



**Universidade Federal de Viçosa**  
**Departamento de Fitopatologia**

**Laboratório da Interação Patógeno-Hospedeiro**

# **Resistência de Plantas a Patógenos Conferida pelo Silício**

***Fabrício Ávila Rodrigues***



SIMPÓSIO SOBRE  
**RELAÇÕES ENTRE NUTRIÇÃO MINERAL  
E INCIDÊNCIA DE DOENÇAS DE PLANTAS**



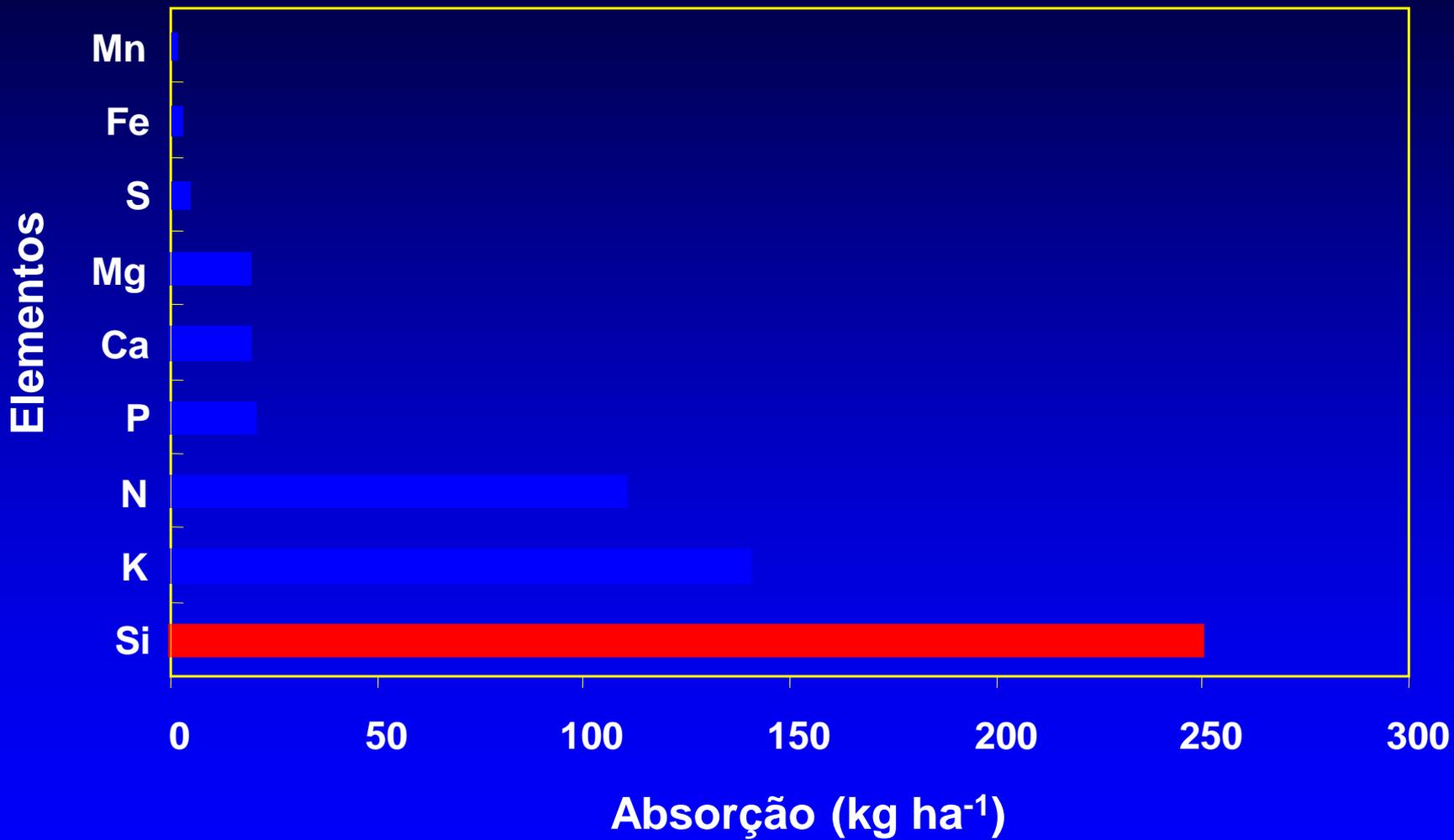


O silício é o segundo elemento mais abundante na natureza depois do oxigênio e ocupa, em peso, cerca de 25,7% da crosta terrestre.



