

WILER RIBAS MOREIRA

**TROCAS GASOSAS E ATIVIDADE DE ENZIMAS DE DEFESA EM PLANTAS DE
ARROZ INFECTADAS POR *BIPOLARIS ORYZAE* E SUPRIDAS COM MAGNÉSIO**

**RECIFE-PE
FEVEREIRO – 2012**

WILER RIBAS MOREIRA

TROCAS GASOSAS E ATIVIDADE DE ENZIMAS DE DEFESA EM PLANTAS DE ARROZ INFECTADAS POR BIPOLARIS ORYZAE E SUPRIDAS COM MAGNÉSIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Orientador: Clistenes Willams Araújo do Nascimento

Co-Orientador: Fabrício Ávila Rodrigues

Co-Orientador: Delson Laranjeira

RECIFE-PE
Fevereiro – 2012

TROCAS GASOSAS E ATIVIDADE DE ENZIMAS DE DEFESA EM PLANTAS DE ARROZ INFECTADAS POR *BIPOLARIS ORYZAE* E SUPRIDAS COM MAGNÉSIO

WILER RIBAS MOREIRA

Dissertação _____ e _____ pela Banca Examinadora em: ____/____/____

ORIENTADOR:

Prof.º Dr. Clístenes Williams Araújo do Nascimento (UFRPE)

EXAMINADORES:

Prof. Ph. D. Fabrício Ávila Rodrigues (UFV)

Prof.º Dr. Delson Laranjeira

Prof.º Dr. Sami Jorge Michereff

RECIFE-PE
Fevereiro – 2012

Dédico os meus pais Arlino e Vaninha, e as minhas irmãs Wildma e Wislheyd, por todo amor e compreensão em todo este tempo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primariamente a Deus por mais esta oportunidade.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, ao Departamento de Fitopatologia e ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, pela disponibilidade da vaga.

A Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Fitopatologia e ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, por proporcionarem condições de realizar este trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pelo apoio financeiro.

A Fundação de Amparo Científico e de Pesquisa do Estado de Pernambuco – FACEP, pelo apoio financeiro para a realização de parte do trabalho na Universidade Federal de Viçosa.

Ao Professor Clístenes Wiililans Araujo do Nascimento pela orientação e amizade.

Ao Professor Fabrício Ávila Rodrigues pela orientação, amizade, e por seu exemplo de profissionalismo e competência.

Aos estudantes Jonas, Daniel, Wilka, Camila e Kelly pela amizade, companheirismo e ajuda na execução dos experimentos.

Aos meus pais, Vaninha e Arlindo Martins Moreira, e as minhas irmãs Wildma e Wislheyd, pelo apoio incondicional, dedicação e carinho.

A todos os professores que contribuíram para o meu aprendizado e formação profissional.

Aos colegas de mestrado, pelo companheirismo e amizade.

A todos os colegas de trabalho do Laboratório da Interação Planta-Patógeno, pela amizade, apoio e ajuda na execução dos experimentos.

Aos funcionários Bruno e Antônio Macabeu pela demonstração de boa vontade e ajuda durante a execução desse trabalho.

A Dr. Renata Resende, pela ajuda na determinação das atividades enzimáticas.

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram para realização desse trabalho.

SUMÁRIO

| | |
|--|-----|
| Conteúdo | |
| AGRADECIMENTOS..... | i |
| SUMÁRIO..... | ii |
| RESUMO GERAL..... | iii |
| GENERAL ABSTRACT | iv |
| Capítulo 1 | 10 |
| 1. INTRODUÇÃO GERAL | 11 |
| 1.1. A importância da cultura do arroz..... | 11 |
| 1.2. A mancha parda do arroz..... | 12 |
| 1.3. A nutrição mineral das plantas, com ênfase no magnésio (Mg), e a eficiência fotossintética de plantas infectadas por patógenos | 14 |
| 1.4. Indução de resistência e mecanismos de defesa em plantas | 17 |
| 2. Referências Bibliográficas..... | 18 |
| Capítulo II..... | 27 |
| Resumo | 28 |
| ABSTRACT | 29 |
| 1. Introdução..... | 31 |
| 2. Material e Métodos | 32 |
| Preparo da solução nutritiva e crescimento das plantas de arroz:..... | 32 |
| Inoculação das plantas com <i>B. oryzae</i> | 32 |
| Avaliação do período de incubação (PI), do número de lesões (NL) por cm ² de área foliar e da severidade da mancha parda | 33 |
| Determinação da concentração de aldeído malônico (MDA): | 33 |
| Determinação da concentração de pigmentos fotossintéticos: | 33 |
| Determinação da atividade das enzimas peroxidases (POX, EC 1.11.1.7), polifenoloxidasas (PFO, EC 1.10.3.1), quitinases (QUI, EC 3.2.1.14), β-1,3-glucanases (GLU, EC 3.2.1.6) e fenilalanina amônia-liase (FAL, EC 4.3.1.5): | 34 |
| Determinação dos parâmetros relacionados com as trocas gasosas: | 36 |
| Determinação da concentração foliar de Mg:..... | 36 |
| Delineamento experimental e análise estatística dos dados | 37 |
| 3-Resultados | 38 |
| Concentração foliar de Mg: | 38 |
| PI, NL por cm ² de área foliar e AACPMP..... | 38 |
| Concentração de MDA..... | 38 |
| Atividade de enzimas de defesa..... | 38 |
| Concentração de pigmentos..... | 39 |
| Parâmetros relacionados com as trocas gasosas | 40 |
| 5-Referências Bibliográficas. | 44 |
| Tabelas e Figuras | 49 |
| Conclusão | 67 |

RESUMO GERAL

A mancha parda, causada pelo fungo *Bipolaris oryzae*, é uma das doenças de maior importância na cultura do arroz. O objetivo desse estudo foi verificar o possível efeito do Mg nos parâmetros de trocas gasosas e na resistência, a nível bioquímico, de plantas de arroz infectadas por *B. oryzae*. Plantas de arroz (cv. Metica-1) foram crescidas em solução nutritiva contendo 0,25; 0,5, 1,0, 2 e 4 mM de Mg. Aos 35 dias após semeadura, as plantas foram inoculadas com uma suspensão contendo 1×10^4 conídios de *B. oryzae* mL⁻¹. Foram avaliados o período de incubação (PI), o número de lesões (NL) por cm² de área foliar, a severidade e a concentração foliar de Mg. Os dados de severidade foram usados para calcular a área abaixo da curva do progresso da mancha parda (AACPMP). Além disso, para as análises bioquímicas e fotossintética foram utilizadas somente três níveis baixo intermediário e alto correspondendo as doses 0,25; 2,5 e 4 mM de Mg, e foram avaliados a concentração de aldeído malônico (MDA), a atividade das enzimas peroxidases (POX), polifenoloxidasas (PFO), quitinases (QUI) e β -1,3-glucanases (GLU) e fenilalanina amônia-liases (FAL), além da concentração de pigmentos fotossintéticos, clorofila *a* (Cl_a), clorofila *b* (Cl_b) e carotenóides (Car) e os parâmetros relacionados com as trocas gasosas (taxa de assimilação líquida de CO₂ (A_{max}), condutância estomática (g_s), concentração interna de CO₂ (C_i) e a razão entre a concentração interna e ambiente de CO₂ (C_i/C_a)). A concentração de Mg nos tecidos aumentou com o acréscimo da dose. Os resultados obtidos nesse estudo permitem concluir que a magnitude no controle da mancha parda do arroz pelo Mg, avaliada por meio de alguns componentes de resistência, foi dependente da concentração desse elemento na folha. Houve um aumento da atividade de algumas enzimas, mais não tendo uma diferença expressiva entre as doses empregadas. Houve diferença entre a concentração de Cl_a entre as doses empregadas e inoculadas ou não com o fungo *B. oryzae*, nos demais Cl_b, Cl_{total} e Car não houve uma diferença expressiva entre as doses empregadas e também em relação as inoculadas ou não observou a mesma tendência. Houve diferença entre as plantas sadias e inoculadas parâmetros A_{max} , g_s , C_i e C_i/C_a , mais em relação as doses empregadas não houve diferença significativa, mesmo com a concentração tendo aumentado nos tecidos.

Palavras-chave: *Bipolaris oryzae*, doses de Mg, enzimas de defesa, fotossíntese

GENERAL ABSTRACT

Brown spot, caused by the fungus *Bipolaris oryzae*, is one of the most important diseases in rice. The aim of this study was to test the possible effect of Mg in the gas exchange parameters and the resistance, at the biochemical level, of rice plants infected by *B. oryzae*. Rice plants (cv. Metica-1) were grown in nutrient solution containing 0.25, 2.5, and 4 mM Mg. At 35 days after sowing, plants were inoculated with a suspension containing 1×10^4 conidia of *B. oryzae* mL⁻¹. It was evaluated the incubation period (IP), the number of lesions (NL) per cm² of leaf area, disease severity, and the foliar concentration of Mg. Data from severity was used to calculate the area under the curve of brown spot progress (AUBSPC). In addition, it was evaluated the concentration of malonic aldehyde (MDA), the activity of the enzyme peroxidases (POX), polyphenoloxidases (PPO), chitinases (CHI), β -1,3-glucanases (GLU), and phenylalanine ammonia-lyases (PAL), and the concentration of photosynthetic pigments, chlorophyll *a* (Cl_a), chlorophyll *b* (Cl_b), and carotenoids (Car) and the parameters related to gas exchange (rate of net CO₂ assimilation (A_{max}), stomatal conductance (g_s), internal CO₂ concentration (C_i), and the ratio between internal and ambient concentration of CO₂ (C_i/C_a)). Moreover, for biochemical analyzes and were used only three fotossitética lowlevels corresponding to the intermediate and high dooses 0.25, 2.5 and 4 mM Mg, and forarm evaluated the concentration of malondialdehyde (MDA), the enzyme activity peroxidase (POX), polyphenol oxidase (PPO), chitinase (CHI) and β -1,3-glucanase (GLU) and phenylalanine ammonia lyase (PAL), and the concentration of photosynthetic pigments, chlorophyll *a* (Cl_a), chlorophyll *b* (Cl_b)and carotenoids (C_{ar}) and the parameters related to gas exchange (rate of net CO₂ assimilation (A_{max}), stomatal conductance (g_s), intercellular CO₂ concentration (C_i) and the ratio of internal concentration and ambient CO₂(C_i/C_a)). The Mg content in tissues increased with increasing dose. The results of this study indicate that the magnitude in the control of brown spot of rice by Mg, evaluated by means of some components of resistance was dependent on the concentration of this element in leave. There was an increase in the activity of some enzymes, no more having a significant difference between doses employed. There was difference between the concentration of CL_b between dosage and inculadas or not with the fungus *B.oryzae* in other Cl_b, Cl_{total} and C_{ar} and there was no significant difference among the doses and in relationship or not those inoculated same trend. However, the same difference between healthy plants and inoculated parameters A_{max} , g_s , C_i and C_i/C_a , more than in the doses used there was no significant difference, even with their sing concentration in the tissue.

Keywords: *Bipolaris oryzae*, doses of Mg, defense enzymes, fotossintese

Capitulo 1



Introdução Geral

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. A importância da cultura do arroz

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais de maior valor social devido seu produto ser de importância para a segurança alimentar, geração de renda e estabilidade política dos países produtores. O arroz é responsável por cerca de 70% do consumo diário de alimento pela população mundial . Em diversos países, o arroz supre, aproximadamente, 27% da energia e 20% das proteínas diárias necessárias à população, além de ser fonte de várias vitaminas (BARATA; PEROZZI, 2004). O consumo mundial de arroz de 314,23 milhões de toneladas em 1985 atingiu um total de 434,12 milhões de toneladas em 2009, mostrando um expressivo crescimento de 38,1% nesse período (VIEIRA, 2010). O continente Asiático é o maior consumidor desse grão, com 79 kg/habitante/ano, seguido pela América do Sul, com 30 kg/habitante/ano, o Africano com 19 kg/habitante/ano, América Central e Caribe juntamente com a Oceania com 17 kg/habitante/ano e finalmente a Europa com 4 kg/habitante/ano (VIEIRA, 2010).

No Brasil, o arroz é um dos principais cereais produzidos. Na safra 2010/2011, a cultura ocupou uma área de aproximadamente três milhões de hectares, atingindo uma produção de 12,7 milhões de toneladas, tendo um aumento de 8,3% em relação à safra de 2009/2010 com produtividade média inferior 4.300 kg por hectare (CONAB, 2011). Essa produtividade está muito abaixo do potencial genético das cultivares de arroz usado atualmente, com produção na ordem de 11 toneladas por ha (CONAB, 2011).

Todos os Estados do Nordeste são produtores de arroz. No entanto, dados divulgados pelo IBGE, através da Produção Agrícola Municipal (PAM) 2008, demonstram que mais de 3/4 da produção regional provém do Oeste de seu território, particularmente da região de cerrados, sendo o Maranhão (58,9%) e o Piauí (19,3%) os dois principais Estados produtores. Ceará (8,4%) e Sergipe (5,0%), apesar de terem participações menores, também possuem áreas com produção expressiva de arroz.

A produção de arroz no Nordeste é relativamente distribuída, tendo o IBGE registrado a sua presença em 708 (39,5%) dos 1.793 municípios da região em 2008. Registra-se, contudo, que 90% da produção é obtida em apenas 221 municípios. Além disso, os dez principais municípios produtores de arroz somam 15,4%, dos quais 5 estão localizados no Maranhão e 3 no Piauí. Dessa lista, destaca-se a participação de Cabrobó, responsável por 67,1% da produção de arroz de Pernambuco, e de Propriá, responsável por cerca de 30% da produção sergipana de arroz.

1 Em 2008, segundo o IBGE, o valor da produção de arroz no Nordeste foi de R\$ 832,4
2 milhões, que corresponde a 11,9% do Valor da Produção desta atividade no Brasil. Em 2008,
3 para uma área colhida de 688.145 ha, obteve-se a produção de 1,16 milhão de toneladas, o
4 que equivale à produtividade média de 1,69 toneladas/ha.

6 **1.2. A mancha parda do arroz**

7 A mancha parda, causada pelo fungo *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker, é
8 uma das doenças de maior importância na cultura do arroz e está amplamente distribuída nas
9 regiões orizícolas do mundo, sendo particularmente importante nas regiões tropicais (OU,
10 1972). Em termos de perdas, a doença carrega o estigma de ter causado a famosa “fome de
11 Bengala” em 1942 (LEE, 1992). Embora a mancha parda tenha expressado seu potencial
12 destrutivo naquela ocasião, as perdas atribuídas a essa doença não são tão drásticas, pois
13 estão em função da suscetibilidade das cultivares de arroz utilizadas e pela ocorrência de
14 condições ambientais favoráveis ao progresso da doença (OU, 1985). A importância da
15 mancha parda tem sido subestimada pelo fato de ser frequentemente confundida com a
16 brusone.

17 Os danos associados pela mancha parda são decorrentes da infecção do fungo nos grãos,
18 da redução na germinação das sementes, da morte de plântulas originadas de sementes
19 infectadas e da destruição de área foliar (OU, 1985). Redução da ordem de 30% na produção
20 de grãos já foi relatada para as condições do norte do Brasil. A mancha parda normalmente
21 ocorre em arroz cultivado em condições de sequeiro ou irrigado (IRGA, 2003).

22 Os sintomas da mancha parda são encontrados nas folhas e nos grãos, embora possam
23 ser observados também no coleóptilo, nas ramificações da panícula e na bainha (OU, 1985).
24 As lesões são inicialmente pequenas, circulares, de coloração marrom-escura ou marrom-
25 púrpura evoluindo para formato ovalado com coloração marrom-claro, halo amarelo-claro e
26 com um centro cinza, onde podem ser encontrados os conídios de *B. oryzae* (NYVALL,
27 1989; LEE, 1992; RIBEIRO; SPERANDIO, 1998). Nos grãos, as manchas são de coloração
28 marrom-escuro ou marrom-avermelhado, cobrindo parcial ou totalmente a superfície dos
29 grãos. Os grãos, sob condições de alta umidade relativa, podem adquirir aparência aveludada
30 devido à produção de conídios. Nos grãos severamente atacados, a remoção das glumas
31 permite observar o escurecimento do endosperma (OU, 1985). O gessamento acarreta a
32 quebra dos grãos durante o beneficiamento, diminuindo, assim, o rendimento de grãos
33 inteiros (LEE, 1992). O coleóptilo originado de semente infectada por *B. oryzae* apresenta
34 pequenas manchas de coloração marrom-avermelhada ou estrias e pode não desenvolver.

1 Nas plântulas, o fungo produz lesões pequenas, circulares, marrons, que podem circundar o
2 coleóptilo e causar contorção das folhas primária e secundária (NYVALL, 1989; LEE,
3 1992).

4 A sobrevivência de *B. oryzae* pode ocorrer nos restos culturais, sementes infectadas ou
5 infestadas por até quatro anos e também em várias espécies de plantas hospedeiras (OU,
6 1985; LEE, 1992). Embora a disseminação do patógeno ocorra por restos culturais e pelo
7 vento, a forma mais eficiente é a semente contaminada (OU, 1985). Durante a germinação
8 das sementes, o micélio de *B. oryzae*, dormente no seu interior, causa lesões que se
9 desenvolvem nas raízes e no coleóptilo (NYVALL, 1989). Os níveis de transmissão de *B.*
10 *oryzae* para o coleóptilo e plúmula podem ser de até 80% causando a morte das plântulas
11 (TOLEDO et al., 2006). Dessas lesões ou a partir do inóculo transportado pelo vento,
12 ocorrem as lesões foliares e, posteriormente, a infecção dos grãos (OU, 1985).

