30, 1006–1022.
- Resende RS, Rodrigues FA, Cavatte PC, Martins SCV, Moreira WR, Chaves GRM, DaMatta FM, 2012. Leaf gas exchange and oxidative stress in sorghum plants supplied with silicon and infected by *Colletotrichum sublineolum*. *Phytopathology* 102, 892-898.
- Rodrigues FA, Vale FXR, Datnoff LE, Prabhu AS, Korndorfer GH, 2003. Effect of rice growth stages and silicon on sheath blight development. *Phytopathology*, United States of America 93, 256-261.
- Rodrigues FA, McNally DJ, Datnoff LE, Jones JB, Labbé C, Benhamou N, 2004. Silicon enhances the accumulation of diterpenoid phytoalexins in rice: A potential mechanism for blast resistance. *Phytopathology* 94, 177-183.
- Rodrigues FA, Jurick WM, Datnoff LE, Jones JB, Rollins JA, 2005. Silicon influences cytological and molecular events in compatible and incompatible rice-

Magnaporthe grisea interactions. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 66, 144-159.

Sharkey TD, Bernacchi CJ, Farquhar GD, Singaas EL, 2007. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. *Plant, Cell and Environment* 30, 1035–1040.

Sampol B, Bota J, Riera D, Medrano H, Flexas J, 2003. Analysis of the virus-induced inhibition of photosynthesis in malmsey grapevines. *New Phytologist* 160, 403–412.

Sagardoy R, Vázquez S, Florez-Sarasa ID, Albacete A, Ribas-Carbó M, Flexas J, Abadía J, Morales F, 2010. Stomatal and mesophyll conductances to CO<sub>2</sub> are the main limitations to photosynthesis in sugar beet (*Beta vulgaris*) plants grown with excess zinc. *New Phytologist* 187, 145–158.

Scholes JD, Rolfe SA, 2009. Chlorophyll fluorescence imaging as tool for understanding the impact of fungal diseases on plant performance. *Functional Plant Biology* 36, 880–892.

Tatagiba SD, Rodrigues FA, Filippi MCC, Silva GB, Silva LC, 2014. Physiological responses of rice plants supplied with silicon to *Monographella albescens* infection. *Journal of Phytopathology* 162, 596–606.

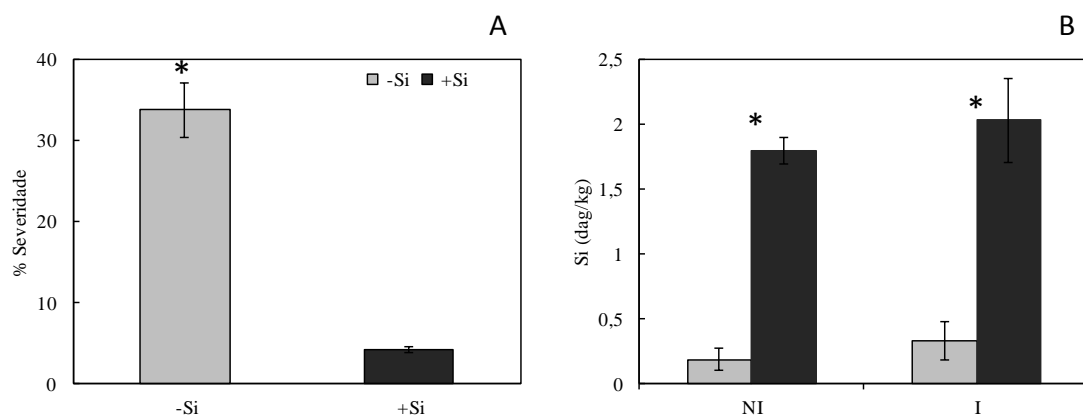
Tatagiba SD, DaMatta FM, Rodrigues FA, 2015. Leaf gas exchange and chlorophyll a fluorescence imaging of rice leaves infected with *Monographella albescens*. *Phytopathology* 105, 180-188.

Warren CR, 2008. Stand aside stomata, another actor deserves centre stage: the forgotten role of the internal conductance to CO<sub>2</sub> transfer. *Journal of Experimental Botany* 59, 1475–1487.