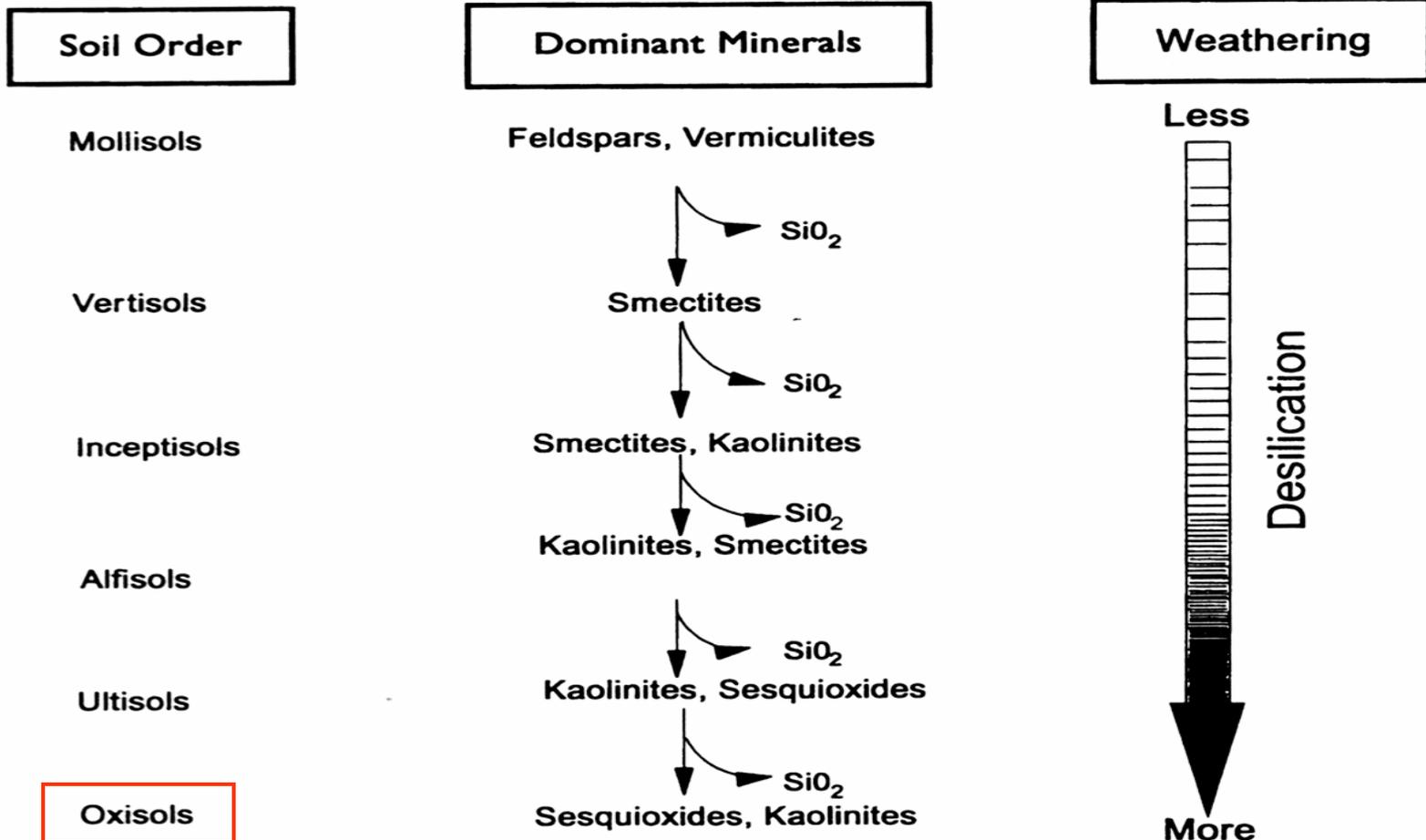
**Volastonita**

# Absorção estimada de alguns nutrientes pelo arroz para produção de 5 t ha<sup>-1</sup> de grãos



Fonte: IFA (1992)

# Intemperismo no Solo



# O silício e a resistência de plantas a patógenos

---

- a) Barreira mecânica**
- b) Barreira química**
- c) Ação conjunta dessas barreiras**