13 A mancha parda ocorre com maior frequência em plantas cultivadas em solos com
14 excesso ou deficiência de nitrogênio (FARIA; PRABHU, 1983; LEE, 1992), de potássio e
15 manganês (KAUR; PADMANABHAN, 1974), de magnésio, silício, ferro e cálcio (LEE,
16 1992). As plantas de arroz são suscetíveis à infecção em todos os estádios de
17 desenvolvimento (SHERF et al., 1947). A infecção por *B. oryzae* ocorre em condições de
18 temperatura de 16 a 36 °C, com ótimo a 25 °C (SHERF et al., 1947; PERCICH et al., 1997).
19 Fatores climáticos como chuvas intensas, alta umidade relativa, períodos prolongados de
20 nebulosidade e temperaturas amenas durante os estádios de florescimento e enchimento de
21 grãos foram correlacionados com epidemias severas da mancha parda (LEE, 1992). Períodos
22 de molhamento prolongados tendem a aumentar o número de lesões da mancha parda por
23 unidade de área foliar (PERCICH et al., 1997).

24 A germinação dos conídios de *B. oryzae* é observada a partir de oito horas após serem
25 depositados na superfície foliar de plantas de arroz (TULLIS, 1935; OU, 1985). A
26 penetração direta é mais frequente do que pelos estômatos e ocorre sem a formação de
27 apressório (OU, 1985). Nas células infectadas pelo fungo, os cloroplastos entram em
28 degradação seguida de colapso celular (LEE, 1992). Os sintomas da mancha parda surgem
29 18 horas após a inoculação das plantas com *B. oryzae* (TULLIS, 1935).

30 A utilização de medidas de controle culturais como a rotação de culturas e a eliminação
31 de plantas hospedeiras têm efeito negativo sobre os principais patógenos foliares. No
32 entanto, para *B. oryzae* esta medida tem pouco efeito prático devido à ampla gama de
33 hospedeiros alternativos, sendo conhecidas mais de 20 espécies de plantas hospedeiras
34 (NELSON,; KLINE, 1961).

1 O controle químico tem apresentado resultados satisfatórios para a maioria das
2 doenças foliares do arroz, porém há problemas ambientais e econômicos decorrentes da
3 aplicação de pesticidas, que se maximizam quando se consideram a extensão das áreas com
4 cultivo irrigado por inundação. Nesse contexto, a potencialização das defesas bioquímicas da
5 planta mostra-se como alternativa para reduzir os danos causados pelos patógenos sem
6 agressão ao meio ambiente.

8 **1.3. A nutrição mineral das plantas, com ênfase no magnésio (Mg), e a eficiência** 9 **fotossintética de plantas infectadas por patógenos**

10 A nutrição mineral é um dos fatores ambientais que mais influencia a resistência ou a
11 suscetibilidade das plantas às doenças (HUBER; GRAHAM, 1999). Por outro lado, os
12 patógenos também podem influenciar a absorção dos nutrientes pelas plantas. As causas e os
13 efeitos, contudo, são bastante complexos variando conforme o fertilizante ou o nutriente e
14 também de acordo com a interação planta-patógeno (POZZA et al., 2004; AMTMANN et
15 al., 2008). Os nutrientes minerais atuam de forma muito variada na resposta das plantas ao
16 ataque de patógenos, pois muitos nutrientes são co-fatores enzimáticos, ativadores,
17 inibidores e moduladores de vários processos metabólicos. Adicionalmente, a nutrição
18 mineral contribui com a composição da organização estrutural, ou seja, com a anatomia dos
19 órgãos da planta do que por um efeito secundário auxiliando na resistência da planta às
20 doenças (HUBER; GRAHAM, 1999).

21 Associa-se muito a intensidade da mancha parda do arroz à condição fisiológica da
22 planta, a qual é totalmente dependente de seu estado nutricional (OU, 1985). No Japão,
23 plantas crescidas em solos arenosos, turfosos e com baixos teores de nutrientes foram mais
24 suscetíveis à mancha parda, que é comum em solos distróficos e isso muitas vezes dificulta a
25 separação da verdadeira causa da perda em produtividade, seja pela doença ou pela
26 deficiência nutricional (OU, 1985). (TAKAHASHI, 1967) observou que a deficiência de Si,
27 K, Mn e Mg favoreceu a ocorrência da mancha parda nas plantas de arroz e que a aplicação
28 de escórias de siderurgia contendo Si, Ca, Mg e Mn foi eficiente em reduzir os sintomas da
29 doença. (ZANÃO JÚNIOR et al., 2009) observaram aumento da resistência do arroz a
30 mancha parda com a aplicação de Si do que pelo Mn. (OU, 1985) e (BABA et al., 1953)
31 reportaram que a deficiência de Si e K e tanto a deficiência quanto o excesso de N aumentam
32 a severidade da mancha parda.

33 A função do Mg na planta está relacionada com a sua capacidade para interagir com
34 ligantes nucleofílicos (ex. grupos fosforil) através de ligações iônicas e atuar como um

1 elemento de ligação e ou formar complexos de diferente estabilidade (ORIT SHAUL, 2002).
2 O Mg forma um composto ternário com enzimas na qual a ligação de cátions é necessária
3 para estabelecer uma geometria precisa entre enzima e substrato como, por exemplo, a RuBP
4 carboxilase (HERMANS et al., 2005). Uma grande proporção do Mg total está envolvido na
5 regulação do pH celular e no balanço cátion-ânion. Nas folhas, a principal função do Mg é
6 certamente como átomo central da molécula da clorofila. Dependendo da concentração de
7 Mg na planta, cerca de 6 a 25% do Mg total está ligado às moléculas de clorofila, de 5 a 10%
8 do Mg total nas folhas está firmemente ligados a pectatos na parede celular ou precipitados
9 como sal solúvel no vacúolo (como fosfato) e o restante 60 a 90% é extraível em água
10 (TAIZ, L.; ZEIGER, E., 2004). Na maioria dos casos, o crescimento das plantas é reduzido e
11 os sintomas visuais de deficiência de Mg ocorrem quando a proporção desse macronutriente
12 na clorofila excede de 20 a 25%. A semelhança do fósforo inorgânico (Pi), o principal local
13 de armazenamento do Mg é o vacúolo, que tem grande importância na homeostase do "pool"
14 metabólico e também no balanço cátion-ânion e regulação do turgor das células (TAIZ, L.;
15 ZEIGER, E., 2004).

16 A inserção do Mg dentro da estrutura porfirínica como o primeiro passo da
17 biossíntese de clorofila é caracterizada pela quelatase do magnésio, a qual necessita de ATP
18 e Mg. A quebra da clorofila requer duas enzimas, as quais são a dequelatase do Mg que
19 produz feofitina e a clorofilase para defitilação da porfirina. O Mg tem uma função essencial
20 como um elemento de ligação para a agregação das subunidades do ribossomo, processo este
21 necessário para a síntese de proteína, atividade da RNA polimerase e formação do RNA do
22 núcleo (ORIT SHAUL, 2002). Nas células da folha, no mínimo 25% da proteína total está
23 localizada nos cloroplastos, explicando porque a deficiência de Mg pode afetar o tamanho, a
24 estrutura e a função dos cloroplastos, incluindo o processo de transferência de elétrons no
25 fotossistema II.

26 Em plantas deficientes em magnésio, a redistribuição das folhas velhas para as novas
27 é aumentada e o sintoma de deficiência aparece nas folhas, indicando aumento na taxa de
28 degradação de proteína, incluindo proteínas estruturais dos tilacóides (CAKMAK, YASICI,
29 2010). O enfraquecimento na exportação de fotoassimilados é outro fator conduzindo ao
30 aumento na degradação da clorofila em folhas deficientes em Mg.

31 Várias enzimas e inúmeras reações enzimáticas requerem o Mg como co-fator. A
32 maioria das reações dependentes de Mg podem ser categorizadas pelo tipo de reação como a
33 transferência de fosfato (ex. fosfatases e ATPases) ou de grupos carboxil (ex. carboxilases)
34 (HERMANS et al., 2005). Nestas reações, o Mg é preferencialmente ligado ao nitrogênio e

1 grupos fosforil como é o caso do ATP. O substrato para as ATPases, bem como para as
2 PPIases inorgânicas é o Mg-ATP mais do que o ATP livre (ORIT SHAUL, 2002). Este
3 complexo pode ser usado pelo sítio ativo das ATPases para a transferência do grupo fosforil
4 de alta energia (ex. ATPase liga à membrana). Em células meristemáticas de raízes com
5 suficiente teor de Mg, cerca de 90% de ATP citoplasmático é complexado ao Mg. A síntese
6 de ATP tem um requerimento absoluto pelo Mg como um componente de ligação entre o
7 ADP e a enzima. A síntese de ATP em cloroplastos isolados (fotofosforilação) é aumentada
8 consideravelmente pelo suprimento extremo de Mg. Outra reação celular que necessita do
9 Mg é a modulação da RuBP carboxilase (ribulose 1,5 bisfosfato oxidase/carboxilase -
10 Rubisco) no estroma do cloroplasto. A atividade dessa enzima é altamente dependente de
11 Mg e do pH celular. O Mg ligando-se à essa enzima aumenta sua afinidade pelo substrato
12 (CO₂) e a taxa de nova síntese da enzima (ORIT SHAUL, 2002). Nos cloroplastos, a atuação
13 da RuBP carboxilase está relacionado ao incremento do pH e da concentração de Mg no
14 estroma. Durante a iluminação, os H⁺ são bombeados do estroma para dentro do lúmen do
15 tilacóide criando um gradiente de H⁺ no estroma requerido para a síntese de ATP. Este
16 transporte de H⁺ é contrabalançado pelo Mg do lúmen para o estroma tornando-o mais
17 alcalino. Alterações no pH e na concentração de Mg é suficiente para aumentar a atividade
18 da rubisco e de outras enzimas do estroma que dependem da concentração de Mg e do pH
19 acima de 6 (WU, W. H.; BERKOWITZ, G. A, 1992b)

20 Características fotossintéticas tais como as trocas gasosas e os parâmetros da
21 fluorescência da clorofila *a* tem sido considerados indicadores eficientes do comportamento
22 do aparato fotossintético quando as plantas são submetidas ao ataque por patógenos
23 (BAKER,; ROSENQUVIST, 2004; BERGER et al., 2007). Plantas infectadas por fungos,
24 bactérias e vírus usualmente exibem redução na taxa fotossintética (HERMANS et al.,
25 2005). Anormalidades na forma e função dos cloroplastos nos tecidos doentes normalmente
26 estão associados com a diminuição na fosforilação fotossintética (BERGHAUS et al., 1985),
27 reações fotoquímicas (MATHRE, 1968) e assimilação do dióxido de carbono (LOPES,;
28 BERGER, 2001). Essas mudanças são frequentemente associadas com reduções na
29 concentração de clorofila (BERGHAUS *et al.*, 1985), na diminuição na condutância do
30 mesófilo, na redução na atividade da ribulose-1,5-bifosfato carboxilase (MEYER et al.,
31 2001) e também no aumento na concentração de sacarídeos nas folhas (LIVNE et al., 1966).
32 A redução na fotossíntese é aparentemente relacionada com a relação trófica na interação
33 patógeno-hospedeiro (LEE, 1992). O impacto da infecção por patógenos fúngicos na
34 fotossíntese está associado com a fase necrotrófica deses, onde não ocorre inibição na

1 assimilação líquida do CO₂ nos tecidos necrosados, mas ocorre diminuição na atividade
2 fotossintética da área verde que se encontra envolta do sítio de infecção, fechamento dos
3 estômatos, redução da transpiração e na atividade da rubisco (MEYER et al., 2001).

5 **1.4. Indução de resistência e mecanismos de defesa em plantas**

6 A indução de resistência em plantas contra fitopatógenos representa um método
7 alternativo no controle de doenças, a qual ativa os mecanismos de defesa latentes na planta.
8 A defesa induzida envolve um sistema de vigilância da planta hospedeira, que reconhece de
9 alguma forma o contato estabelecido com o patógeno, seguido pela transdução de sinais,
10 alertando sobre a presença do mesmo, e por fim, envolve a expressão de genes relacionados
11 à defesa (LAMB et al., 1989).

12 A resistência de um hospedeiro, dentro do contexto da fisiologia do parasitismo, pode
13 ser definida como a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada e/ou a subsequente
14 atividade de um patógeno em seus tecidos. Cada interação hospedeiro-patógeno pode ser
15 encarada como uma luta entre dois organismos pela sobrevivência. As plantas podem se
16 defender dos agentes fitopatogênicos passiva ou ativamente. Os fatores de resistência pré-
17 formados incluem aqueles já presentes nas plantas antes do contato com os patógenos. No
18 caso dos pós-formados, estes se mostram ausentes ou presentes em baixos níveis antes da
19 infecção, sendo produzidos ou ativados em resposta à presença dos patógenos. Dentre esses
20 fatores estão as respostas bioquímicas que ocorrem nas células do hospedeiro produzindo
21 substâncias que se mostram tóxicas ao patógeno ou criando condições adversas para o
22 crescimento do mesmo no interior da planta (PASCHOLATI; LEITE, 1995).

23 Diversos mecanismos podem ser ativados durante o fenômeno de indução de resistência
24 (CAVALCANTI et al., 2005). A comparação dos níveis de síntese de proteínas entre tecidos
25 infectados e sadios revela que os tecidos infectados sofrem aumento considerável desta
26 atividade. A planta procura ativar todas as rotas de defesa para evitar o estabelecimento de
27 relações parasitárias e o patógeno tenta anular o efeito inibitório gerado (GÓMEZ-GOMEZ,
28 2004). Enzimas envolvidas na respiração, enzimas envolvidas com a fotossíntese e enzimas
29 relacionadas com o metabolismo de fenilpropanóides exibem aumentos na atividade em
30 tecidos infectados e têm sido sistematicamente correlacionadas com a ativação de
31 mecanismos de reparo dos tecidos infectados e/ou injuriados (LEITE; PASCHOLATI,
32 1995).

1 Peroxidases (POXs) são proteínas de aproximadamente 50 kDa, que estão presentes
2 como múltiplas isoenzimas em tecidos vegetais (JEBARA et al., 2005). Estão associadas
3 com processos fisiológicos e bioquímicos como crescimento, formação

4 celular, desenvolvimento de frutos, biossíntese de etileno e resposta a vários estresses
5 (MATAMOROS et al., 2003). Elas participam de processos ligados à parede celular, tais
6 como oxidação de fenóis e lignificação de células vegetais hospedeiras durante a reação de
7 defesa contra agentes patogênicos (DATTA; MUTHUKRISHNAN, 1999).

8 As quitinases (CHI) catalisam a hidrólise da quitina (polímero de N-acetilglucosamina).
9 Nenhum substrato para este grupo de enzimas tem sido identificado em plantas, entretanto,
10 quitina é um componente da parede celular de fungos e exoesqueletos de artrópodes,
11 organismos que incluem muitos patógenos e pragas importantes (WEN-CHI et al., 1998). O
12 grupo de enzimas β -glucanases (GLU) possui massa molecular em torno de 35 kDa e
13 numerosas isoformas, diferindo em atividade catalítica, propriedades estruturais, localização
14 celular e padrões de regulação (ESQUERRE-TUGAYE et al., 2000).

15 Há evidências de que as β -glucanases exercem, no mínimo, duas funções no controle de
16 doenças. Elas são capazes de catalizar a degradação de paredes celulares de agentes
17 patogênicos de plantas, já que β -1,3-glucanos são componentes essenciais da parede celular
18 de patógenos e de liberarem oligossacarídeos biologicamente ativos (elicitores e supressores)
19 capazes de regular o estado de imunização da planta (HAHLBROCK et al., 1995).

20 A fenilalanina amônia liase (FAL) é a enzima chave do metabolismo de
21 fenilpropanóides, que catalisa a formação do ácido trans-cinâmico, precursor de vários
22 metabólitos de defesa vegetal (EL-SHORA, 2002; WEN et al., 2005). De fato, a via dos
23 fenilpropanóides é uma das mais importantes vias do metabolismo secundário vegetal, com a
24 produção de uma variedade de compostos fenólicos relacionados à defesa vegetal.

26 **2. Referências Bibliográficas.**

27 AMTMANN, A.; TROUFFLARD, S.; ARMENGAUD, P. The effect of potassium nutrition
28 on pest and disease resistance in plants. **Physiologia Plantarum**, Finland, v. 133, n. 4, p.
29 682-691, 2008.

30
31 AU TK.; CHICK, W.; LEUNG, P. C. Initial kinetics of the inactivation of calmodulin by the
32 fungal toxin ophiobolin A. **International Journal of Biochemistry Cell Biology**, London,
33 v. 32, n. 11, p. 1173-82, 2000.

- 1 BAKER, N. R, ROSENQVIST, E. Applications of chlorophyll fluorescence can improve
2 crop production strategies: an examination of future possibilities. **Journal of Experimental**
3 **Botany**, London, v.55, p. 1607-1621, 2004.
- 4
- 5 BARATA, T. S.; PEROZZI, M. A. Importância econômica do arroz no contexto mundial.
6 Disponível em: <<http://www.fao.org/rice2004/>>. Acesso em: 07 de Abril de 2004).
- 7
- 8 BERGER S, SINHA AK, ROITSCH T. Plant physiology meets phytopathology: plant
9 primary metabolism and plant-pathogen interactions. **Journal of Experimental Botany**,
10 **London**, v. 58, p.4019-4026. 2007
- 11
- 12 BERGHAUS R, REISNER H. J. in photosynthesis of wheat plants infected with wheat
13 stem rust (*Puccinia graminis* f.sp. *tritici*). **Phytopathology**, **Boston**, v. 112, p. 165-
14 172.1985
- 15 CAKMAK I, STRBOE, D, MARSCHNER, H. Activities of hydrogen peroxides scavenging
16 enzymes in germinating wheat seeds. **Journal of Experimental Botany**, London,v. 44, p.
17 127-132, 1993
- 18 CAKMAK, I.; HENGELER, C.; MARSCHNER, H.Changes in phloem export of sucrose in
19 leaves in response to phosphorus, potassium and magnesium deficiency in bean plants.
20 **Journal of Experimental Botany**, London, v. 45, 1251–1257.
- 21
- 22 CAVALCANTI, L. S.; BRUNELLI, K. R.; STANGARLIN, J. R. Aspectos bioquímicos e
23 moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L. S. et al. **Indução de resistência**
24 **em plantas a patógenos e insetos**, v. 13, p. 81-124, 2005.
- 25
- 26 CHANCE, B.; MAEHLEY, A. C. Assay of catalases and peroxidases.**Methods in**
27 **Enzymology**, New York, v. 2, p. 764-775, 1955.
- 28
- 29 COCUCCI, S. M.; MORGUITTIA, S.; COCUCIB, M.; GIANANI, L. Effects of
30 ophiobolin A on potassium permeability, transmembrane electrical potential and proton
31 extrusion in maize roots. **Plant Science Letters**, Amsterdam, v. 32, p. 9-16, 1983.
- 32
- 33 CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos, Nono Levantamento, Maio/2010.
34 Companhia Nacional de Abastecimento, Brasília: CONAB, 2010.