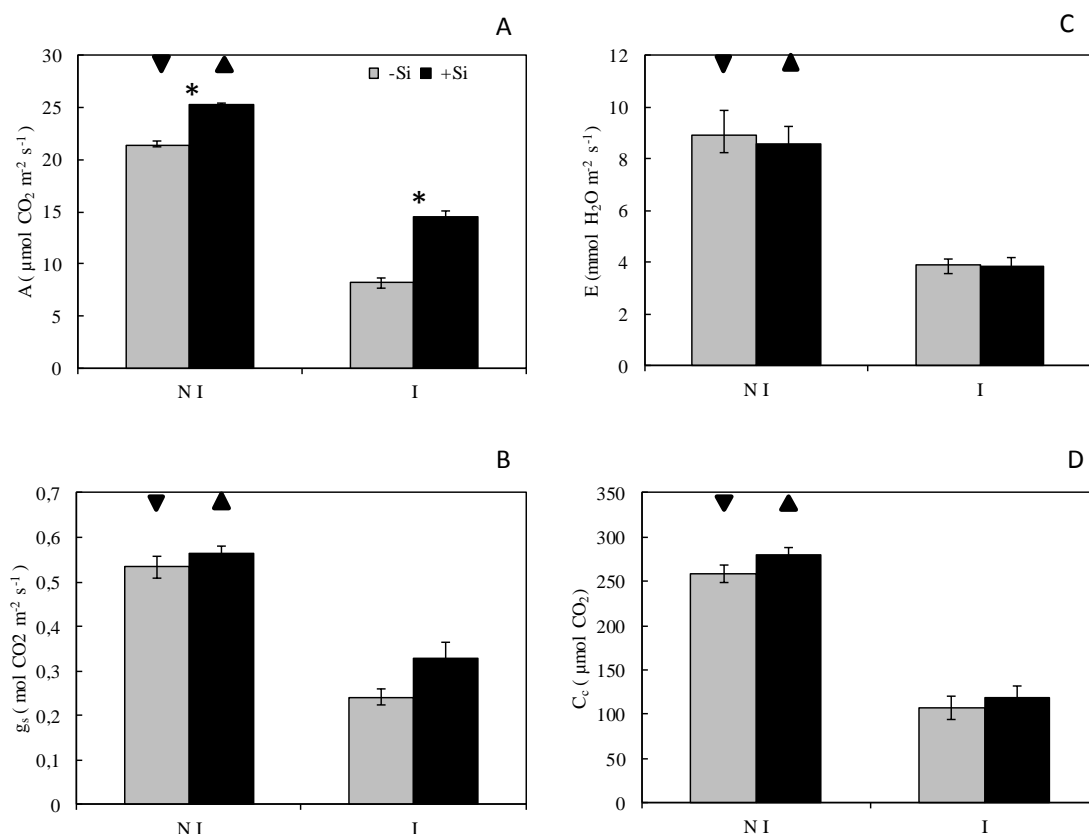
## APÊNDICE

**Tabela 1.** Resultados (significância) da análise de variância dos efeitos dos fatores inoculação das plantas (inoculação) e doses de silício (Si) na taxa líquida de assimilação de CO<sub>2</sub> (A), condutância estomática (g<sub>s</sub>), concentração de CO<sub>2</sub> nas cavidades subestomáticas (C<sub>i</sub>), concentração cloroplastídica de CO<sub>2</sub> (C<sub>c</sub>), taxa de transpiração (E), rendimento quântico máximo do fotossistema dois (PSII) (F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>), eficiência na captura da energia de excitação pelos centros de reação (F<sub>v</sub>'/F<sub>m</sub>'), taxa de transporte de elétrons (ETR), condutância mesofílica (g<sub>m</sub>), taxa de carboxilação máxima e taxa máxima de carboxilação limitada pelo transporte de elétrons ambiente e em base C<sub>i</sub> (V<sub>cmax</sub> C<sub>i</sub> e J<sub>max</sub> C<sub>i</sub>) e C<sub>c</sub> (V<sub>cmax</sub> C<sub>c</sub> e J<sub>max</sub> C<sub>c</sub>), limitação estomática (LS), limitação mesofílica (LM) e limitação bioquímica (LB).