**+Si**



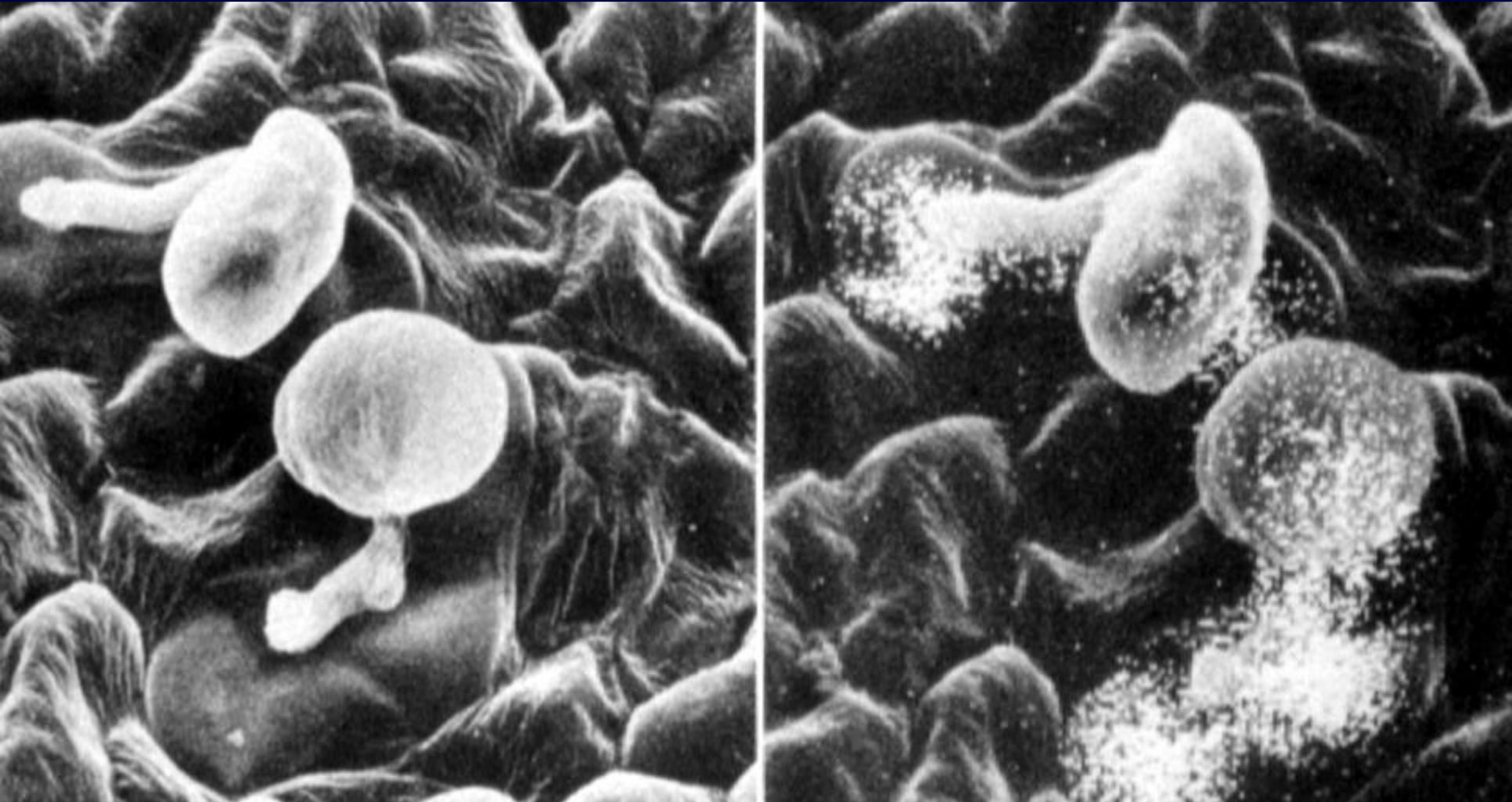
## **Míldio Pulverulento em pepineiro**

**Menzies et al.  
(1991)**

**-Si**

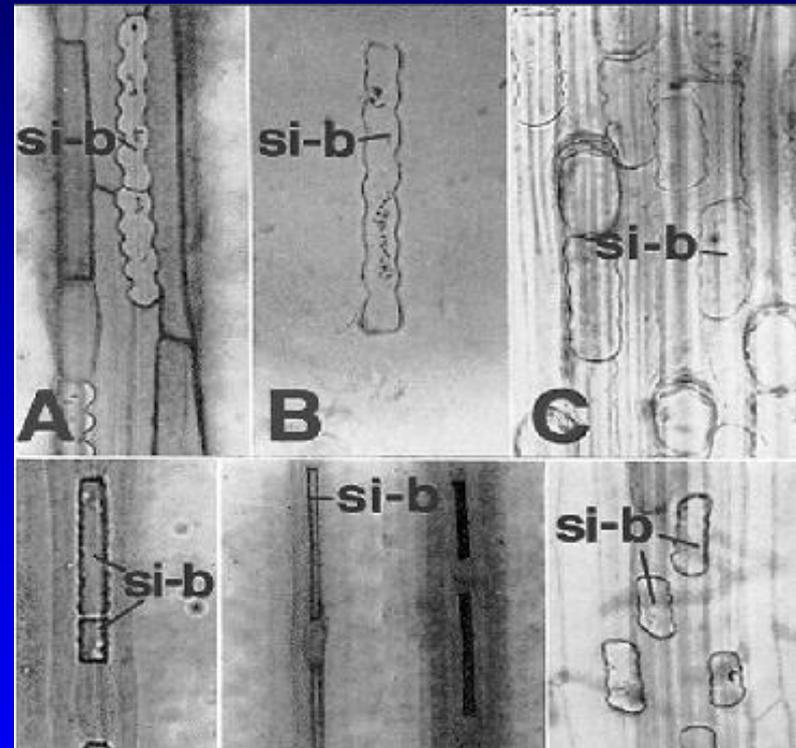
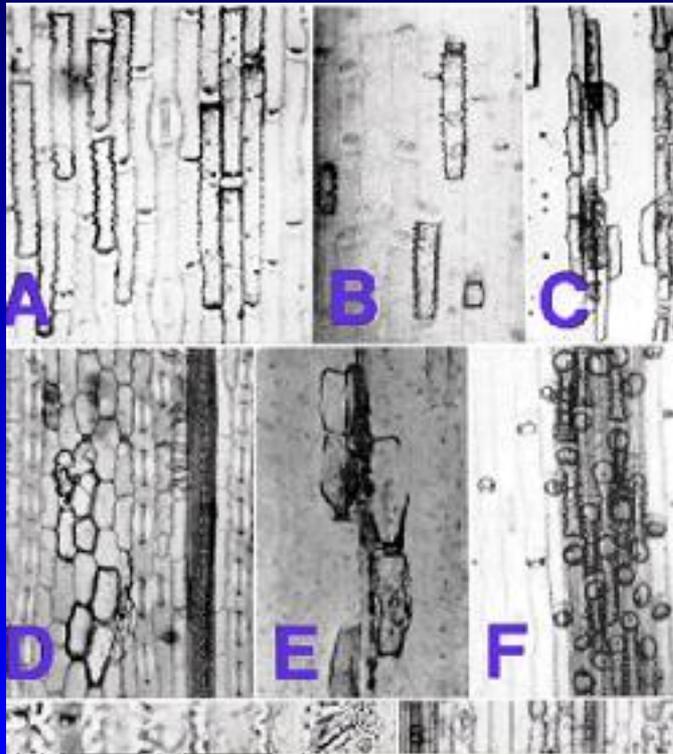