- 1
2 CORREA-VICTORIA, F. J.; ZEIGLER, R. S. Pathogenic variability in *Pyricularia grisea* at
3 a rice blast 'hot spot' breeding site in eastern Colômbia. **Plant Disease**, St. Paul, v. 77, n. 10,
4 p. 1029-34, 1993.
5
6 DALLAGNOL, L. J., RODRIGUES, F. Á., .MARTINS, S. C. V., CAVATTE, P. C.,
7 DAMATTA, F. M. Alterations on rice leaf physiology during infectionby *Bipolaris oryzae*.
8 **Australasian Plant Pathology Society**, Australia v.40, n. 1, p.: 360–365, 2011
9
10 DALLAGNOL, L. J., RODRIGUES, F. Á., MIELLI, M. V. B., MA, J. F., DATNOFF, L. E.
11 Defective active silicon uptake affects some components of rice resistance to brown spot.
12 **Phytopathology**, St. Paul v.101, n. 1, p.:92-104, 2011
13
14 DALLAGNOL, L. J., RODRIGUES, F. A., DAMATTA, F. M., MIELLI, M. V. B.,
15 PEREIRA, S. C. Deficiency in silicon uptake affects cytological, physiological, and
16 biochemical events in the rice–*Bipolaris oryzae* interaction. **Phytopathology**, St. Paul,
17 v.101, n. 1, p.:92-104, 2011
18
19 DATNOFF, L. E.; DEREN, C. W.; SNYDER, G. H. Silicon fertilization for diseases
20 management of rice in Florida. **Crop Protection**, Guildford, v. 16, n. 6, p. 525-531, 1997.
21
22 DATNOFF, L. E.; RODRIGUES, F. Á. The role of silicon in suppressing rice diseases.
23 Feature Article, February. **The American Phytopathological Society**, USA, v. 92, n. 6, p.
24 28, 2005.
25
26 DATTA, S. K.; MUTHUKRISHNAN, S. **Pathogenesis-related proteins in plants**. Florida:
27 Ed. CRC Press, 1999. 291p.
28
29 EL-SHORA , H. M. Properties of phenylalanine ammonia-lyase from Marrow cotyledons.
30 **Plant Science**, Columbus, v. 162, p. 1-7, 2002.
31
32 ESQUERRE´-TUGAYE´,M.T.; BOUDART, G; DUMAS B. Cell wall degrading enzymes,
33 inhibitory proteins, and oligosaccharides participate in the molecular dialogue between plant
34 pathogens. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 38, p. 157–63, 2000.

- 1
2 FAGERIA, N. K. **Adubação e nutrição mineral da cultura de arroz**. Rio de Janeiro:
3 Campus: Embrapa, 1984. 341 p.
4
- 5 FARIA, J. C.; PRABHU, A. S. Relação entre fertilização nitrogenada e mancha-parda do
6 arroz em solos de cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 18, p.1377-1379,
7 1983.
8
- 9 GÓMEZ-GÓMEZ, L. Plant perception systems for pathogen recognition and defence.
10 **Molecular Immunology**, Elmsford, v. 41, p. 1055-1062, 2004.
11
- 12 HAHNBROCK, K. et al. Oligopeptide elicitor-mediated defence gene activation in cultured
13 parsley cells. **Proceedings of the National Academy of Science of USA**, v. 92, p. 4150–
14 4157, 1995.
15
- 16 HERMANS C, JOHNSON G. N, STRASSER R. J, VERBRUGGEN, N. Physiological
17 characterization of magnesium deficiency in sugarbeet: acclimation to low magnesium
18 differentially affects photosystems I and II. **Journal of Experimental Botany, London**, v
19 56, n. 418, 344–355. 2004
20
- 21 HERMANS C, BOURGIS F, FAUCHER M, DELROT S, STRASSER R.J,
22 VERBRUGGEN N. Magnesium deficiency in sugar beet alters sugar partitioning and
23 phloem loading in young mature leaves. **Journal of Experimental Botany**, London, v 56, n.
24 418, p. 541–549. 2005
25
- 26 IRRI - International Rice Research Institute. Disease resistance. In: IRRI, **Annual Report**
27 **For. Los Baños, Philippines: International Rice Research Institute**, China, p. 36-53,
28 1981.
29
- 30 JEBARA, S. et al. Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and
31 superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt
32 stress. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 162, p. 929-936, 2005.
33

- 1 KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice
2 leaf senescence. **Plant Physiology**, Rockville, v. 57, n. 2, p. 315-319, 1976
3
- 4 KAUR, P.; PADMANADHAN, S. Y.. Control of Helminthosporium disease of rice with
5 soil amendments. **Current Science: Letter to the Editor**, Columbus, v. 43, p. 78-9, 1974.
6
- 7 LAMB, C. J. et al. Signals and transduction mechanisms for activation of plant defenses
8 against microbial attack. **Cell**. Cambridge, v. 56, p. 215-224, 1989.
9
- 10 LANNA, A. C.; OLIVEIRA, M. G. A.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A.. Kinetic
11 parameters of leaf lipoxygenases pool from normal soybean genotypes and from a line
12 devoid of seed lipoxygenases. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, São Paulo, v. 8, p.
13 87-92, 1996.
14
- 15 LEE, F. N.. Brown spot. In: Webster R K, Gunnell PS, eds. **Compendium of Rice Diseases**.
16 **University California**, Davis: APS Press. 17, 1992.
17
- 18 LEITE, B.; PASCHOLATI, S. F. Hospedeiro: alterações fisiológicas induzidas por
19 fitopatógenos. In: BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed). **Manual de**
20 **Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 393-
21 414.
22
- 23 LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic
24 biomembranes. In: Douce R, Packer L, (Eds.) **Methods in Enzymology**, New York,
25 Academic Press Inc, p.350-82, 1987.
26
- 27 LIVNE A, DALY JM. Translocation in healthy and rust affected beans. **Phytopathology**, St.
28 Paul v. 56, p. 170-175, 1966
29
- 30 MALVOLTA, V. M. A.; SOUZA, T. M. W.; AMARAL, R. E. M. Avaliação de reações
31 foliares de cultivares/linhagens de arroz à mancha parda (*Bipolaris oryzae*). **Summa**
32 **Phytopathologica**, Brasília, v. 18, p. 118-24, 1992.
33

- 1 MALAVOLTA, E.; MORAES, M. F. Fundamentos do nitrogênio e do enxofre na nutrição
2 mineral das plantas cultivadas. In: **SIMPÓSIO SOBRE NITROGÊNIO E ENXOFRENA**
3 **AGRICULTURA BRASILEIRA**, Piracicaba. Piracicaba: ESALQ/POTAFOS, 2006.
4
- 5 MATHRE D. E. Photosynthetic activities of cotton plants infected with *Verticillium albo-*
6 *atrum*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 58, p. 137-141, 1968.
7
- 8 MATAMOROS, M. A. et al. Biochemistry and molecular biology of antioxidants in the
9 rhizobialegume symbiosis. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 133, p. 499–509, 2003.
10
- 11 MEYER S, SACCARDY, K, RIZZA, F, GENTY, B. Inhibition of photosynthesis by
12 *Colletotrichum lindemuthianum* in bean leaves determined by chlorophyll fluorescence
13 imaging. **Plan, Cell and Environment**, v. 24, p. 947-955, 2001
14
- 15 MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar.
16 **Analytical Chemistry**, Washington, v. 31, p. 426-428, 1956.
17
- 18 MORIWAKI, A.; KIHARA, J.; MORI. C.; ARASE, S. A. MAP kinase gene, BMK1, is
19 required for conidiation and pathogenicity in the rice leaf spot pathogen *Bipolaris oryzae*.
20 **Microbiological Research**, Amsterdam, v. 162, p. 108-14, 2007.
21
- 22 NELSON, R. R.; KLINE, D. M. The pathogenicity of certain species of *Helminthosporium*
23 to species of the gramineae. **Plant Disease**, St. Paul, v. 45, p. 644-8, 1961.
24
- 25 NYVALL, R. F. Field Crop Diseases Handbook. New York: **Van Nostrand Reinhold**, Avi
26 Pub. 1989
27
- 28 OU SH. Rice Diseases. Kew, UK: C A B **International Mycological Institute**. 1985
29
- 30 SHAUL, O. Magnesium transport and function in plants: the tip of the iceberg. **BioMetals**,
31 New York, v. 15,,: p. 309–323, 2002.
32

- 1 PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIM
2 FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed). **Manual de Fitopatologia: princípios e**
3 **conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 417-453.
- 4
- 5 PEIXOTO, P. H. P. **Peroxidação de lipídios em membranas e tecidos de dois cultivares**
6 **de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) com tolerância diferencial ao alumínio**. Tese
7 (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, Viçosa, 1998.
- 8
- 9 PERCICH, J. A.; NYVALL, R. F.; MALVICK, D. K.; KOHLS, C. L. Interaction of
10 temperature and moisture on infection of wild rice by *Bipolaris oryzae* in the growth
11 chamber. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, p. 1193-5, 1997.
- 12
- 13 POZZA, A. A. A.; POZZA, E. A.; BOTELHO, D. M. S. O silício no controle de doenças de
14 plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 12, n. 12, p. 373-402,
15 2004.
- 16
- 17 RIBEIRO, A. S.; SPERADIO, C. A. Controle de doenças na cultura do arroz irrigado. In:
18 Peske ST, Nedel JL, Barros ACSA, (Eds.) **Produção de Arroz Irrigado**. Pelotas: UFPEL,
19 p. 301-49, 1998.
- 20
- 21 SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba, ESALQ, 1974,
22 56p.
- 23
- 24 RODGERS-GRAY, B. S.; SHAW, M. W. Substantial reductions in winter wheat diseases
25 caused by addition of rice straw but not manure to soil. **Plant Pathology**, Oxford, v. 49, p.
26 590-599, 2000.
- 27
- 28 SHERF, A. F.; Page, R. M., TULLIS, E. C.; MORGAN, T. L. Studies on factors affecting
29 the infectivity of *Helminthosporium oryzae*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 37, p. 281-90,
30 1947.
- 31
- 32 SOUZA, N. R. G.; RIBEIRO, A. S.; GALLI, J. Variabilidade do fungo *Helminthosporium*
33 *oryzae*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 19, p. 1335-43, 1984.
- 34

- 1 TAIZ, L.; ZIEGER, E. **Fisiologia Vegetal**, 3^o edição, Editora Atmed, 2002, 722p.
- 2 Tipton, C. L.; Paulsen, P. V.; Betts, R. E. Effects of ophiobolin A on ion leakage and hexose
3 uptake by maize roots. **Plant Physiology**, Rockville, v. 59, p. 907-10, 1977.
- 4
- 5 TAKAHASHI, Y. Nutritional studies in the development of *Helminthosporium* leaf spot. In:
6 Rice diseases and their control by growing resistant varieties and other measures. In.:
7 **SYMPOSIUM ON TROPICAL AGRICULTURE RESEARCHES**, 1, 1967, Tokyo.
8 Proceedings... Tokyo: Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council, 1967. p. 157-
9 170.
- 10
- 11 TOLEDO, J.; ROJAS, I.; APARICIO, L. Transmisión y control de *Bipolaris oryzae*,
12 *Gelachia oryzae* y *Alternaria padwickii* em semillas de arroz producidas en Santa Cruz,
13 Bolivia. (Suppl.) **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, S132, 2006
- 14
- 15 TULLIS, E.C. Histological studies of rice leaves infected with *Helminthosporium oryzae*.
16 **Journal of Agricultural Research**, Lahore, v. 50, p. 82-90, 1935.
- 17
- 18 VIDHYASEKARAN, P.; BORREMEO, E. S.; MEW, T. W. Host-specific toxin production
19 by *Helminthosporium oryzae*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 76, p. 261-6, 1986.
- 20
- 21 VIEIRA, L. M. **Arroz**: Situação da produção, do mercado e perspectivas Informativo
22 Agropecuário. Santa Catarina: EPAGRI/CEPA, 2010.
- 23
- 24 XIAO, J. Z.; TSUDA, M.; DOKE, N.; NISHIMURA, S. Phytotoxins produced by
25 germinating spores of *Bipolaris oryzae*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 81, p. 58-64, 1991.
- 26
- 27 ZANÃO JÚNIOR, L.A.; FONTES, R. L. F.; ÁVILA, V.T. Teores foliares de nutrientes e de
28 silício em plantas de arroz infectadas por *Bipolaris oryzae* **Scientia Agraria**, Curitiba, v.11,
29 n.1, p.087-090, 2010.
- 30
- 31 YOSHIDA, S. Chemical aspects of the role of silicon in physiology of the rice plant.
32 **Bulletin of the National Institute of Agricultural Science, Japan**, v. 15, p.1-58, 1965.
- 33

- 1 WARBURG, O.; CHRISTIAN, W. Isohering und kristallisation des gōrungs ferments
2 enolase. **Biochemistry Zoology**, Chicago, v. 310, p. 384-421, 1941.
3
- 4 WEN-CHI, H.; YING-CHOU, C.; YAW-HUEI, L. Chitinase activity of sweet potato
5 (Ipomoea batatas L. Lam var. Tainong 57). **Bot. Bull. Acad. Sin.**, v. 39, p. 93-97, 1998.
6
- 7 WEN P-F. et al. Salicylic acid induced the expression of phenylalanine ammonia-lyase gene
8 in grape berry. **Plant Science**, Columbus, v. 169, p. 928–934, 2005.
9
- 10 WICKENHAUSER, P.; BLOEM, E.; HANEKLAUS, S.; SCHNUG, E. Ecological
11 significance of H₂S emissions by plants – a literature review. **Landbauforschung**
12 **Volkenrode**,Alemanha, v. 283, p.157-161, 2005.
13
- 14 WILLIAMS, J. S.; COOPER, R. M. The oldest fungicide and newest phytoalexin – a
15 reappraisal of the fungitoxicity of elemental sulphur. **Plant Pathology**, California v. 53, n.3,
16 p. 263-279, 2004.
17
- 18 Wu, W. H.; Berkowitz, G. A. Stromal pH and photosynthesis are affected by electroneutral
19 K⁺ and H⁺ exchange through chloroplast envelope ion channels. **Plant Physiology** Rockville,
20 v. 98, n . 2, p. 666–672 1992b
21

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19

20 **CapituloII**

21

22 **Trocas Gasosas e Atividade de Enzimas de Defesa em Plantas de Arroz Infectadas por**
23 ***Bipolaris oryzae* e Supridas com Magnésio**

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41

1 **Trocas Gasosas e Atividade de Enzimas de Defesa em Plantas de Arroz Infectadas por**
2 ***Bipolaris oryzae* e Supridas com Magnésio**

3
4 WILER RIBAS MOREIRA¹, RENATA SOUSA RESENDE², FABRÍCIO ÁVILA
5 RODRIGUES³, CAMILA CRISTINA LAGE ANDRADE⁴ e CLÍSTENES WILLIAMS
6 ARAÚJO DO NASCIMENTO⁵

7
8 ^{1,5}UFRPE - Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Av. Dom Manoel de Medeiros,
9 s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife-PE; ^{2,3,4}UFV – Programa de Pós-Graduação em
10 Fitopatologia, Av. PH Rolfs, s/n - Campus Universitário, 36570-000 Viçosa-MG; Brasil,
11 wilerib@yahoo.com.br, fabricio@ufv.br

12 **Resumo:**

13 A mancha parda, causada pelo fungo *Bipolaris oryzae*, é uma das doenças de maior
14 importância na cultura do arroz. O objetivo desse estudo foi verificar o possível efeito do Mg
15 nos parâmetros de trocas gasosas e na resistência, a nível bioquímico, de plantas de arroz
16 infectadas por *B. oryzae*. Plantas de arroz (cv. Metica-1) foram crescidas em solução
17 nutritiva contendo 0,25; 0,5, 1,0, 2 e 4 mM de Mg. Aos 35 dias após semeadura, as plantas
18 foram inoculadas com uma suspensão contendo 1×10^4 conídios de *B. oryzae* mL⁻¹. Foram
19 avaliados o período de incubação (PI), o número de lesões (NL) por cm² de área foliar, a
20 severidade e a concentração foliar de Mg. Os dados de severidade foram usados para
21 calcular a área abaixo da curva do progresso da mancha parda (AACPMP). Além disso, para
22 as análises bioquímicas e fotossintética foram utilizadas somente três níveis baixo
23 intermediário e alto correspondendo as doses 0,25; 2,5 e 4 mM de Mg, e foram avaliada a
24 concentração de aldeído malônico (MDA), a atividade das enzimas peroxidases (POX),
25 polifenoloxidasas (PFO), quitinasas (QUI) e β -1,3-glucanases (GLU) e fenilalanina amônia-
26 liases (FAL), além da concentração de pigmentos fotossintéticos, clorofila *a* (Cl_a), clorofila *b*
27 (Cl_b) e carotenóides (Car) e os parâmetros relacionados com as trocas gasosas (taxa de
28 assimilação líquida de CO₂ ($A_{máx}$), condutância estomática (g_s), concentração interna de CO₂
29 (C_i) e a razão entre a concentração interna e ambiente de CO₂ (C_i/C_a)). A concentração de
30 Mg nos tecidos aumentou com o acréscimo da dose. Os resultados obtidos nesse estudo
31 permitem concluir que a magnitude no controle da mancha parda do arroz pelo Mg, avaliada
32 por meio de alguns componentes de resistência, foi dependente da concentração desse
33 elemento na folha. Houve um aumento da atividade de algumas enzimas, mais não tendo
34 uma diferença expressiva entre as doses empregadas. Houve diferença entre a concentração

1 de Cl_a entre as doses empregadas e inculadas ou não com o fungo *B.oryzae*, nos demais Cl_b ,
 2 Cl_{total} e Car não houve uma diferença expressiva entre as doses empregadas e também em
 3 relação as inoculadas ou não observou a mesma tendência. Houve diferença entre as plantas
 4 sadias e inoculadas parâmetros $A_{máx}$, g_s , C_i e C_i/C_a , mais em relação as doses empregadas
 5 não houve diferença significativa, mesmo com a concentração tendo aumentado nos tecido.