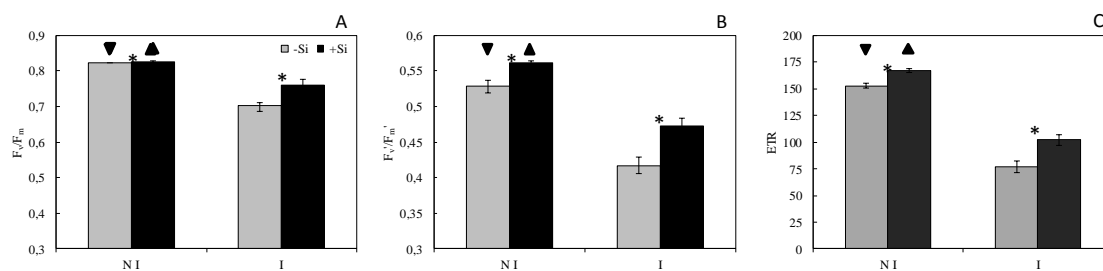
Parâmetros	Inoculação	Si	Inoculação× Si
A	< ,0001	< ,0001	0,5300
g <sub>s</sub>	< ,0001	0,1007	0,4085
C <sub>i</sub>	< ,0786	0,2403	0,6558
C <sub>c</sub>	0,0312	0,2328	0,7755
E	< ,0001	0,0671	0,1415
F <sub>v</sub> '/F <sub>m</sub> '	< ,0001	0,0016	0,3330
F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	< ,0001	0,0279	0,0374
φ <sub>PSII</sub>	< ,0001	0,0031	0,3503
ETR	< ,0001	0,0029	0,3421
g <sub>m</sub>	< ,0001	< ,0001	0,6081
V <sub>cmax</sub> C <sub>i</sub>	< ,0001	0,0099	0,8450
J <sub>max</sub> C <sub>i</sub>	0,0002	0,0013	0,3226
V <sub>cmax</sub> C <sub>c</sub>	0,0005	0,3342	0,5768
J <sub>max</sub> C <sub>c</sub>	0,0242	0,0774	0,7259
LS	0,0528	0,1425	0,8889
LM	0,0083	0,0320	0,2865
LB	0,1128	0,1928	0,3627



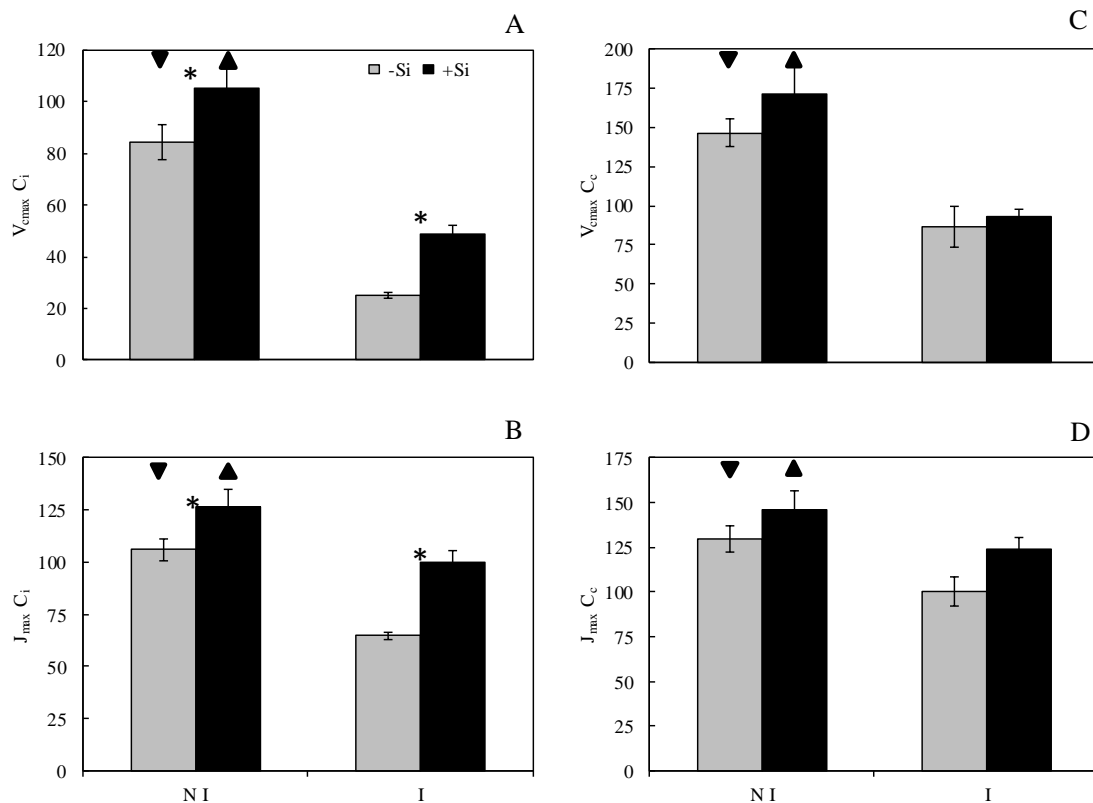
**Figura 1.** Severidade da escaldadura foliar (A) e concentração foliar de silício (Si) (B) em plantas de arroz cultivadas em solução nutritiva contendo 0 (-Si) ou 2 mM silício (Si) (+Si) e não inoculadas (NI) ou inoculadas (I) com *Microdochium oryzae*. Médias dos tratamentos -Si e +Si dentro de NI e I seguidas de um asterisco (\*) são significativamente diferentes pelo teste-t ao nível de 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média.