# Deposição de Si nos locais de penetração



Microscopia de varredura acoplada a raio-X

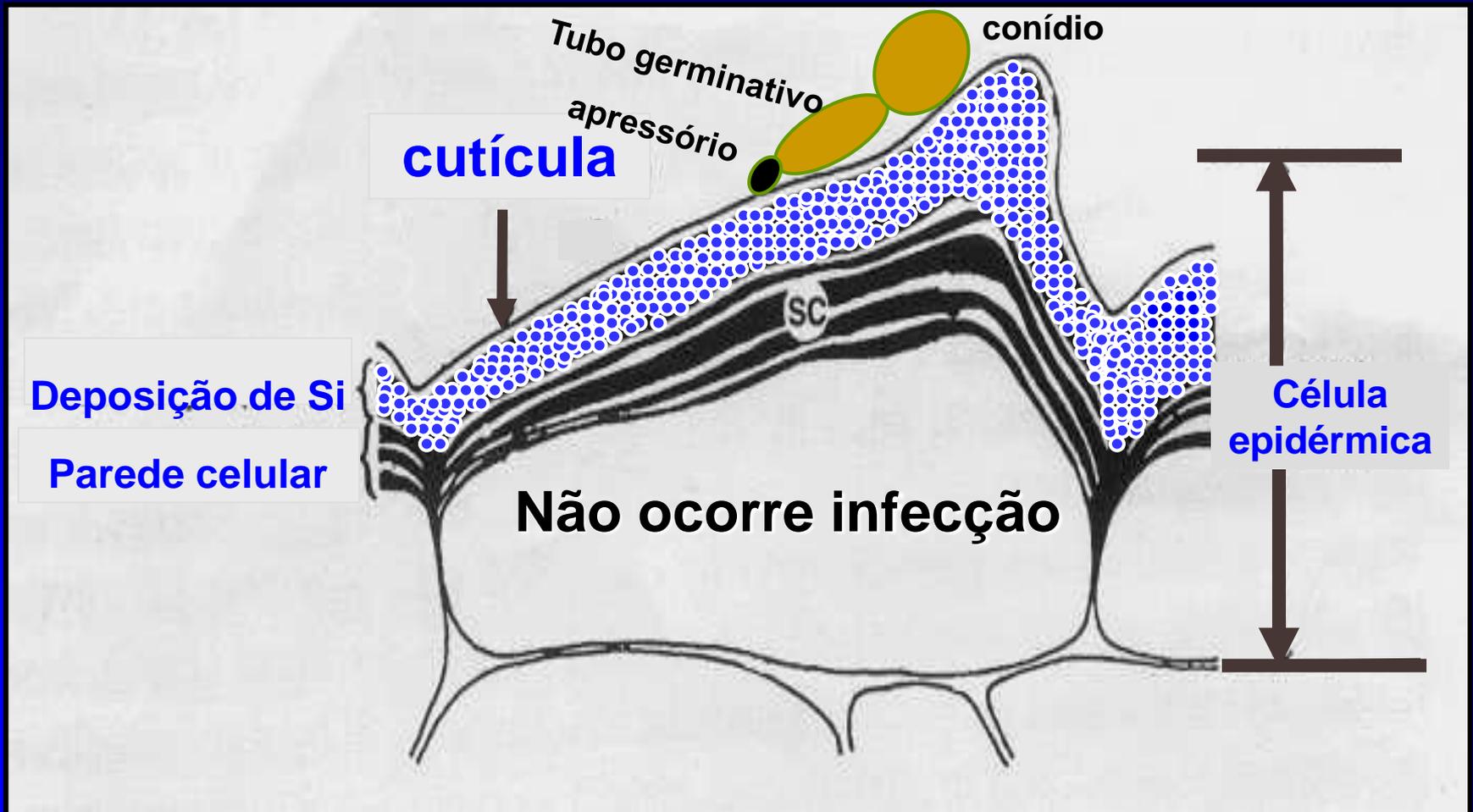
# Células epidérmicas silicificadas



Fonte: Silicified Cells of Grasses, Bonnett (1972)