6

7 **Palavras-chave:** *Bipolaris oryzae*, doses de Mg, enzimas de defesa, parâmetros
 8 fotossintese

9 ABSTRACT

10 Brown spot, caused by the fungus *Bipolaris oryzae*, is one of the most important diseases
 11 in rice. The aim of this study was to test the possible effect of Mg in the gas exchange
 12 parameters and the resistance, at the biochemical level, of rice plants infected by *B.*
 13 *oryzae*. Rice plants (cv. Metica-1) were grown in nutrient solution containing 0.25, 2.5,
 14 and 4 mM Mg. At 35 days after sowing, plants were inoculated with a suspension
 15 containing 1×10^4 conidia of *B. oryzae* mL⁻¹. It was evaluated the incubation period (IP),
 16 the number of lesions (NL) per cm² of leaf area, disease severity, and the foliar
 17 concentration of Mg. Data from severity was used to calculate the area under the curve of
 18 brown spot progress (AUBSPC). In addition, it was evaluated the concentration of
 19 malonic aldehyde (MDA), the activity of the enzyme peroxidases (POX),
 20 polyphenoloxidases (PPO), chitinases (CHI), β -1,3-glucanases (GLU), and phenylalanine
 21 ammonia-lyases (PAL), and the concentration of photosynthetic pigments, chlorophyll *a*
 22 (Cl_a), chlorophyll *b* (Cl_b), and carotenoids (Car) and the parameters related to gas
 23 exchange (rate of net CO₂ assimilation (A_{max}), stomatal conductance (g_s), internal CO₂
 24 concentration (C_i), and the ratio between internal and ambient concentration of CO₂
 25 (C_i/C_a)). Moreover, for biochemical analyzes and were used only three fotossintética
 26 lowlevels corresponding to the intermediate and high dooses 0.25, 2.5 and 4 mM Mg,
 27 and foram evaluated the concentration of malondialdehyde (MDA), the enzyme activity
 28 peroxidase (POX), polyphenol oxidase (PPO), chitinase (CHI) and β -1,3-glucanase
 29 (GLU) and phenylalanine ammonia lyase (PAL), and the concentration of photosynthetic
 30 pigments, chlorophyll *a* (Cl_a), chlorophyll *b* (Cl_b) and carotenoids (Car) and the
 31 parameters related to gas exchange (rate of net CO₂ assimilation (A_{max}), stomatal
 32 conductance (g_s), intercellular CO₂ concentration (C_i) and the ratio of internal
 33 concentration and ambient CO₂ (C_i/C_a)). The Mg content in tissues increased with

1 increasing dose. The results of this study indicate that the magnitude in the control of
2 brown spot of rice by Mg, evaluated by means of some components of resistance was
3 dependent on the concentration of this element in leave. There was an increase in the
4 activity of some enzymes, no more having a significant difference between doses
5 employed. There was difference between the concentration of CL_b between dosage and
6 inculadas or not with the fungus *B.oryzae* in other CL_b , CL_{total} and C_{ar} and there was no
7 significant difference among the doses and in relationship or not those inoculated same
8 trend. However, the same difference between healthy plants and inoculated parameters
9 A_{max} , g_s , C_i and C_i / C_a , more than in the doses used there was no significant difference,
10 even with their sing concentration in the tissue.

11
12 **Keywords:** *Bipolaris oryzae*, doses of Mg, defense enzymes, parameters fosstossintese
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

1. Introdução

A mancha parda, causada por *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker, é uma das doenças mais importante do arroz (Ou, 1985). Os sintomas dessa doença incluem lesões marrom-avermelhadas com um centro de cinza rodeado por uma margem de escuro para castanho-avermelhada com um brilhante amarelo halo (Ou, 1985). As lesões aparecem cerca de 18 h após a inoculação da planta com *B. oryzae* (Dallagnol et al., 2009).. A coalescência de lesões e o halo clorótico ao redor delas podem destruir completamente a folha de arroz (Dallagnol et al., 2009).

O magnésio (Mg) tem várias funções importantes nas plantas tais como fotofosforilação, fixação fotossintética de dióxido de carbono (CO₂), síntese protéica, carreamento do floema, separação e utilização de fotoassimilados, geração de espécies reativas de oxigênio e foto-oxidação nos tecidos foliares (Hermans, C & Verbruggen, N., 2005). Em consequência disso, vários processos fisiológicos e bioquímicos podem ser interrompidos tanto pela deficiência quanto pelo excesso de Mg nos tecidos (Hermans, C & Verbruggen, N., 2005). Dependendo da interação planta-patógeno, a intensidade da doença pode ser maior ou menor em função da concentração foliar de Mg (Huber, 1981). Aplicações de MgCl₂ com fertilizantes amoniacais em solos deficientes em Mg reduziu o mal do pé do trigo causado pelo fungo *Gaeumannomyces graminis* (Huber, 1989) Plantas de tomateiro e pimentão supridas com Mg foram mais suscetíveis à *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria* (Woltz, Jones, 1979).

Características fotossintéticas tais como as trocas gasosas e os parâmetros da fluorescência da clorofila *a* tem sido considerados indicadores eficientes do comportamento do aparato fotossintético quando as plantas são submetidas ao ataque por patógenos (Baker & Rosenqvist, 2004; Berger et al., 2007). Plantas infectadas por fungos, bactérias e vírus usualmente exibem redução na taxa fotossintética (Lee, 1992). Anormalidades na forma e função dos cloroplastos nos tecidos doentes normalmente estão associados com a diminuição na fosforilação fotossintética (Bergraus Reisener, 1985), reações fotoquímicas (Mathere, 1968) e assimilação do dióxido de carbono (Lopes & Berger, 2001).

Este trabalho teve como objetivo verificar o possível efeito do Mg nos parâmetros de trocas gasosas e na resistência, a nível bioquímico, de plantas de arroz infectadas por *B. oryzae*.

1 **2. Material e Métodos**

2 **Preparo da solução nutritiva e crescimento das plantas de arroz:** plantas de arroz
3 (cultivar Metica-1) foram crescidas em solução nutritiva, modificada de Hoagland & Arnon
4 (1950), constituída de: 1,0 mmol L⁻¹ KNO₃; 0,25 mmol L⁻¹ NH₄H₂PO₄; 0,1 mmol L⁻¹ NH₄Cl;
5 1,0 mmol L⁻¹ Ca (NO₃)₂; 0,30 μmol L⁻¹ CuSO₄.5H₂O; 0,33 μmol L⁻¹ ZnSO₄.7H₂O; 11,5
6 μmol L⁻¹ H₃BO₃; 3,5 μmol L⁻¹ MnCl₂.4H₂O; 0,1 μmol L⁻¹ (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4H₂O; 25 μmol L⁻¹
7 FeSO₄.7H₂O e 25 μmol L⁻¹ EDTA bisódico. As doses de Mg usadas foram de 0,25; 0,5; 1; 2
8 e 4 mmol. Como fonte de Mg, utilizou-se o MgSO₄.7H₂O. Para o preparo da solução
9 nutritiva com a dose de 0,25 mmol de Mg, utilizou-se Na₂SO₄ na concentração de 0,25 mmol
10 L⁻¹ e para a dose de 0,5 mmol L⁻¹, utilizou-se o MgSO₄.7H₂O. Para as demais doses,
11 utilizou-se o MgCl₂ nas concentrações de 0,5, 1,5 e 3,5 mmol L⁻¹ acrescido da dose de 0,5
12 mmol L⁻¹ de MgSO₄.7H₂O. As sementes de arroz foram lavadas em solução de hipoclorito
13 de sódio (10%) por 1,5 min, seguidas de lavagem em água desionizada por três min. As
14 sementes foram germinadas em rolos de papel filtro embebidos com água e mantidos a 25
15 °C. Seis plântulas foram mantidas para cada vaso plástico contendo 5 litros de solução
16 nutritiva com as doses de Mg. A solução nutritiva foi trocada a cada quatro dias ou quando a
17 condutividade elétrica atingiu 85% do valor inicial. O pH da solução nutritiva foi verificado
18 diariamente e mantido entre 5,5 e 6,0.

19 **Inoculação das plantas com *B. oryzae*:** as plantas foram inoculadas com *B. oryzae* quando
20 emitiram a oitava folha no colmo principal conforme escala proposta por (Matsou &
21 Hashikowa, 1993) (aproximadamente 35 dias após a emergência) com um atomizador (VLS-
22 Set Airbrush, Paache Airbrush Company, EUA). As plantas presentes em cada vaso foram
23 pulverizadas com, aproximadamente, 10 mL da suspensão de conídios. O isolado de *B.*
24 *oryzae* (CNPAF HO-82) foi cedido pelo Dr Anne S. Prabhu da EMBRAPA Centro Nacional
25 de Pesquisa de Arroz e Feijão. O isolado foi preservado em tiras de papel-filtro em sílica gel
26 á 4 °C. Quinze dias antes da inoculação, pedaços dessas tiras foram colocados em placas de
27 Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA). Quando a colônia do fungo
28 atingiu 3,0 cm de diâmetro, o mesmo foi repicado para novas placas de Petri contendo BDA
29 e mantidas por dez dias em câmara de crescimento tipo B.O.D. (25 °C e fotoperíodo de 12
30 horas luz/escuro). Foram adicionados 10 mL de água desionizada em cada placa de Petri e
31 com pincel de cerdas macias coletou-se os conídios. A suspensão resultante foi
32 homogeneizada e ajustada para concentração de 1 × 10⁴ conídios mL⁻¹. Gelatina foi adiciona
33 na suspensão (1% p/v) para aumentar a aderência dos conídios na superfície foliar. Após a

1 inoculação, as plantas foram mantidas em casa de vegetação com temperatura de 25 ± 2 °C e
2 umidade relativa de $75 \pm 5\%$.

3 **Avaliação do período de incubação (PI), do número de lesões (NL) por cm² de área**
4 **foliar e da severidade da mancha parda:** a quinta e a sexta folha do colmo principal das
5 plantas das repetições de cada tratamento foram marcadas e utilizadas para avaliar o PI, o
6 NL por cm² de área foliar e a severidade da mancha parda. O PI foi avaliado a cada três
7 horas após inoculação (hai) das plantas. Às 48 hai, contou-se o NL por cm² de área foliar
8 com o auxílio de uma lupa de bolso (20 ×). Utilizou-se um total de quatro amostragens na
9 quinta e na sexta folha das plantas das repetições de cada tratamento. A severidade da
10 mancha parda foi avaliada às 24, 48, 72, 96 e 120 hai utilizando-se a escala proposta pelo
11 IRRI (IRRI, 1996). Os valores obtidos foram utilizados para calcular a área abaixo da curva
12 do progresso da mancha parda (AACPMP) de acordo com a fórmula proposta por (Shaner &
13 Finney, 1977).

14 **Determinação da concentração de aldeído malônico (MDA):** amostras da quinta e da
15 sexta folha do colmo principal das plantas das repetições de cada tratamento foram coletadas
16 às 24, 48, 72, 96 e 120 hai. Folhas coletadas de plantas não inoculadas com *B. oryzae* (0 h)
17 serviram como controle. As folhas foram mantidas em nitrogênio (N₂) líquido durante as
18 coletas e armazenadas em ultrafreezer a -80 °C até serem analisadas. Foram macerados 0,25
19 g de tecido foliar em N₂ líquido seguido de homogeneização em 2 mL de ácido
20 tricloroacético (TCA) (0,1% p/v). O homogeneizado foi centrifugado a 10.000 × g por 15
21 min a 4 °C e o sobrenadante foi coletado e utilizado nas determinações das concentrações de
22 MDA. Foram adicionados 500 µL do sobrenadante em um tubo de microcentrífuga contendo
23 1,5 mL da solução de ácido tiobarbitúrico (TBA) (0,5%) em TCA 20%. As amostras foram
24 incubadas por 2 h a 90 °C em banho-maria. A reação foi parada em banho de gelo por 5 min.
25 As amostras foram centrifugadas a 13.000 rpm por 4 min. A absorbância da mistura da
26 reação foi determinada a 532 nm em espectrofotômetro (Evolution 60, Thermo Scientific,
27 Waltham, MA, EUA). Utilizou-se para os cálculos, o coeficiente de absorvidade molar de
28 155 mM cm⁻¹ e os resultados foram expressos em µmolde MDA kg⁻¹ de matéria fresca.

29 **Determinação da concentração de pigmentos fotossintéticos:** amostras da quinta e da
30 sexta folha do colmo principal das plantas das repetições de cada tratamento foram coletadas
31 às 24, 48, 72, 96 e 120 hai. Folhas coletadas de plantas não inoculadas com *B. oryzae* (0 h)
32 serviram como controle. As folhas foram mantidas em N₂ líquido durante as coletas e
33 armazenadas em ultrafreezer a -80 °C até serem analisadas. Um total de 200 mg de tecido
34 foliar foi triturado em N₂ líquido contendo 0,1 g de carbonato de cálcio e, em seguida,

1 homogeneizado com 2 mL de acetona 80% (v/v) por 1 min sob luz verde. A suspensão
2 resultante foi filtrada em papel de filtro Whatman # 1. O resíduo foi lavado por três vezes em
3 acetona a 80% e o volume final completado em balão volumétrico para 25 mL com o mesmo
4 solvente. As absorbâncias dos extratos foram lidas em espectrofotômetro (Evolution 60,
5 Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) nos comprimentos de onda de 470, 646,8 e 663,2
6 nm. As concentrações de clorofila *a* (Cl_a), clorofila *b* (Cl_b) e de carotenóides foram
7 estimadas de acordo com (Lichtenthaler, 1987).

8 **Determinação da atividade das enzimas peroxidases (POX, EC 1.11.1.7),**
9 **polifenoloxidasas (PFO, EC 1.10.3.1), quitinasas (QUI, EC 3.2.1.14), β -1,3-glucanases**
10 **(GLU, EC 3.2.1.6) e fenilalanina amônia-liase (FAL, EC 4.3.1.5):** amostras da quinta e da
11 sexta folha do colmo principal das plantas das repetições de cada tratamento foram coletadas
12 às 24, 48, 72, 96 e 120 hai. Folhas coletadas de plantas não inoculadas com *B. oryzae* (0 h)
13 serviram como controle. As folhas foram mantidas em N₂ líquido durante a coleta e
14 armazenadas em ultrafreezer a -80 °C até serem analisadas.

15 O extrato enzimático para determinação da atividade da POX amostras de 0,3 g de tecido
16 foliar foram maceradas com N₂ líquido em almofariz com adição de polivinilpirrolidona
17 (PVP) 1% (p/v) até obtenção de um pó fino. O pó obtido foi homogeneizado em 2 mL de
18 tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 6,5) contendo 1 mM de fluoreto de fenilmetilsulfônico
19 (PMSF) e 0,1 mM ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). O homogeneizado foi
20 centrifugado a 20000×g por 25 min a 4 °C e os sobrenadantes foram usados para as
21 determinações enzimáticas. A atividade da POX foi determinada conforme metodologias
22 propostas por (Chance et al. 1955) e (Kar et al. 1976). No ensaio colorimétrico, utilizou-se
23 pirogalol como substrato e peróxido de hidrogênio. A cada 1 mL do extrato de reação, foi
24 adicionado 340 μ L de água destilada, 250 μ L do tampão fosfato de potássio 100 mM (pH
25 6,8), 200 μ L de pirogalol 100 mM, 200 μ L de peróxido de hidrogênio 100 mM e 10 μ L do
26 extrato. As leituras de absorbância foram realizadas a 420 nm a cada 10 seg durante 1 min
27 em espectrofotômetro (Evolution 60, Thermo Scientific, Waltham, MA EUA). A atividade
28 da POX foi determinada utilizando-se para os cálculos o coeficiente de extinção molar de
29 2,47 mM⁻¹ cm⁻¹ (Chance et al., 1955) e expressa em mM de purpurogalina produzida min⁻¹
30 mg⁻¹ proteína.

31 O extrato enzimático para determinação da atividade da PFO foi semelhante ao obtido
32 para determinação da POX. A atividade da PFO foi determinada conforme metodologias
33 propostas por (Chance et al., 1955) e (Kar et al., 1976). No ensaio colorimétrico, utilizou-se
34 o pirogalol a 100 mM como substrato. A cada 1 mL do extrato de reação, foi adicionado 520

1 μL de água destilada, 250 μL do tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 6,8), 200 μL de
2 pirogalol 100 mM e 30 μL do extrato. As leituras de absorvância foram realizadas a 420 nm
3 a cada 10 seg durante 1 min em espectrofotômetro (Evolution 60, Thermo Scientific,
4 Waltham, MA, EUA). A atividade da PFO foi determinada utilizando-se para os cálculos o
5 coeficiente de extinção molar de $2,47 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Chance et al 1955).