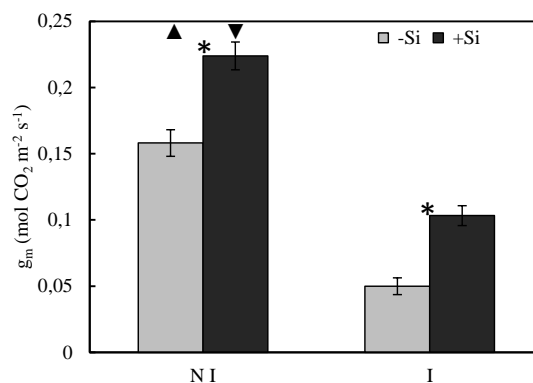
**Figura 2.** Taxa líquida de assimilação de CO<sub>2</sub> (A) (A), condutância estomática (g<sub>s</sub>) (B) taxa de transpiração (E) (C) e concentração cloroplastídica de CO<sub>2</sub> (C<sub>c</sub>) (D) em folhas de plantas de arroz cultivadas em solução nutritiva contendo 0 (-Si) ou 2 mM silício (Si) (+Si) e não inoculadas (NI) ou inoculadas (I) com *Microdochium oryzae*. Médias dos tratamentos -Si e +Si dentro de NI e I seguidas de um asterisco (\*) e entre os tratamentos NI e I dentro de -Si e +Si seguidos de um triângulo (▲) ou triângulo invertido (▼), respectivamente, são significativamente diferentes pelo teste-t ao nível de 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média.