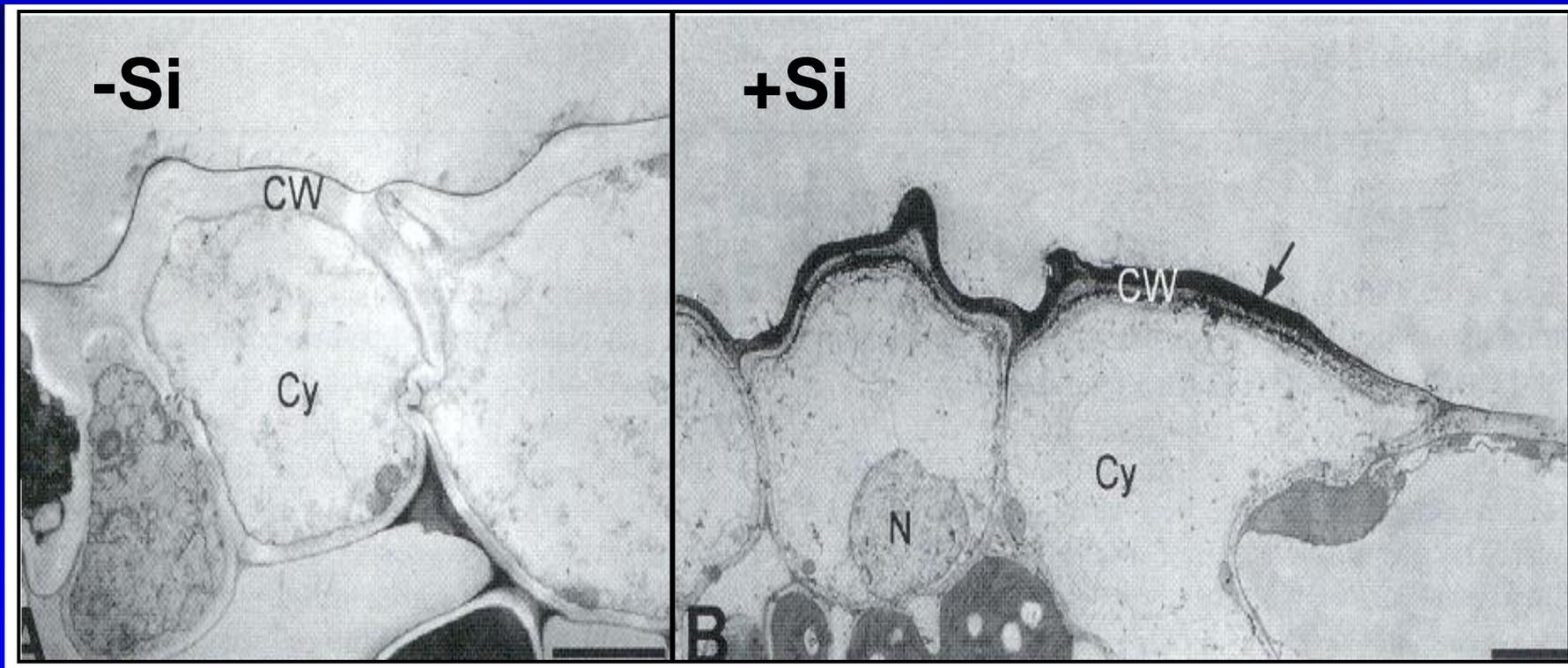
# Barreira Mecânica

Camada dupla cutícula-silício (Yoshida et al., 1962)



# Silicon-Induced Cell Wall Fortification of Rice Leaves: a Possible Cellular Mechanism of Enhanced Host Resistance to Blast

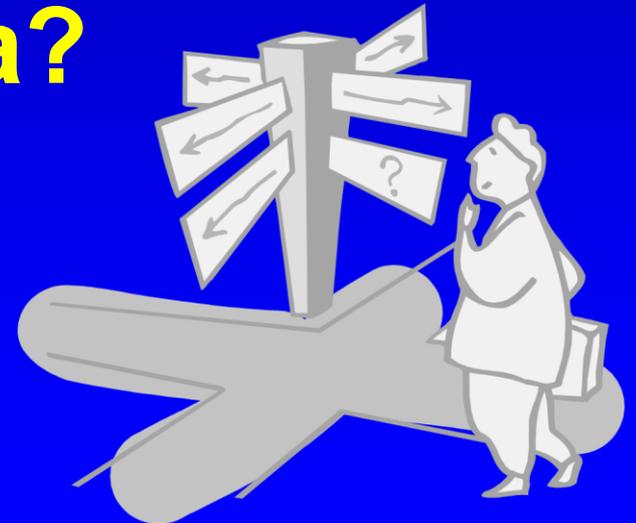
Sang Gyu Kim, Ki Woo Kim, Eun Woo Park, and Doil Choi  
Phytopathology, v. 92, p. 1095-1103, 2002



O silício continua exercendo uma ação passiva



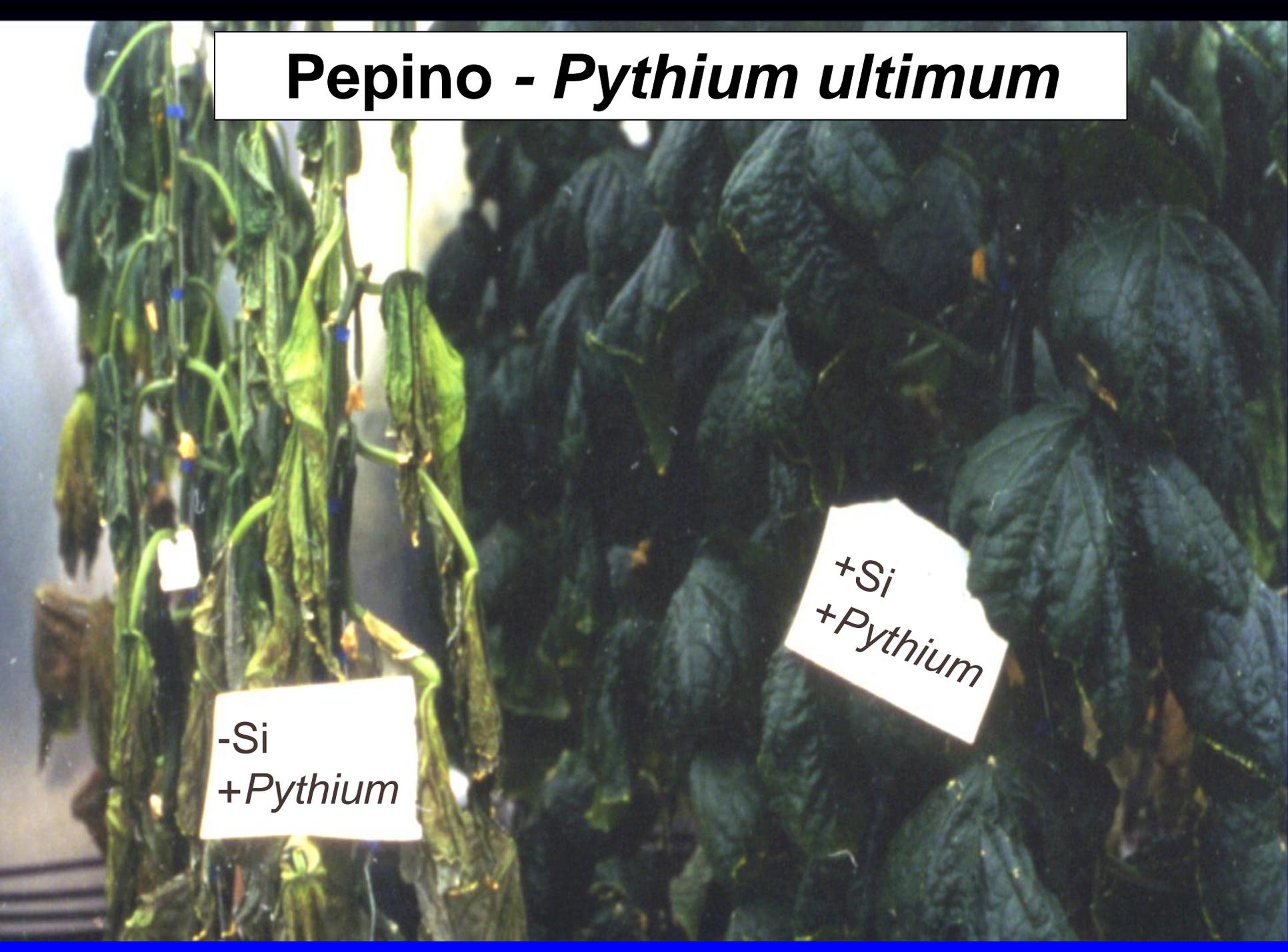
**A resistência de plantas a patógenos conferida pelo Si pode ser ativa?**