6 O extrato enzimático para determinar a atividade da QUI foi obtido pela maceração de
7 amostras de 0,3 g de tecido foliar foram maceradas com N_2 líquido em almofariz com adição
8 de polivinilpirrolidona (PVP) 1% (p/v) até obtenção de um pó fino. O pó obtido foi
9 homogeneizado em 2 mL de tampão fosfato de sódio 50 mM (pH 6,5) contendo 1 mM de
10 fluoreto de fenilmetilsulfônico (PMSF) e 0,1 mM ácido etilenodiaminotetracético (EDTA).
11 O homogeneizado foi centrifugado a $20000 \times g$ por 25 min a 4°C e os sobrenadantes foram
12 usados para as determinações enzimáticas.. A determinação da atividade da QUI foi
13 realizada de acordo com a metodologia proposta por (Roberts et al, 1988), modificada por
14 (Harman et al., 1993), utilizando se como substrato o *p*-nitrofenil- β -D-*N*-*N'*-
15 diacetilquitobiose (PNP) (Sigma-Aldrich, São Paulo). O meio de reação contendo 470 μL de
16 50 mM tampão acetato de sódio (pH 5,0), 10 μL de PNP (2 mg/mL) e 20 μL do extrato
17 vegetal foi incubado a 37°C por 2 h. A reação foi paralisada acrescentando-se 500 μL de
18 0,2M carbonato de sódio (pH 5,0). As leituras de absorvância foram realizadas em
19 espectrofotômetro (Evolution 60, Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) a 410 nm
20 imediatamente após as reações serem paralizadas. A atividade da QUI foi determinada
21 utilizando-se para os cálculos o coeficiente de extinção molar de $7 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ e a
22 atividade da QUI foi expressa em μM de *p*-nitrofenil produzido por $\text{min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ proteína.

23 O extrato enzimático para a determinação da GLU foi semelhante ao obtido para
24 determinação da QUI. A atividade da GLU foi determinada conforme metodologia descrita
25 por Lever (1972) com algumas modificações. O ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) foi usado
26 em substituição à hidrazida do ácido *p*- hidroxibenzóico. O meio de reação constituído de
27 230 μL de tampão acetato de sódio 100 mM (pH 5,0), 250 μL da solução de substrato da
28 laminarina (4 mg/mL) e 20 μL do extrato vegetal foi incubado a 45°C por 30 min. Após
29 esse período, acrescentou-se ao meio de reação 250 μL de DNS e, em seguida, esta mistura
30 foi aquecida a 100°C por 5 min. Após o resfriamento em gelo até a temperatura de 30°C , as
31 amostras tiveram suas absorvâncias determinadas em espectrofotômetro (Evolution 60,
32 Thermo Scientific, Waltham, MA, EUA) a 540 nm e os resultados foram expressos em
33 unidades de absorvância $\text{min}^{-1} \text{ mg}^{-1}$ de proteína.

1 Para obtenção do extrato para determinação da atividade da FAL, 0,3 g de tecido foliar
2 foi macerado com N₂ líquido em almofariz com adição de PVP (2%) até obtenção de um pó
3 fino. O pó obtido foi homogeneizado em 2 mL de tampão fosfato de sódio 50m M (pH 6,5)
4 contendo 1 mM fluoreto de fenilmetililsulfônico e 0,1 mM EDTA. A mistura foi
5 centrifugada duas vezes a 20000 g por 25 min. O sobrenadante foi usado como substrato
6 para determinar a atividade da FAL. A reação foi iniciada após a adição de 0,5 mL do
7 extrato a uma mistura contendo 2 mL de tampão Tris-HCl (pH 8,8; 25m M) e 1 mL 100 mM
8 de *L*-fenilalanina. A mistura da reação foi incubada em banho-maria a 30°C durante 3 h. Nas
9 amostras controle, o extrato foi substituído por 1 mL do tampão Tris-HCl. A reação foi
10 finalizada pela adição de 0,1 mL de HCl 6 N. A absorbância dos derivados do ácido *trans*-
11 cinâmico foi medida em espectrofotômetro a 290 nm e o coeficiente de extinção molar de
12 10⁴ mM⁻¹ cm⁻¹ (Zucker, 1965) foi usado para calcular a atividade da FAL, a qual foi expressa
13 em mM min⁻¹ mg⁻¹ de proteína.

14 A concentração de proteínas em cada amostra foi determinada pelo método de
15 (Bradford, 1971) e todas as determinações enzimáticas foram realizadas em triplicata.

16 **Determinação dos parâmetros relacionados com as trocas gasosas:** as determinações da
17 taxa de assimilação líquida de CO₂ ($A_{máx}$), da condutância estomática (g_s), da concentração
18 interna de CO₂ (C_i) e da razão entre a concentração interna e ambiente de CO₂ (C_i/C_a) foram
19 realizadas na terceira e na quarta folha do colmo principal de cada planta às 24, 48, 72, 96 e
20 120 hai e também nas folhas das plantas não inoculadas com *B. oryzae* nessas mesmas
21 épocas. As avaliações foram realizadas em casa de vegetação com radiação
22 fotossinteticamente ativa de 1200 $\mu\text{mol m}^{-2}$ e concentração de CO₂ variando de 380 a 400
23 ppm das 7 às 12 horas utilizando-se um analisador de gás por infravermelho portátil (IRGA,
24 Li-Cor, modelo LI-6400 Nebraska, EUA). Durante as avaliações, as temperaturas ambiente e
25 foliar variaram, respectivamente, de 19 a 28 °C e de 24 a 32 °C. As leituras foram registradas
26 apenas quando os valores de $A_{máx}$ e g_s tornaram-se estáveis.

27 **Determinação da concentração foliar de Mg:** amostras de folhas do colmo principal das
28 plantas das repetições de cada tratamento foram coletadas, lavadas em água destilada e
29 secadas em estufa com ventilação forçada de ar a 70 °C até atingirem peso constante.
30 Posteriormente, as folhas, sem bainha, foram moídas em moinho tipo Thomas-Wiley
31 (Thomas Scientific, Swedesboro, NJ) equipado com peneira de 20 mesh. A concentração
32 foliar de Mg foi determinada por digestão nitroperclórica segundo metodologia proposta por
33 (Bataglia et al., 1983).

1 **Delineamento experimental e análise estatística dos dados:** o delineamento experimental
2 foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial 5×2 com cinco repetições. Os fatores
3 estudados foram doses de Mg e inoculação ou não das plantas com *B. oryzae*. O experimento
4 realizado para avaliar o PI, o NL por cm^2 de área foliar e a severidade da mancha parda foi
5 repetido e os dados de cada variável foram combinados após verificar a homogeneidade de
6 variância pelo teste de (Cochran Gomez et al.,1994) e feito uma regressão. Os dados obtidos
7 foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo
8 teste de Student ou teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade utilizando-se o software
9 SAS (SAS Institute Inc., 1989, Cary, NC, EUA).
10

1 **3-Resultados**

2 **Concentração foliar de Mg:** houve efeito linear das doses crescentes de Mg na
3 concentração foliar desse macronutriente (Fig. 1). A variação nos valores observados para a
4 concentração foliar de Mg da dose de 0,25 mM para a dose de 4 mM Mg foi de 0,47 a 0,79
5 dag/kg (Fig. 1).

6 **PI, NL por cm² de área foliar e AACPMP:** houve efeito quadrático das doses crescentes
7 de Mg no PI, sendo que o maior valor para esse componente de resistência foi obtido com a
8 dose de 3,26 mM (Fig. 2). A variação nos valores do PI, da dose de 0,25 mM para a dose de
9 4 mM, foi de 18,35 a 19,15 h (Fig. 2). Houve efeito quadrático das doses crescentes de Mg
10 no NL por cm² de área foliar (Fig. 3). O menor valor para o NL por cm² de área foliar foi de
11 14,2 obtido com a dose de 1,0 mM. Houve efeito linear das doses crescentes de Mg na
12 AACPMP (Fig. 1). A variação nos valores observados para a AACPMP da dose de 0,25 mM
13 para a dose de 4 mM Mg foi de 663,3 a 442,3 (Fig. 4).

14 **Concentração de MDA:** houve efeito significativo apenas dos fatores doses de Mg e épocas
15 de coleta para a concentração de MDA (Tabela 1). A concentração de MDA nas folhas das
16 plantas inoculadas com *B. oryzae* aumentou das 24 às 120 hai em relação a concentração de
17 MDA nas folhas das plantas não inoculadas (0 h) em função das doses de Mg (Fig. 5). A
18 concentração de MDA foi significativamente maior na dose máxima de Mg (4 mM) em
19 relação a menor dose (0,25 mM) às 24, 48, 72 e 120 hai (Fig. 5).

20 **Atividade de enzimas de defesa:** houve efeito significativo dos fatores doses de Mg e
21 épocas de coleta para a atividade das enzimas QUI, GLU, POX e PFO (Tabela 1). Para a
22 enzima FAL, apenas o fator épocas de coleta foi significativo (Tabela 1). A interação doses
23 de Mg × épocas de coleta foi significativa apenas para a atividade das enzimas POX e FAL
24 (Tabela 1). A atividade da QUI foi significativamente maior na dose de 2,5 mM de Mg em
25 relação as doses de 0,25 e 4 mM às 0 e 24 hai (Fig. 6). Às 48 hai, não houve diferença
26 significativa entre as doses de 2,5 e 4 mM de Mg e nem entre as doses de 0,25 e 4 mM às 72
27 hai para a atividade da QUI (Fig. 6). A atividade da QUI foi significativamente maior nas
28 doses de 0,25 e 2,5 mM em relação à dose de 4 mM às 96 e 120 hai (Fig. 6). A atividade da
29 GLU foi significativamente maior nas doses de 2,5 e 4 mM de Mg em relação à dose de 0,25
30 mM às 0 e 24 hai (Fig. 7). Não houve diferença significativa entre as três doses de Mg na
31 atividade da GLU às 48 hai. A atividade da GLU foi significativamente maior nas doses de 4
32 e 2,5 mM, respectivamente, às 72 e 120 hai (Fig. 7). Às 96 hai, a atividade da GLU foi
33 significativamente maior nas doses de 0,25 e 2,5 mM em relação à dose de 4 mM (Fig. 7).

1 Nas plantas não inoculadas com *B. oryzae*, a atividade da POX foi significativamente maior
2 na dose de 2,5 mM de Mg em relação a dose de 0,25 mM, mas não houve diferença
3 significativa entre as doses de 2,5 e 4 mM de Mg (Fig. 8). Não houve diferença significativa
4 entre as três doses de Mg na atividade da POX às 24 (Fig. 8). A atividade da POX foi
5 significativamente maior às 48 e 72 hai nas doses de 2,5 e 4 mM de Mg em relação a dose de
6 0,25 mM (Fig. 8). Às 96 hai, a atividade da POX foi significativamente maior na dose de 4
7 mM em relação às doses de 0,25 e 2,5 mM. A atividade da POX foi significativamente maior
8 nas doses de 2,5 e 4 mM em relação à dose de 0,25 mM às 120 hai, mas não houve diferença
9 significativa entre as doses de 2,5 e 4 mM de Mg (Fig. 8). Nas plantas não inoculadas com *B.*
10 *oryzae*, a atividade da PFO foi significativamente maior na dose de 4 mM de Mg em relação
11 a dose de 0,25 mM, mas não houve diferença significativa entre as doses de 2,5 e 4 mM de
12 Mg (Fig. 9). A atividade da PFO foi significativamente maior na dose de 4 mM de Mg em
13 relação as doses de 0,25 e 2,5 mM às 24, 72 e 96 hai (Fig. 9). Não houve diferença
14 significativa entre as dose de 0,25 e 2,5 mM de Mg na atividade da PFO às 24, 72 e 96 hai
15 (Fig. 9). Às 120 hai, a atividade da PFO foi significativamente maior na dose de 4 mM em
16 relação às doses de 0,25 e 2,5 mM (Fig. 9). Não houve diferença significativa entre as três
17 doses de Mg nas plantas não inoculadas com *B. oryzae* (Fig. 10). Às 24 hai, a atividade da
18 FAL foi significativamente maior na dose de 2,5 mM de Mg em relação a dose de 4 mM. A
19 atividade da FAL foi significativamente maior às 48 e 72 hai na dose de 4 mM de Mg em
20 relação às doses de 0,25 (Fig. 10). Às 96 hai, a atividade da FAL foi significativamente
21 maior na dose de 0,25 mM de Mg em relação a dose de 4 mM, mas não houve diferença
22 significativa entre as doses de 2,5 e 4 mM na atividade da FAL (Fig. 10). Às 120 hai, a
23 atividade da FAL foi significativamente maior nas doses de 2,5 e 4 mM de Mg em relação a
24 dose de 0,25 mM (Fig. 10).

25 **Concentração de pigmentos:** houve efeito significativo do fator doses de Mg apenas para
26 as concentrações de Cl_a e clorofila total e do fator épocas de coleta apenas para as
27 concentrações de Cl_a , Cl_b e clorofila total (Tabela 2). A interação doses de Mg \times épocas de
28 coleta foi significativa para as concentrações de Cl_a , Cl_b , clorofila total e de carotenóides
29 (Tabela 2). Nas plantas não inoculadas com *B. oryzae*, houve diferença significativa entre as
30 três doses de Mg com relação a concentração de Cl_a e clorofila total (Tabela 4). As
31 concentrações de Cl_a e clorofila total foram significativamente maiores na dose de 0,25 mM
32 de Mg em relação as doses de 2,5 e 4 mM (Tabela 4). Não houve diferença significativa
33 entre as doses de 0,25 e 2,5 mM de Mg para a concentração de Cl_b e nem entre as doses de
34 0,25 e 4 mM de Mg para a concentração de carotenóides (Tabela 4). A concentração de Cl_b e

1 de carotenóides foram significativamente maiores na dose de 0,25 mM de Mg em relação as
2 doses de 4 e 2,5 mM, respectivamente (Tabela 4). Nas plantas inoculadas com *B. oryzae*
3 (120 hai), não houve diferença significativa entre as três doses de Mg para as concentrações
4 de Cl_a e carotenóides (Tabela 4). A concentração de Cl_b foi significativamente maior na dose
5 de 4 mM de Mg em relação as doses de 0,25 e 2,5 mM (Tabela 4). A concentração de
6 clorofila total foi significativamente maior na dose de 4 mM de Mg em relação às doses de
7 0,25 e 2,5 mM (Tabela 4).

8 **Parâmetros relacionados com as trocas gasosas:** houve efeito significativo dos fatores
9 doses de Mg, inoculação e épocas de coleta e apenas das interações doses de Mg ×
10 inoculação e inoculação × épocas de coleta para $A_{máx}$, g_s , C_i e C_i/C_a (Tabela 3). Houve efeito
11 significativo apenas das interações doses de Mg × inoculação ou não das plantas e
12 inoculação ou não das plantas × épocas de coleta para $A_{máx}$, g_s , C_i e C_i/C_a (Tabela 3). Nas
13 plantas não inoculadas com *B. oryzae*, não houve diferença significativa entre as três doses
14 de Mg para $A_{máx}$ às 24 e 96 hai (Fig. 11A). Às 48, 72 e 120 hai, $A_{máx}$ foi significativamente
15 maior na dose de 0,25 mM de Mg em relação a dose de 2,5 mM (Fig. 11A). Quando as
16 plantas foram inoculadas com *B. oryzae*, $A_{máx}$ foi significativamente menor nas doses de 2,5
17 e 4 mM de Mg em relação a dose de 0,25 mM às 24 hai (Fig. 11B). Às 48 e 120 hai, $A_{máx}$ foi
18 significativamente maior na dose de 4 mM de Mg em relação à dose de 0,25 mM (Fig. 11B).
19 Não houve diferença significativa entre as doses de 0,25 e 4 mM de Mg na $A_{máx}$ às 72 hai e
20 nem entre as três doses de Mg às 96 hai (Fig. 11B). Com relação ao g_s , nas plantas não
21 inoculadas com *B. oryzae*, não houve diferença significativa entre as três doses de Mg às 24
22 e 48 hai (Fig. 11C). Às 72 e 120 hai, g_s foi significativamente maior na dose de 0,25 mM em
23 relação as demais doses. Na dose de 2,5 mM de Mg, g_s foi significativamente maior em
24 relação as dose de 0,25 e 4 mM, mas não houve diferença significativa entre essas doses
25 (Fig. 11C). Quando as plantas foram inoculadas com *B. oryzae*, não houve diferença
26 significativa entre as três doses para g_s às 24 hai (Fig. 11D). Às 48 e 72 hai, g_s foi
27 significativamente maior na dose de 4 mM em relação as doses de 0,25 e 2,5 mM. Nas doses
28 de 0,25 e 2,5 mM de Mg, g_s foi significativamente maior em relação a dose de 4 mM às 96 e
29 120 hai (Fig. 11D). Nas plantas não inoculadas com *B. oryzae*, não houve diferença
30 significativa para C_i e C_i/C_a entre as três doses de Mg das 24 às 96 hai (Fig. 11E e G,
31 respectivamente). Às 120 hai, C_i e C_i/C_a foram significativamente maiores na dose de 0,25
32 mM de Mg (Fig. 11E e G, respectivamente). Nas plantas inoculadas com *B. oryzae*, não
33 houve diferença entre as três doses de Mg para C_i (Fig. 11F) e C_i/C_a (Fig. 11H).

34

1 **4-Discussão**

2 No presente trabalho ficou evidenciado um aumento na concentração foliar de Mg
3 mediante a constante disponibilidade desse macronutriente na solução nutritiva.
4 Adicionalmente, este estudo mostrou que a resistência do arroz à mancha parda aumentou
5 em função da maior concentração foliar de Mg mesmo considerando que esses valores estão
6 fora da faixa adequada para a cultura do arroz, a qual está compreendida entre 0,2 a 0,4
7 dag/kg de matéria seca (Fageria, 1984).