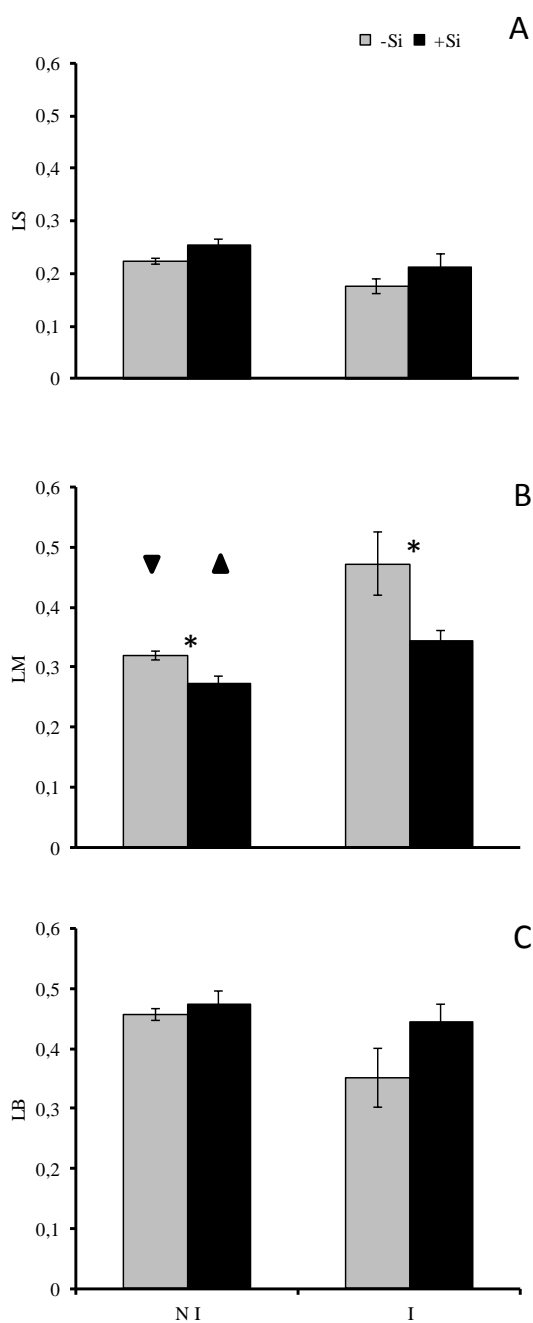
**Figura 3.** Rendimento quântico máximo do fotossistema dois (PSII) ( $F_v/F_m$ ) (A), eficiência na captura de energia de excitação pelos centros de reação abertos do PSII ( $F_v'/F_m'$ ) (B) e taxa de transporte de elétrons (ETR) (C) em folhas de plantas de arroz cultivadas em solução nutritiva contendo 0 (-Si) ou 2 mM silício (Si) (+Si) e não inoculadas (NI) ou inoculadas (I) com *Microdochium oryzae*. Médias dos tratamentos -Si e +Si dentro de NI e I seguidas de um asterisco (\*) e entre os tratamentos NI e I dentro de -Si e +Si seguidos de um triângulo (▲) ou triângulo invertido (▼), respectivamente, são significativamente diferentes pelo teste-t ao nível de 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média.



**Figura 4.** Taxa de carboxilação máxima e taxa máxima de carboxilação limitada pelo transporte de elétrons em base  $C_i$  ( $V_{\text{max}} C_i$  e  $J_{\text{max}} C_i$ ) (A e B) e em base  $C_c$  ( $V_{\text{max}} C_c$  e  $J_{\text{max}} C_c$ ) (C e D) em folhas de plantas de arroz cultivadas em solução nutritiva contendo 0 (-Si) ou 2 mM silício (Si) (+Si) e não inoculadas (NI) ou inoculadas (I) com *Microdochium oryzae*. Médias dos tratamentos -Si e +Si dentro de NI e I seguidas de um asterisco (\*) e entre os tratamentos NI e I dentro de -Si e +Si seguidos de um triângulo (▲) ou triângulo invertido (▼), respectivamente, são significativamente diferentes pelo teste-t ao nível de 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média.



**Figura 5.** Condutância mesofílica ( $g_m$ ), calculada pelo método de Harley (1992) e normalizada para 25°C, em folhas de plantas de arroz cultivadas em solução nutritiva contendo 0 (-Si) ou 2 mM silício (Si) (+Si) e não inoculadas (NI) ou inoculadas (I) com *Microdochium oryzae*. Médias dos tratamentos -Si e +Si dentro de NI e I seguidas de um asterisco (\*) e entre os tratamentos NI e I dentro de -Si e +Si seguidos de um triângulo (▲) ou triângulo invertido (▼), respectivamente, são significativamente diferentes pelo teste-t ao nível de 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média.



**Figura 6.** Análise quantitativa da limitação estomática (LS) (A), limitação mesofílica (LM) (B) e limitação bioquímica (LB) (C) em folhas de plantas de arroz cultivadas em solução nutritiva contendo 0 (-Si) ou 2 mM silício (Si) (+Si) e não inoculadas (NI) ou inoculadas (I) com *Microdochium oryzae*. Médias dos tratamentos -Si e +Si dentro de NI e I seguidas de um asterisco (\*) e entre os tratamentos NI e I dentro de -Si e +Si seguidos de um triângulo (▲) ou triângulo invertido (▼), respectivamente, são significativamente diferentes pelo teste-t ao nível de 5% de probabilidade. Barras representam o erro padrão da média.