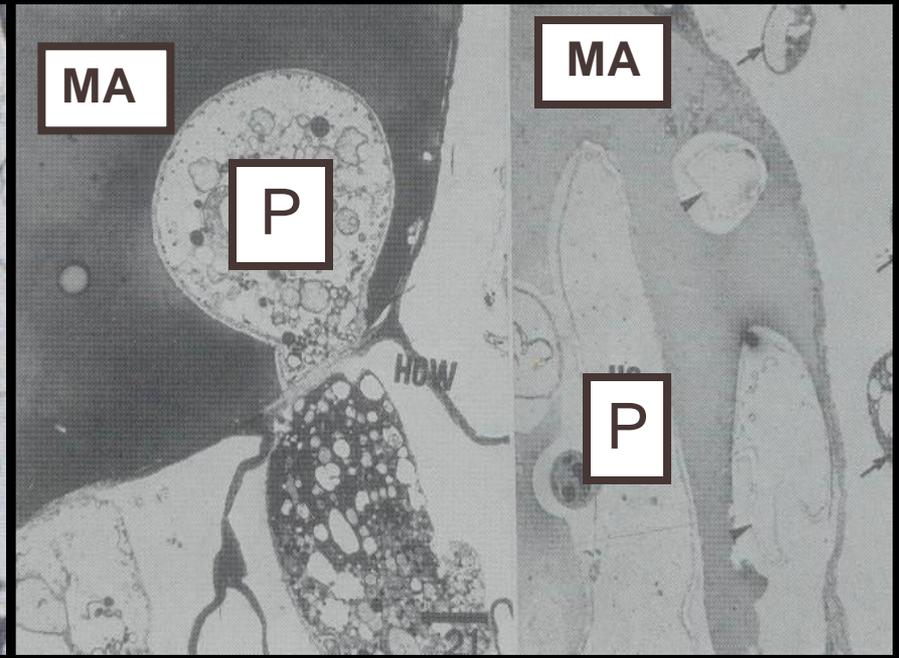
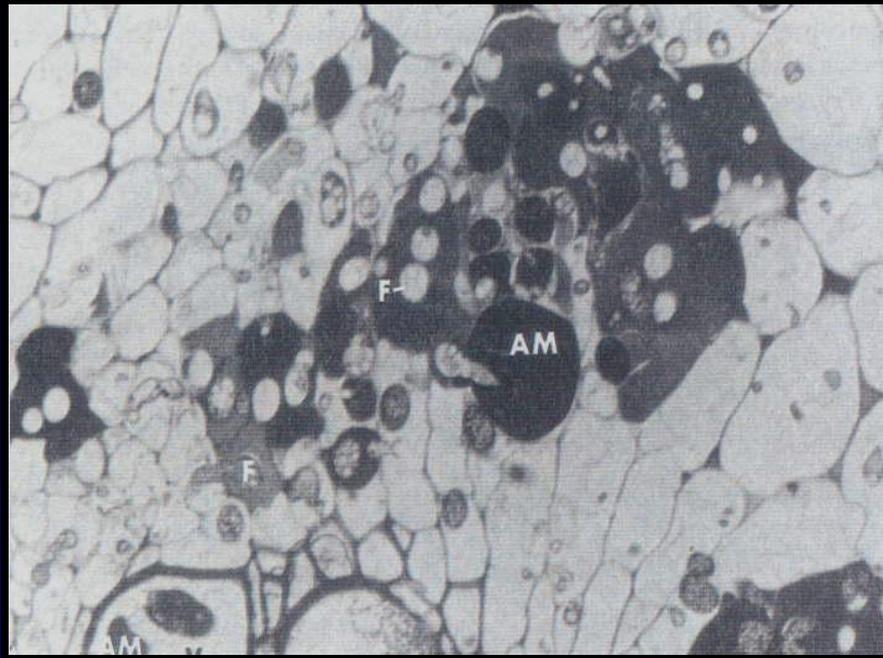