8 A maior AACPMP para as plantas supridas com a menor dose de Mg demonstra a
9 importância deste macronutriente em reduzir os sintomas da mancha parda. Além disso, o PI
10 variou de acordo com dose de Mg na solução nutritiva. Este componente epidemiológico é
11 importante, pois influencia a taxa de progresso da doença e, por conseguinte, a AACPMP.
12 Segundo (Berger et al. 1997), quanto maior o PI e período latente (período para ocorrer a
13 esporulação do patógeno no tecido doente), menor será o número de ciclos secundários do
14 patógeno e, conseqüentemente, uma menor intensidade da doença. O NL, outro componente
15 epidemiológico avaliado, também foi influenciado pelas doses de Mg, sugerindo que
16 mecanismos de resistência podem estar atuando nas fases de pré-penetração e penetração do
17 patógeno. De fato, a avaliação tanto do PI quanto do NL podem nos fornecer, indiretamente,
18 informações sobre possíveis defesas da planta que visam impedir a penetração e a
19 colonização dos seus tecidos por *B. oryzae*. Resultado similar foi descrito anteriormente por
20 (Baba 1958), os quais demonstraram que para o patossistema arroz-*Helminthosporium* spp.,
21 o PI aumentou e o NL decresceu em plantas supridas com Mg. No entanto, em outros
22 patossistemas observou-se o contrário, pois o suprimento de Mg aumentou a severidade do
23 mal do pé do trigo (Huber, 1989) e também da mancha bacteriana do pimentão (Jones,
24 1983).

25 Como o intuito de reforçar a hipótese de que o Mg está envolvido com as respostas de
26 defesa das plantas durante o processo infeccioso de *B. oryzae*, investigou-se a atividade de
27 enzimas relacionadas com a defesa da planta, além da concentração de MDA. Como
28 esperado, a concentração de MDA foi menor nas plantas não inoculadas com *B. oryzae* em
29 comparação com as plantas inoculadas. A concentração de MDA tem sido utilizada como
30 um marcador dos danos ocasionados às membranas induzidos por estresses bióticos ou
31 abióticos (Fu & Huang 2001). Resultados semelhantes foram encontrados por (Dallagnol et
32 al., 2011), os quais observaram que o aumento na concentração de MDA foi correlacionado
33 com o progresso da colonização de *B. oryzae* em folhas de arroz. Outro ponto a ser
34 considerado é que este patógeno produz toxinas não específicas (Xiao et al., 1991), as quais

1 podem causar danos nas membranas refletindo, assim, um aumento na concentração de
2 MDA. Nas plantas inoculadas com *B. oryzae* apesar da concentração de MDA ter-se
3 mostrado independente da dose de Mg utilizada, para a dose de 4,0 mM foi onde a
4 concentração de MDA mostrou-se maior. Segundo (Wu et al., 1991) e (Venkatesan et al.,
5 2010), altas concentrações citoplasmáticas de Mg podem provocar o bloqueio de canais de
6 K⁺ presentes na membrana interna dos cloroplastos. Este bloqueio desfavorece a remoção de
7 H⁺ da região do estroma levando a uma acidificação que pode inativar enzimas importantes
8 envolvidas nas etapas da fixação do carbono, resultando em decréscimos na atividade
9 fotossintética, incremento na produção de EROs e danos oxidativos.

10 As enzimas hidrolíticas QUI e GLU são induzidas por patógenos ou por produtos
11 químicos exógenos (Chérif, 1994) e catalizam a hidrólise dos principais carboidratos da
12 parede celular dos fungos como a quitina e a β -1,3-glucano. Após a infecção por patógenos,
13 ocorre um pronunciado aumento na atividade dessas enzimas ocasionando uma redução no
14 crescimento dos fungos e na liberação de oligossacarídeos capazes de induzir resistência
15 (Hartleb et al.,1997). Neste estudo, a atividade da QUI mostrou aumento em atividade em
16 relação ao controle, mostrando que as doses menor e intermediárias manteve maior em
17 relação a dose maior isso mostrou que o Mg pode ter potencializado as respostas de defesa
18 da planta como mostrado por (Campos et al.,2009) com o uso de indutores abióticos. A
19 respeito da atividade da GLU, essa manteve a mesma tendência da QUI, mais invertendo as
20 doses, mostrou que a dose maior e a intermediária de Mg em relação a dose menor. De
21 acordo com (Dallagnol et al.,2009), a QUI não teve grande importância na resistência do
22 arroz à mancha parda independente da presença do silício na nutrição nutritiva.

23 A POX está relacionada com a degradação de EROs como o peróxido de hidrogênio e
24 a formação de lignina.No presente trabalho, a atividade da POX apresentou pico de atividade
25 nas plantas supridas com as doses de 2,5 e 4,0 mM de Mg às 72 hai. Isso pode indicar,
26 indiretamente, uma maior produção de EROs durante o processo de colonização do fungo.
27 A PFO catalisa a hidroxilação de monofenóis formando orto-difenóis e também a oxidação
28 de orto-difenóis formando orto-quinonas, as quais exibem natureza antimicrobiana superior
29 aos compostos fenólicos que as precedem. Entretanto, neste estudo, observou-se a mesma
30 tendência para a PFO, com maior atividade nas doses de 2,5 e 4,0 mM. Isto indica,
31 possivelmente, que o Mg pode ter importância no metabolismo oxidativo dos compostos
32 fenólicos para a resistências das plantas de arroz à infecção por *B. oryzae*.

33 A atividade da FAL aumentou na presença de Mg sugerindo que a rota dos
34 fenilpropanóides pode ter um papel importante na resistência do arroz à infecção por *B.*

1 *oryzae*. A FAL promove a primeira etapa enzimática que converte a *L*-fenilalanina para
2 ácido *trans*-cinâmico e, posteriormente, a síntese de um grande número de compostos
3 fenólicos e também de algumas fitoalexinas (Campbell, MM, Sederoff, RR, 1996).

4 Plantas infectadas por patógenos usualmente exibem redução na taxa fotossintética
5 devido a inúmeros fatores como redução na concentração de clorofila (Berghaus & Reisener,
6 1985), baixa condutância mesofilica, baixa atividade da ribulose-1,5-bifosfato carboxilase
7 (Meyer et al.,2001), além do aumento na concentração foliar de sacarídeos (Livne & Daly,
8 1966). No presente estudo, os parâmetros das trocas gasosas observados nas plantas
9 inoculadas com *B. oryzae* foram menores do que nas plantas não inoculadas corroborando
10 com relatos encontrados na literatura de que as plantas doentes tem sua fisiologia alterada
11 quando infectadas por patógenos (Bastiaans, 1993; Pinkard & Mohammed, 2006). Assim, a
12 redução em $A_{máx}$ observada nas plantas inoculadas com *B. oryzae* pode ter sido decorrente
13 não apenas da limitação bioquímica, mas principalmente da limitação física através do
14 fechamento estomático. Apesar do Mg estar envolvido na ativação de enzimas de fixação do
15 carbono como a rubisco, por exemplo, e também fazer parte estrutural das moléculas de
16 clorofila (Orit Shaul, 2002), esse macronutriente parece não ter afetado os parâmetros $A_{máx}$,
17 g_s , C_i e C_i/C_a , principalmente nas plantas infectadas por *B. oryzae*. No entanto, as
18 concentrações de Cl_a , Cl_b e Cl total foram menores nas folhas inoculadas com *B. oryzae*,
19 provavelmente devido a um efeito deletério das toxinas produzidas pelo patógeno. Deve-se
20 ressaltar também que as toxinas ophiobolina A e ophiobolina B produzidas por *B. oryzae*
21 causam clorose nas folhas infectadas (Xiao et al.,1991), podem ter como consequência uma
22 redução na fotossíntese devido a danos nos fotossistemas e também na fixação do carbono,
23 além de reduzir a área verde fotossinteticamente ativa.

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33

5-Referências Bibliográficas.

Baba, I (1958) Nutritional studies on the occurrence of *Helminthosporium* leaf spot and "Akiochi" of the rice plant. Bulletin of the National Institute of Agricultural Sciences: series 7:1

Baker, NR, Rosenqvist, E (2004) Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. Journal of Experimental Botany 55:1607-1621.

Bastiaans, L (1993) Effects of leaf blast on growth and production of a rice crop. 2. Analysis of the reduction in dry matter production, using two models with different complexit. European Journal of Plant Pathology 99:19-28.

Bataglia, OC. (1983) Métodos de análise química de plantas. Campinas: Instituto Agrônômico 48p. (Boletim Técnico 78)

Bradford, MN (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical. Biochemistry 72:248-254,

Berger S, Sinha AK, Roitsch T (2007) Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant-pathogen interactions. Journal of Experimental Botany 58:4019-4026.

Berghaus R, Reisener HJ (1985) In photosynthesis of wheat plants infected with wheat stem rust (*Puccinia graminis* f.sp. *tritici*). Phytopathology 112:165-172.

Campbell MM, Sederoff RR (1996) Variation in lignin content and composition: mechanisms of control and implications for the genetic improvement of plants. Plant Physiology 110: 3-13.

- 1 Campos AD, Hampe MMV, Ferreira AG, Antunes IF, Castro LA. (2009) Indução de
2 resistência à antracnose em feijoeiro-comum pela raça delta avirulenta de *Colletotrichum*
3 *lindemuthianum*. *Pesq. Agropec. Bras* 44:15-21.
4
- 5 Chérif M, Asslin A, Bélanger RR, (1994) Defense responses induced by soluble silicon in
6 cucumber roots infected by *Pythium* spp. *Phytopathology*, 84:236-42.
7
- 8 Chance B, Maehley, AC (1955) Assay of catalases and peroxidases. *Methods in*
9 *Enzymology*, 2:764-775.
10
- 11 Cocucci, SM.; Morguittia, S; Cocuccib, M; Gianani, L (1983) Effects of ophiobolin A on
12 potassium permeability, transmembrane electrical potential and proton extrusion in maize
13 roots. *Plant Science Letters* 32:9-16.
14
- 15 Dallagnol, LJ., Rodrigues, FÁ., .Martins, SCV., Cavatte, PC., Damatta, FM (2011)
16 Alterations on rice leaf physiology during infection by *Bipolaris oryzae*. *Australasian Plant*
17 *Pathology Society* 40:360–365.
18
- 19 Dallagnol, LJ, Rodrigues, FÁ, Mielli, MVB, Ma, JF, Datnoff, LE (2011) Defective active
20 silicon uptake affects some components of rice resistance to brown spot. *Phytopathology*
21 101:92-104.
22
- 23 Dallagnol, LJ, Rodrigues, FÁ, Damatta, FM, Mielli, MVB, Pereira, SC (2011) Deficiency in
24 silicon uptake affects cytological, physiological, and biochemical events in the rice–
25 *Bipolaris oryzae* interaction. *Phytopathology* 101:92-104.
26
- 27 Fageria, NK (1984) **Adubação e nutrição mineral da cultura de arroz**. Rio de Janeiro:
28 Campus:Embrapa, 341 p.
29
- 30 FU J, HUANG, B (2001) Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the
31 adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environmental and*
32 *Experimental Botany* 45:105–114.

- 1 Hartleb H; Heitefuss R; Hoppe H. (1997) Resistance of crop plants against fungi. Germany:
2 Fischer
3
- 4 Harman GE, Hayes CK, Lorito M, Broadway RM, Pietro A, Peterbauer C, Tronsmo A
5 (1993) Chitinolytic enzymes of *Trichoderma harzianum*: purification of chitobiosidase and
6 endochitinase. *Phytopathology* 83:313-318.
7
- 8 Hermans C, Johnson GN, Strasser RJ, Verbruggen N (2004) Physiological characterization
9 of magnesium deficiency in sugarbeet: acclimation to low magnesium differentially affects
10 photosystems I and II. *Journal of Experimental Botany*, 56:344–355.
11
- 12 Hermans C, Bourgis F, Faucher M, Delrot S, Strasser RJ, Verbruggen N (2005) Magnesium
13 deficiency in sugar beet alters sugar partitioning and phloem loading in young mature leaves.
14 *Journal of Experimental Botany*, 56:541–549.
15
- 16 Hoagland, D. R.; Arnon, D. I (1938) The water-culture method for growing plants without
17 soil. California Agricultural Experimental Station. Circ. n. 347.
18
- 19 Huber DM (1981) The role of nutrients and chemicals. In: Asher MJC, Shipton PJ ed
20 *Biology and control of take-all*. Academic Press Inc., London, UK. Pp 317 341.
21
- 22 Huber, D.M (1989) The role of nutrition in the take-all disease of wheat and other small
23 grains. In 'Soil-borne Plant Pathogens: Management of Diseases with Macro and Micro
24 Elements.46-74.
25
- 26 Irri (1981) International Rice Research Institute. Disease resistance. In: IRRI, Annual Report
27 For. Los Baños, Philippines: International Rice Research Institute, 36-53.
28
- 29 Jones, JB, Wooltz, SS and Jones,JP (1983) Effect of foliar and soil magnesium application
30 on bacterial leaf spot of peppers. *Plant Dis* 67:623-624.
31
- 32 Kar M; Mishra, D (1976) Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice
33 leaf senescence. *Plant Physiology* 57:315-319.
34

- 1 Lee, FN (1992) Brown spot. In: Webster R K, Gunnell PS, eds. Compendium of Rice
2 Diseases. University California, Davis: APS Press. 17.
3
- 4 Lever M. (1972) A new reaction for colorimetric determination of carbohydrates. Analytical
5 Biochemistry 47:273-279.
6
- 7 Lichtenthaler, HK (1987) Chlorophylls and carotenoids, the pigments of photosynthetic
8 biomembranes. In: Douce R, Packer L, (Eds.) Methods in Enzymology, Academic Press Inc,
9 148:350-82.
10
- 11 Livne A, Daly JM (1966) Translocation in healthy and rust affected beans. Phytopathology
12 56:170-175.
13
- 14 Mathre DE (1968) Photosynthetic activities of cotton plants infected with *Verticillium albo-*
15 *atrum*. Phytopathology 58:137-141.
16
- 17 Meyer S, Saccardy, K, Rizza, F, Genty, B (2001) Inhibition of photosynthesis by
18 *Colletotrichum lindemuthianum* in bean leaves determined by chlorophyll fluorescence
19 imaging. Plant, Cell and Environment 24:947-955
20
- 21 OU SH (1985) Rice Diseases. Kew, UK: C A B International Mycological Institute.
22
- 23 Pinkard EA, Mohammed, CL (2006). Photosynthesis of Eucalyptus globules with
24 *Mycosphaerella* leaf disease. New Phytologist, 170: 119-127.
25
- 26 Roberts WK, Selitrennikoff CP. (1988) Plant and bacterial chitinases differ in antifungal
27 activity. *J. Gen. Microbiol.* 134:169-176
28
- 29 Shaul, O (2002) Magnesium transport and function in plants: the tip of the iceberg.
30 *BioMetals* 15:309–323.
31
- 32 Taiz, L.; Zieger, E. **Fisiologia Vegetal**, 3ª edição, Editora Atmed, 2002, 722p.
33

- 1 Takahashi, Y. Nutritional studies in the development of Helminthosporium leaf spot. In:
2 Rice diseases and their control by growing resistant varieties and other measures. In.:
3 **SYMPOSIUM ON TROPICAL AGRICULTURE RESEARCHES**, 1. ,1967, Tokyo.
4 Proceeding Tokyo: Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council, 1967. p. 157-170.
- 5 Vidhyasekaran, P.; Borremeo, E. S.; Mew, T. W (1986) Host-specific toxin production by
6 *Helminthosporium oryzae*. Phytopathology 76: 261-6.
7
- 8 Xiao, J. Z.; Tsuda, M.; doke, N.; Nishimura, S (1991)Phytotoxins produced by germinating
9 spores of *Bipolaris oryzae*. Phytopathology 81:58-64.
10
- 11 Zanão Júnior, L.A.; Fontes, R. L. F.; Ávila , V.T (2010)Teores foliares de nutrientes e de
12 silício em plantas de arroz infectadas por *Bipolaris oryzae*. Scientia Agraria 11:087-090.
13
- 14 WILLIAMS, J. S.; COOPER, R. M. The oldest fungicide and newest phytoalexin a
15 reappraisal of the fungitoxicity of elemental sulphur. Plant Pathology, p. 263-279, 2004.
16
- 17 Wu, W. H.; Berkowitz, G. A (1992b) Stromal pH and photosynthesis are affected by
18 electroneutral K^+ and H^+ exchange through chloroplast envelope ion channels. Plant
19 Physiolog 98:666–672.
20
21
22
23
24

1 **Tabelas e Figuras**

2

3 **Tabela 1.** Análise de variância dos efeitos de doses de magnésio e épocas de coleta na
 4 concentração de aldeído malônico (MDA) e na atividade das enzimas quitinases (QUI), β -1-
 5 3-glucanases (GLU), peroxidases (POX), polifenoloxidases (PFO) e fenilalanina amônia-
 6 liases (FAL).

7

| Fontes de Variação | gl | Valores de <i>F</i> | | | | | |
|------------------------|----|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|--------------------|
| | | MDA | QUI | GLU | POX | PFO | FAL |
| Doses de magnésio (Mg) | 2 | 8,82 ^{**} | 5,02 [*] | 1,40 [*] | 6,90 ^{**} | 3,48 [*] | 1,72 ^{ns} |
| Épocas de coleta (EC) | 4 | 215,01 ^{**} | 36,67 ^{**} | 122,17 ^{**} | 67,53 ^{**} | 20,15 ^{**} | 6,57 ^{**} |
| Mg × EC | 8 | 2,40 ^{ns} | 5,07 ^{**} | 0,80 ^{ns} | 3,33 ^{**} | 1,06 ^{ns} | 2,15 [*] |

8

9

Níveis de probabilidade: ^{ns} = não significativo, ^{*} = 0,05 e ^{**} = 0,01.