# Pepino - *Pythium ultimum*

-Si  
+*Pythium*

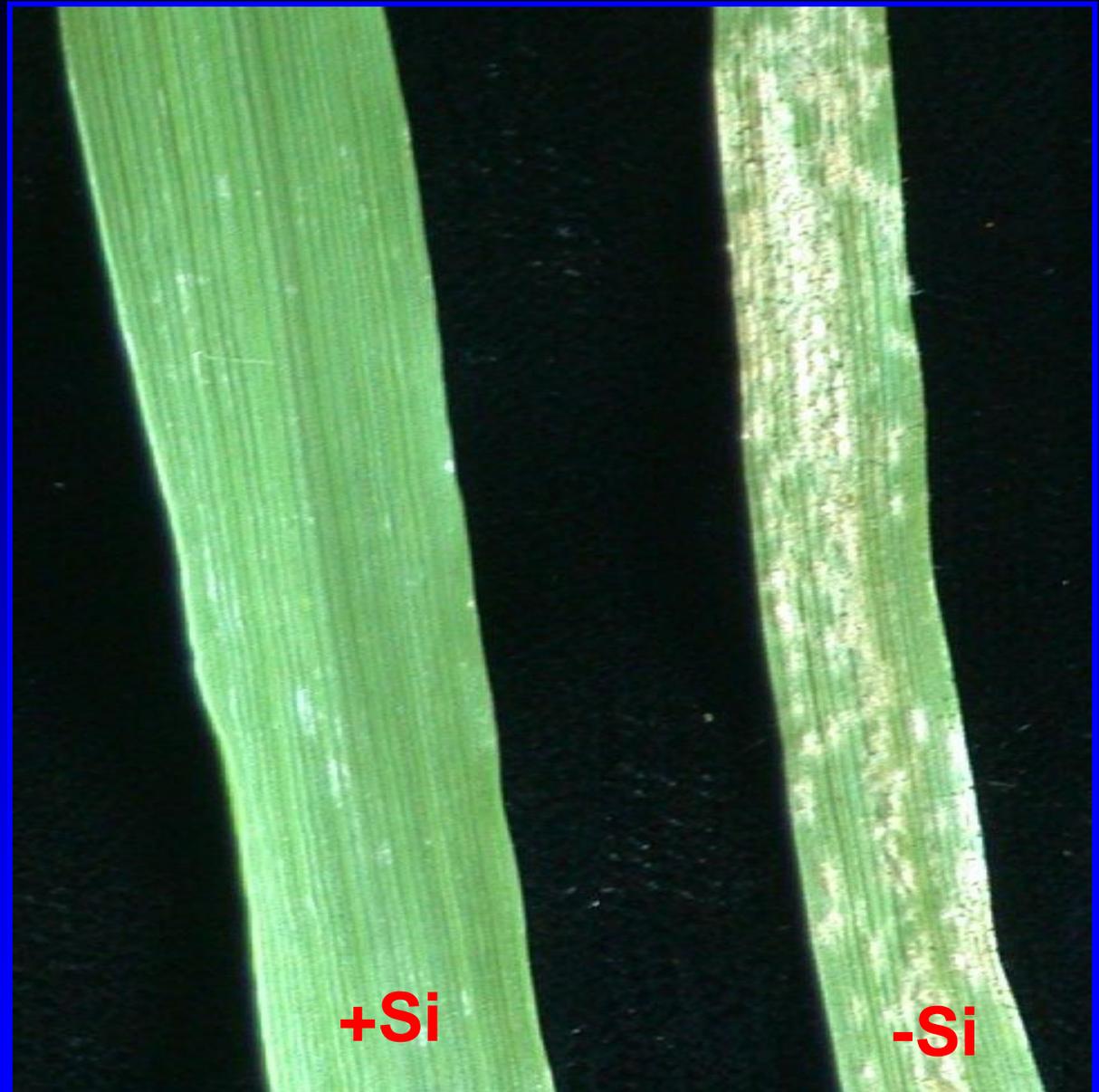
+Si  
+*Pythium*





- deposição de material amorfo em células de raízes de pepineiro suprido com Si.
- o micélio de *Pythium ultimum* sofreu intenso colapso.
- ocorreu uma diferença em tempo e extensão na ativação da resistência do pepineiro ao patógeno, em comparação com plantas não recebendo Si.

**Míldio  
Pulverulento  
em Trigo**



(Bélanger et al. 2004)