10

1 **Tabela 2.** Análise de variância dos efeitos de doses de magnésio e épocas de coleta nas
 2 concentrações de clorofila *a* (Cl_a), clorofila *b* (Cl_b), clorofila total ($Cl_a + Cl_b$) e carotenóides
 3 (Car).
 4

| Fontes de Variação | gl | Valores de F | | | |
|------------------------|----|----------------|--------------------|----------|--------------------|
| | | Cl_a | Cl_b | Cl total | Car |
| Doses de magnésio (Mg) | 2 | 63,77** | 1,05 ^{ns} | 109,24** | 1,91 ^{ns} |
| Épocas de coleta (EC) | 1 | 58,83** | 18,07* | 0,02* | 2,08 ^{ns} |
| Mg × EC | 2 | 59,73** | 30,59** | 125,51** | 19,94** |

5 Níveis de probabilidade: ^{ns} = não significativo, * = 0,05 e ** = 0,01.
 6
 7

1 **Tabela 3.** Análise de variância dos efeitos de doses de magnésio e épocas de coleta na taxa
 2 máxima de assimilação líquida de carbono ($A_{\text{máx}}$), condutância estomática (g_s), concentração
 3 interna de CO_2 (C_i) e razão entre a concentração interna e ambiente de CO_2 (C_i/C_a).
 4

| Fontes de Variação | gl | Valores de F | | | |
|---------------------------|----|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | $A_{\text{máx}}$ | g_s | C_i | C_i/C_a |
| Doses de magnésio (Mg) | 2 | 4,79* | 8,49* | 3,42* | 4,59* |
| Inoculação (I) | 1 | 1586,81** | 422,21** | 114,51** | 192,76** |
| Épocas de coleta (EC) | 4 | 13,74** | 13,19** | 11,69** | 10,75** |
| Mg \times I | 2 | 4,30* | 9,39* | 5,12* | 5,70* |
| Mg \times EC | 8 | 0,79 ^{ns} | 1,21 ^{ns} | 1,56 ^{ns} | 1,68 ^{ns} |
| I \times EC | 4 | 12,69** | 4,79* | 2,96* | 2,85* |
| Mg \times I \times EC | 8 | 0,91 ^{ns} | 1,57 ^{ns} | 0,29 ^{ns} | 0,51 ^{ns} |

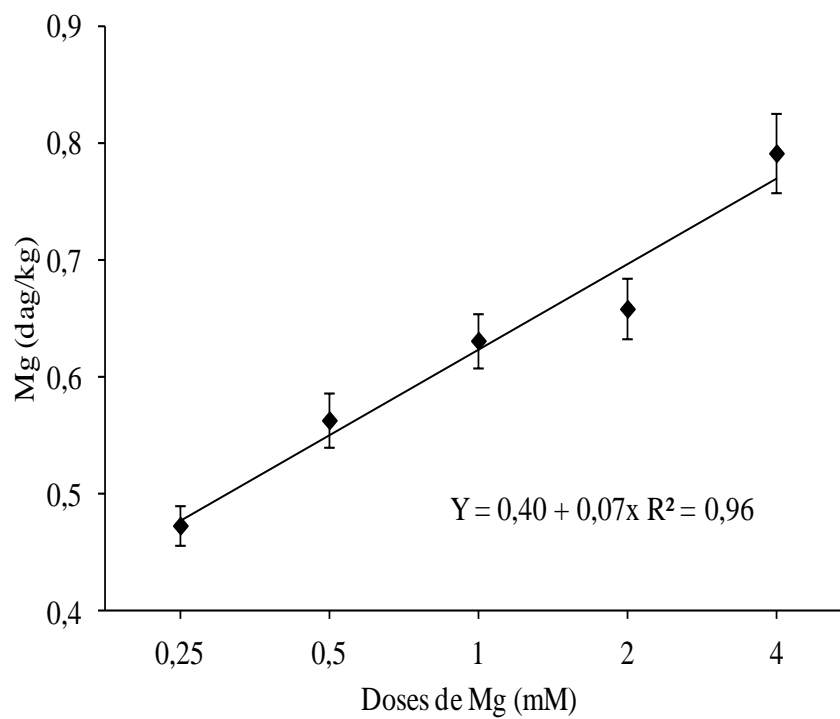
5 Níveis de probabilidade: ^{ns} = não significativo, * = 0,05 e ** = 0,01.
 6
 7

1 **Tabela 4.** Concentrações de clorofila *a* (Cl_a), clorofila *b* (Cl_b), clorofila total ($Cl_a + Cl_b$) e de
 2 carotenóides em folhas de plantas de arroz crescidas em solução nutritiva contendo
 3 diferentes doses de magnésio e inoculadas com *Bipolaris oryzae*.

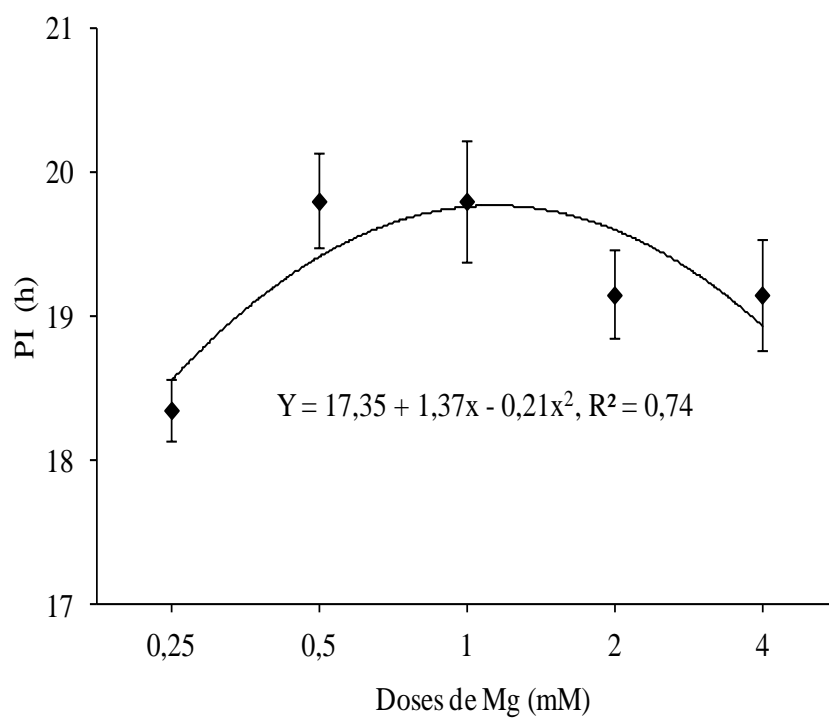
| Doses de Mg | 0 h | | | | 120 hai | | | |
|----------------|---------|--------|----------|--------|---------|---------|----------|---------|
| | Cl_a | Cl_b | Cl total | Car | Cl_a | Cl_b | Cl total | Car |
| 0,25mM | 11,26 a | 3,11 a | 18,94 a | 3,80 a | 7,36 a* | 2,09 b* | 17,49 b* | 3,55 a* |
| 2,5 mM | 9,76 b | 2,16ab | 12,68 c | 3,39 b | 7,29 a* | 2,08 b* | 16,02 c* | 3,91 a* |
| 4,0 mM | 6,90 c | 2,67 b | 16,00 b | 3,90 a | 7,90 a* | 2,65 a* | 19,89 a* | 3,84 a* |

5
 6 Médias em cada coluna seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) pelo teste de
 7 Tukey. * = diferença significativa entre 0 h e 120 hai para cada variável dentro de cada dose de Mg pelo teste-*t*.
 8 $n = 4$.

9

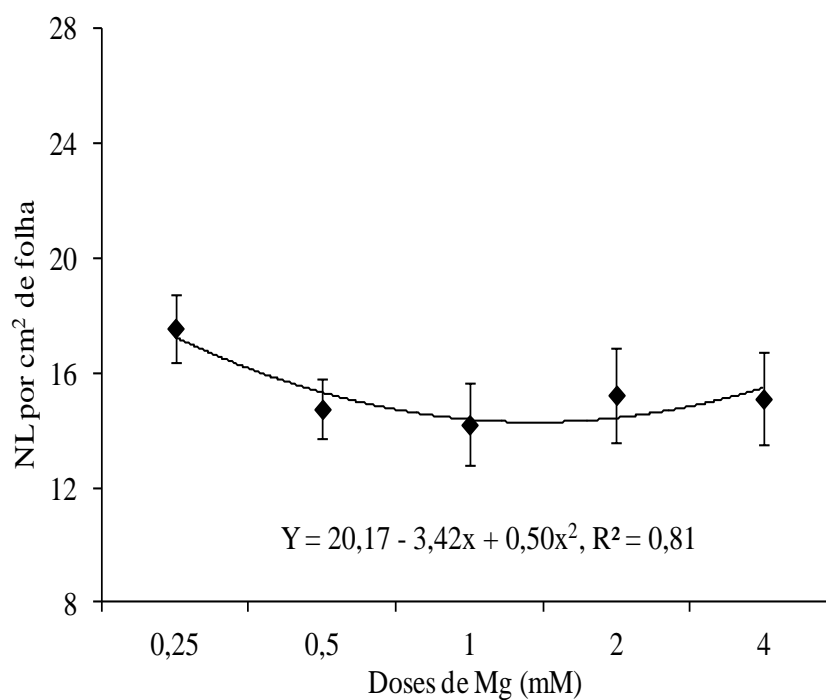


1
2 **Figura 1.** Concentração foliar de magnésio (Mg) em plantas de arroz crescidas em solução
3 nutritiva contendo doses crescentes de Mg.
4

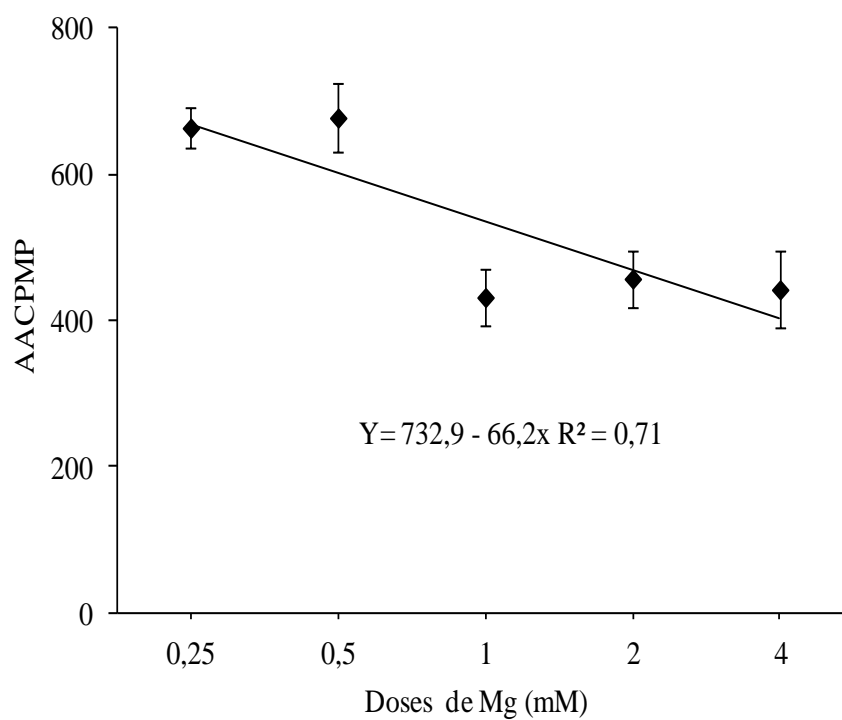


1
2
3
4

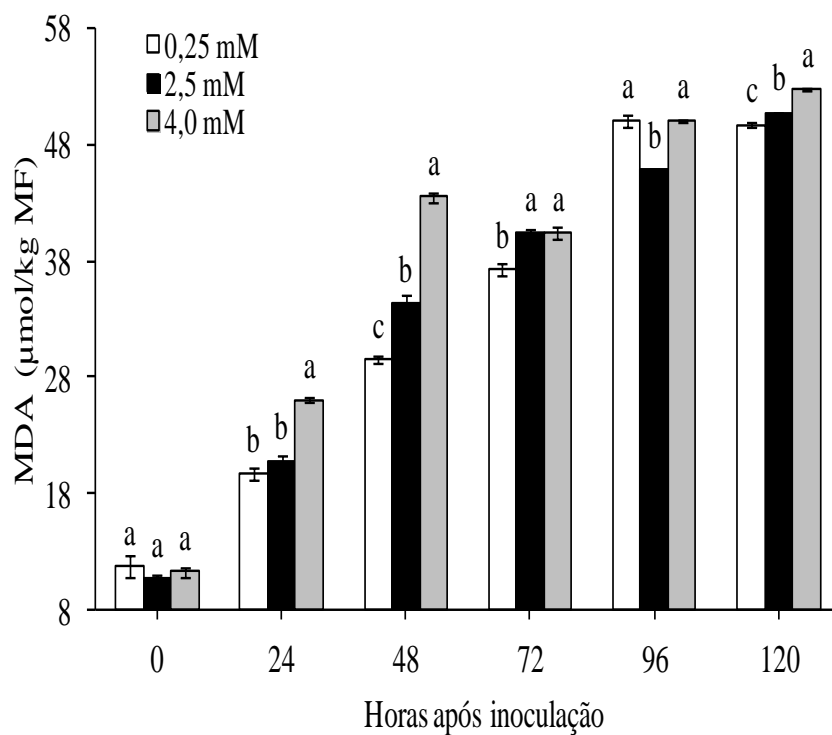
Figura 2. Período de incubação (PI) da mancha parda nas folhas de plantas de arroz crescidas em solução nutritiva contendo doses crescentes de magnésio (Mg).



1
2 **Figura 3.** Número de lesões (NL) de mancha parda em folhas de plantas de arroz crescidas
3 em solução nutritiva contendo doses crescentes de magnésio (Mg).
4

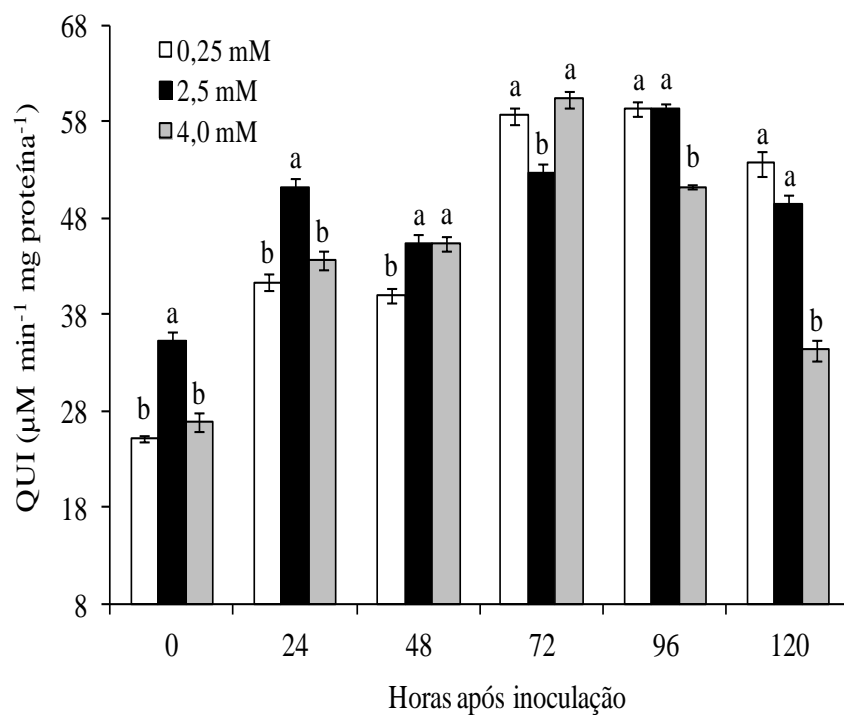


1
2 **Figura 4.** Área abaixo da curva do progresso da mancha parda (AACPMP) em folhas de
3 plantas de arroz crescidas em solução nutritiva contendo doses crescentes de magnésio (Mg).
4



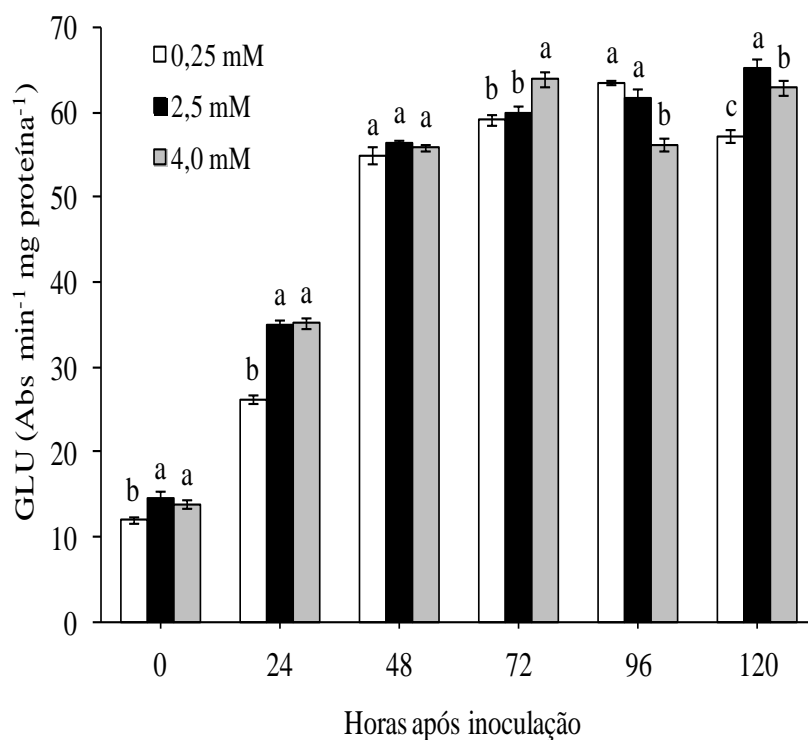
1
2
3
4
5
6
7
8

Figura 5. Concentração de aldeído malônico (MDA) em folhas de plantas de arroz crescidas em solução nutritiva contendo diferentes doses de magnésio e inoculadas com *Bipolaris oryzae*. Barras representam o desvio padrão da média. Médias das três doses de magnésio, para cada época de avaliação, seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. $n = 4$. MF = matéria fresca.



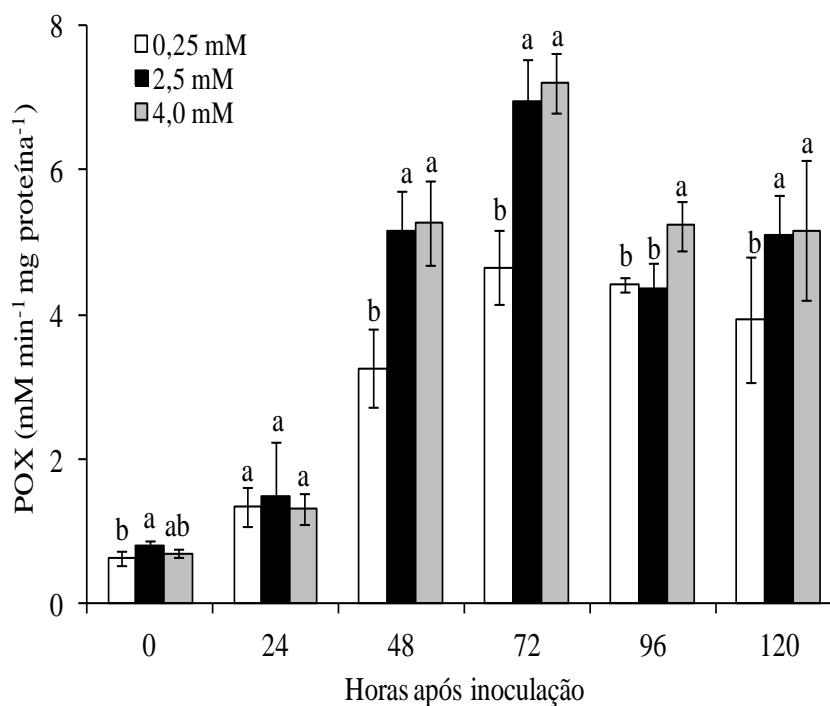
1
2
3
4
5
6
7

Figura 6. Atividade de quitinasas (QUI) em folhas de plantas de arroz crescidas em solução nutritiva contendo diferentes doses de magnésio e inoculadas com *Bipolaris oryzae*. Barras representam o desvio padrão da média. Médias das três doses de magnésio, para cada época de avaliação, seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. $n = 4$.



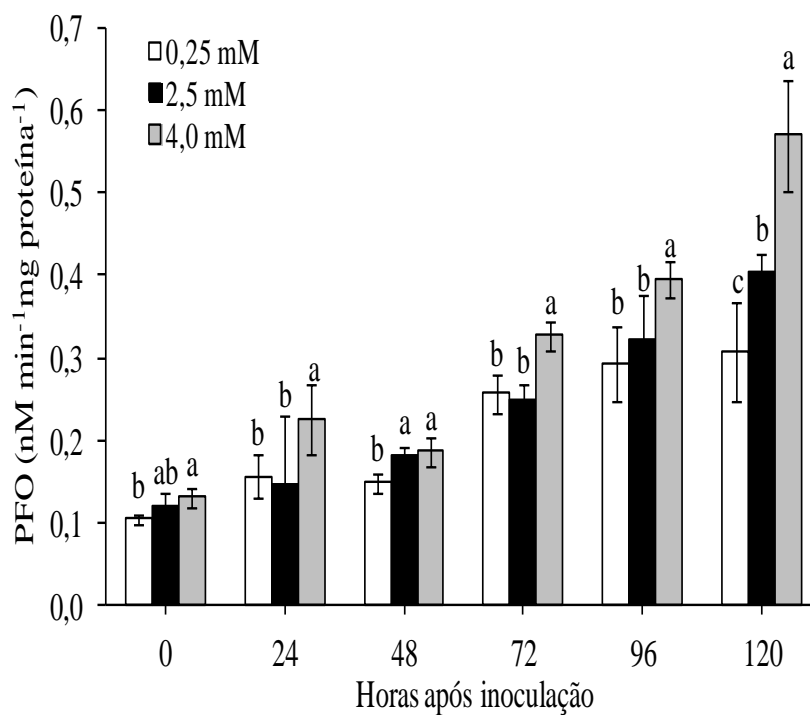
1
2
3
4
5
6
7

Figura 7. Atividade de β -1,3-glucanases (GLU) em folhas de plantas de arroz crescidas em solução nutritiva contendo diferentes doses de magnésio e inoculadas com *Bipolaris oryzae*. Barras representam o desvio padrão da média. Médias das três doses de magnésio, para cada época de avaliação, seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. $n = 4$.



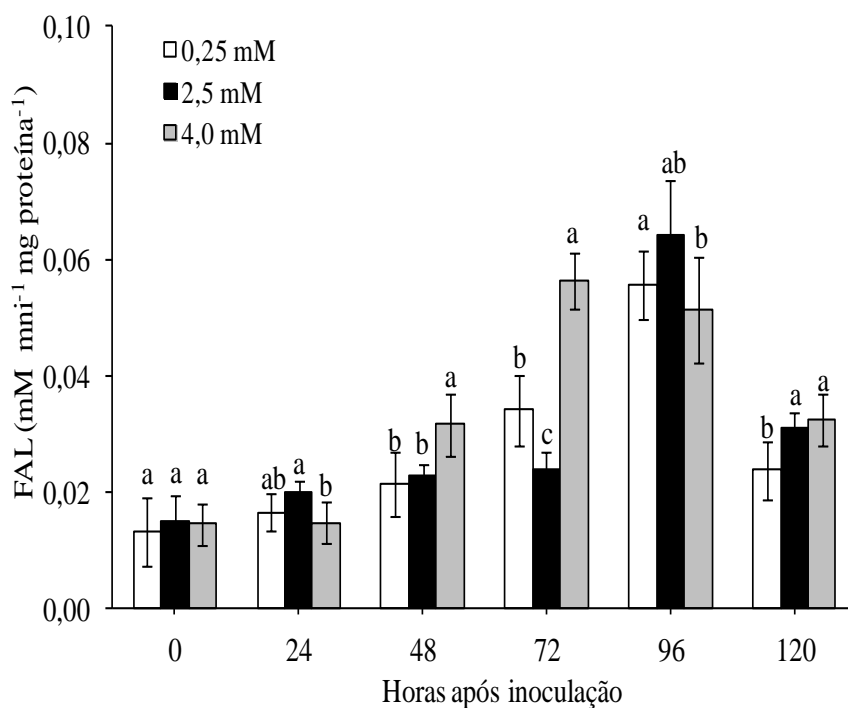
1
2
3
4
5
6
7

Figura 8. Atividade de peroxidases (POX) em folhas de plantas de arroz crescidas em solução nutritiva contendo diferentes doses de magnésio e inoculadas com *Bipolaris oryzae*. Barras representam o desvio padrão da média. Médias das três doses de magnésio, para cada época de avaliação, seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. $n = 4$.



1
2
3
4
5
6
7
8

Figura 9. Atividade de polifenoloxidasas (PFO) em folhas de plantas de arroz crescidas em solução nutritiva contendo diferentes doses de magnésio e inoculadas com *Bipolaris oryzae*. Barras representam o desvio padrão da média. Médias das três doses de magnésio, para cada época de avaliação, seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. $n = 4$.



1
2
3
4
5
6
7

Figura 10. Atividade de fenilalanina amônia-liases (FAL) em folhas de plantas de arroz crescidas em solução nutritiva contendo diferentes doses de magnésio e inoculadas com *Bipolaris oryzae*. Barras representam o desvio padrão da média. Médias das três doses de magnésio, para cada época de avaliação, seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. $n = 4$.

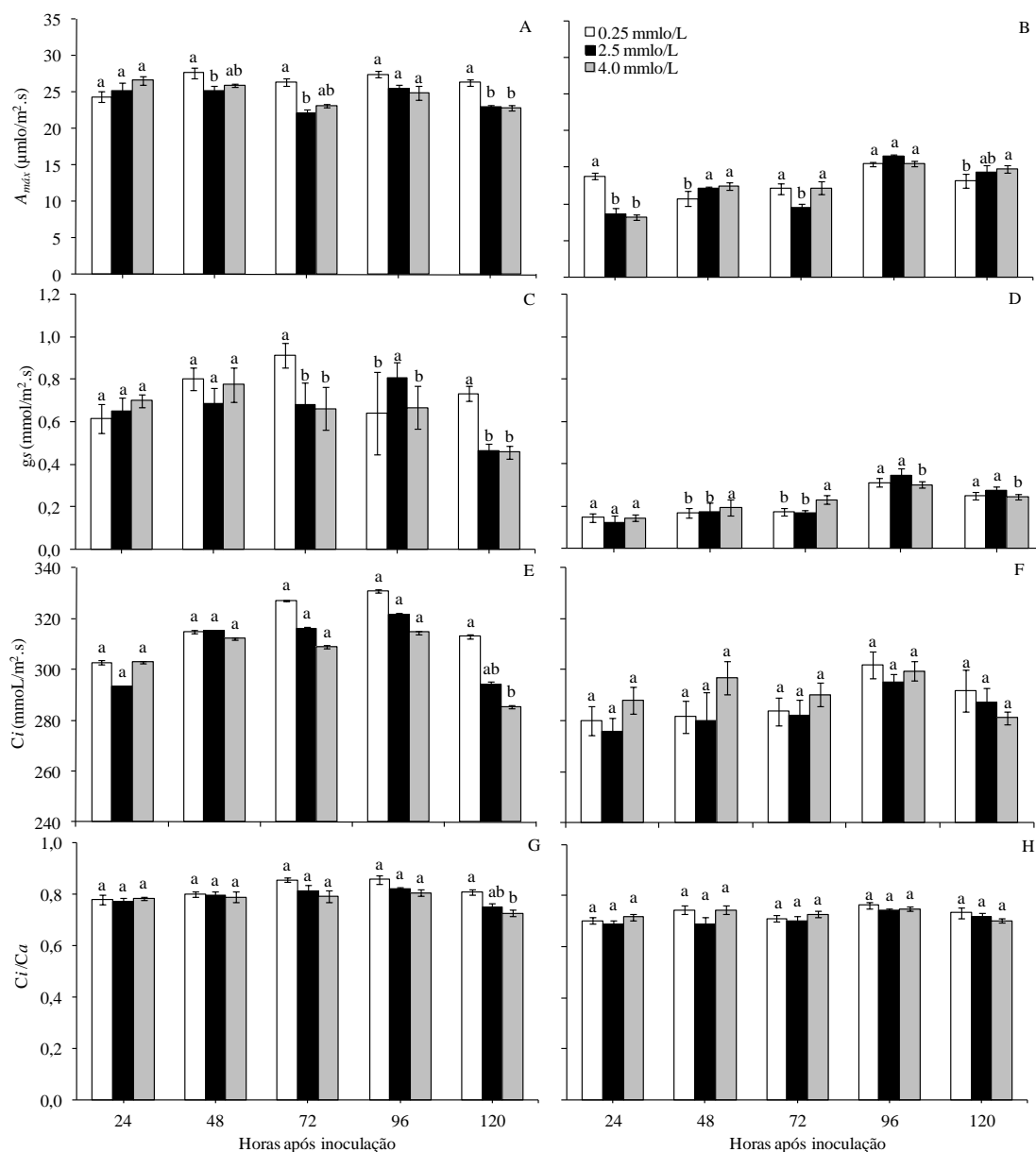


Figura 11. Taxa máxima de assimilação líquida de carbono ($A_{m\acute{a}x}$) (A e B), condutância estomática (g_s) (C e D), concentração interna de CO_2 (C_i) (E e F) e razão entre a concentração interna e ambiente de CO_2 (C_i/C_a) (G e H) determinadas em folhas de plantas de arroz crescidas em solução nutritiva contendo doses crescentes de magnésio e não inoculadas (A, C, E e G) ou inoculadas (B, D, F e H) com *Bipolaris oryzae*. Barras representam o desvio padrão da média. Médias das três doses de magnésio, para cada época de avaliação, seguidas da mesma letra não são significativamente diferentes ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. $n = 4$.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16

Tropical Plant Pathology - Fitopatologia Brasileira

NORMAS PARA PREPARO E SUBMISSÃO DE MANUSCRITOS – RESUMO

Escopo da Revista

A revista Tropical Plant Pathology é um periódico internacional, de periodicidade bimestral, publicado pela Sociedade Brasileira de Fitopatologia. Tem como objetivo a publicação de resultados de pesquisa básica e aplicada sobre todos os aspectos da Fitopatologia. Trabalhos sobre prospecção ou avaliação de produtos naturais e sintéticos ou sobre elementos de resistência a patógenos podem ser aceitos como artigo somente se apresentarem informações inéditas sobre o modo de ação ou mecanismos de resistência. Primeiros relatos de fitodoenças devem ser apresentados no formato ‘Comunicação’. Embora Tropical Plant Pathology seja órgão oficial da Sociedade Brasileira de Fitopatologia, contribuições de membros e não-membros da Sociedade são bem vindas.

Submissão de Manuscritos

Manuscritos devem ser enviados para:

Ludwig H. Pfenning, Editor Chefe
Tropical Plant Pathology – Comissão Editorial
Universidade Federal de Lavras
Cx. Postal 3066
37200-000 Lavras - MG

Documentos necessários para submissão de manuscrito:

- a) Uma carta de encaminhamento, assinada por todos os autores, declarando a sua anuência com a submissão do manuscrito e que a matéria não está sendo avaliada nem publicada em outro periódico;
- b) Declaração de transferência de direitos autorais à Editora, disponível na página da revista na Web;
- c) Uma versão impressa do manuscrito, incluindo fotografias e demais elementos gráficos;
- d) Cópia digital do texto e tabelas em plataforma Windows, Figuras em TIFF ou JPEG, gravadas em arquivos separados. CD's e disquetes devem ser identificados com o nome e sobrenome do primeiro autor;
- e) Comprovante de depósito da taxa de tramitação no valor de R\$ 50, em favor de Banco do Brasil, agência 0364-6, conta no. 36.981-0.

A falta de qualquer elemento pode causar atrasos na tramitação ou devolução do manuscrito mesmo antes da revisão. A Comissão Editorial aprecia os esforços envidados pelos autores para que o texto seja elaborado em linguagem correta antes da submissão.

1 **Artigo Científico**

2 O texto do manuscrito deve ser redigido em Inglês, em espaço duplo usando fonte 12 pt,
3 impresso em papel A4 em um só lado, com margens de 2,5 cm, numeração contínua de
4 páginas e linhas, começando pela primeira página, incluindo Agradecimento, Referências,
5 Tabelas e Legendas. Manuscritos redigidos em Português ou Espanhol também serão
6 aceitos.

7 A Página inicial deve conter o título, de preferência com não mais de 150 caracteres
8 com espaços; nome dos autores, local de trabalho ou local da realização do trabalho,
9 incluindo Departamento ou Setor, Instituição, CEP, cidade, estado e país; nome do autor
10 para correspondência, incluindo endereço de e-mail. O “**Abstract**” deve ser redigido em
11 parágrafo único com não mais de 200 palavras. Até seis palavras chave devem ser incluídas,
12 diferentes de termos mencionados no título. Todos os manuscritos incluem também um
13 Resumo em português. Manuscritos redigidos em português ou espanhol incluem também
14 um Abstract em inglês. O **texto** deve ser redigido da forma mais sucinta e objetiva possível e
15 incluir os seguintes elementos Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão.

16 **Tabelas** devem ser inseridas após a seção Referências Bibliográficas e receber um título
17 conciso e informativo no cabeçalho. Devem ser numeradas de acordo com sua citação no
18 texto. Rodapés devem ser indicados com números sobrescritos. **Figuras** devem ser
19 numeradas de acordo com sua citação no texto, sendo formatadas aproximadamente de
20 acordo com a largura das colunas da revista. Gráficos e fotografias devem ser apresentados
21 em formato TIFF ou JPEG, gravados em arquivos separados. As legendas devem ser
22 apresentadas no manuscrito em página própria, após a seção Referências Bibliográficas. Os
23 autores devem inserir chaves e barra diretamente na figura. As imagens precisam ter
24 resolução mínima de 300 dpi. Desenhos e gráficos necessitam resolução mínima de 600-
25 1200 dpi.

26 **Comunicação**

27 Publicação de resultados e observações que não justifiquem a publicação de um artigo
28 completo, e de relatos originais de fitodoenças para o território brasileiro ou outros países.
29 Registros novos para regiões ou estados da Federação são aceitos somente em casos
30 específicos. Devem possuir 12 páginas ou menos, já incluindo referências. Todos os
31 manuscritos incluem também um Resumo em português. O texto deve ser redigido em
32 seqüência única, incluindo Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão. São
33 aceitáveis até duas figuras e duas tabelas. O formato da primeira página e da seção
34 Bibliografia segue o do Artigo.

35

1 Autoria

2 Quem submete manuscritos para Tropical Plant Pathology - Fitopatologia Brasileira
3 deve respeitar a pesquisa de seus pares, evitando a desvalorização da co-autoria. Cada autor
4 deve ter oferecido contribuição intelectual substancial quanto ao desenho, a condução,
5 análise ou interpretação do estudo. Cada autor precisa aprovar a versão final do manuscrito a
6 ser publicado e estar disposto a assumir publicamente responsabilidade por sua contribuição
7 no trabalho. O primeiro autor, assim como o autor para correspondência, devem assumir
8 responsabilidade pública para o trabalho na íntegra.

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

1 Conclusão

- 2
- 3 • A concentração de Mg nos tecidos aumentou com o acréscimo da dose
- 4
- 5 • Os resultados obtidos nesse estudo permitem concluir que a magnitude no controle
- 6 da mancha parda do arroz pelo Mg, avaliada por meio de alguns componentes de
- 7 resistência, foi dependente da concentração desse elemento na folha.
- 8
- 9 • Hove um aumento da atividade de algumas enzimas, potencializando os mecanismos
- 10 de resistência da planta, que somado ao estado nutricional e de desenvolvimento,
- 11 conferiu resistência.
- 12
- 13 • Houve diferença entre a concentração de Cl_a entre as doses empregadas e inculadas
- 14 ou não com o fungo *B.oryzae*, nos demais Cl_b , Cl_{total} e Car não houve uma diferença
- 15 expressiva entre as doses empregadas e também em relação as inoculadas ou não
- 16 obeservou a mesma tendência.
- 17
- 18 • Houve diferença entre as plantas sadias e inoculadas parâmetros $A_{máx}$, g_s , C_i e C_i/C_a ,
- 19 mais em relação as doses empregadas não houve diferença significativa, mesmo com
- 20 a concentração tendo aumentado nos tecido.
- 21