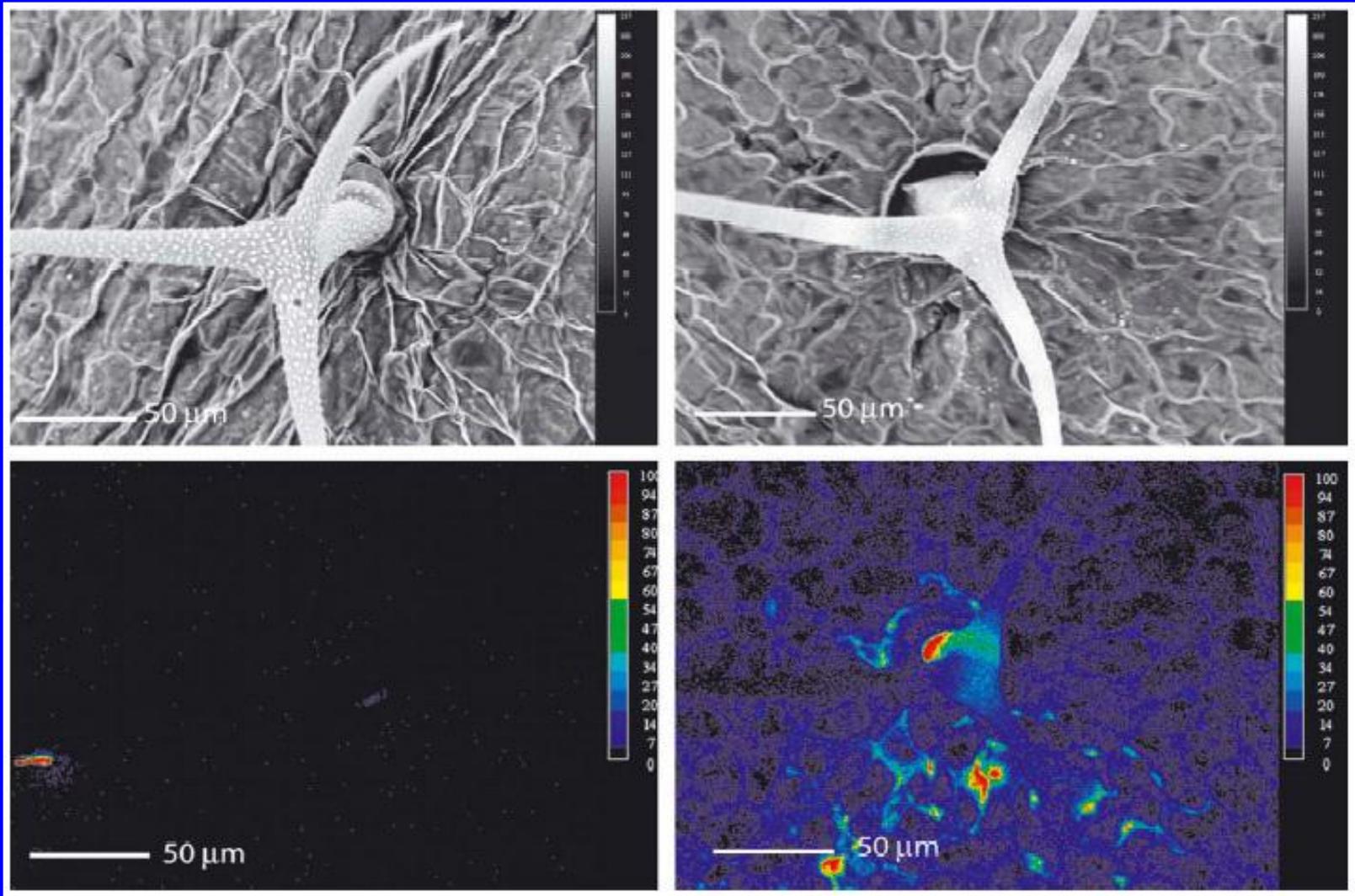
**Powdery mildew of *Arabidopsis thaliana*: a pathosystem for exploring the role of silicon in plant–microbe interactions**

**(Ghanmia et al., Physiological and Molecular Plant Pathology 64:189-199, 2004)**

# Acúmulo de Si em *Arabidopsis thaliana*

-Si

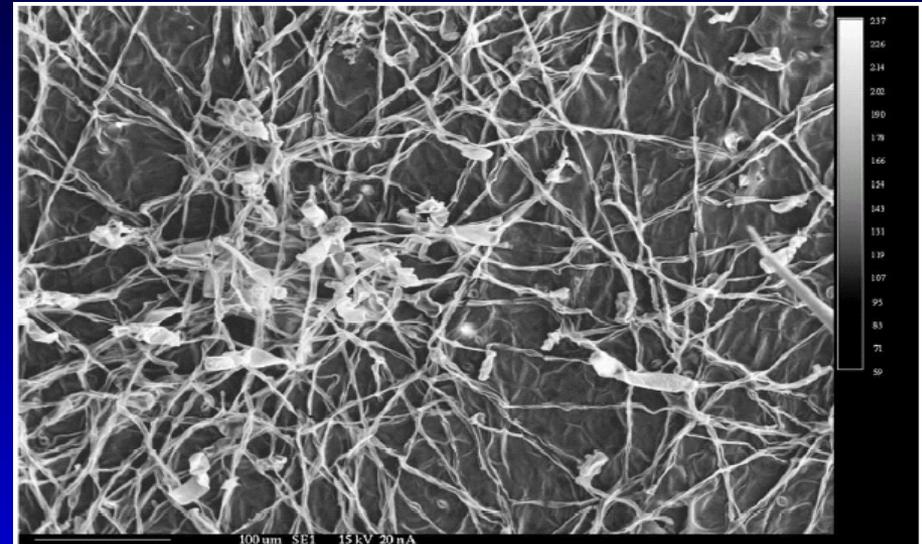
+Si



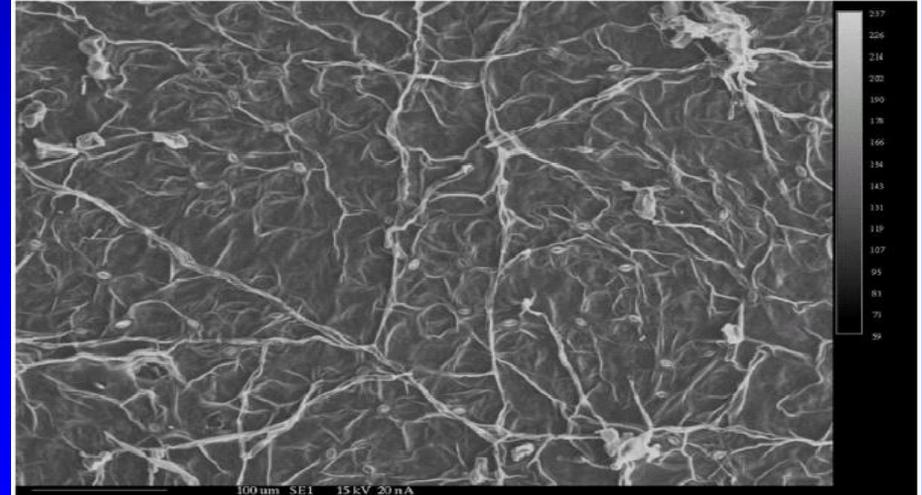
(Ghanmia et al., 2004)

# Arabidopsis – Míldio Pulverulento (*Erysiphe cichoracearum*)

-Si



+Si

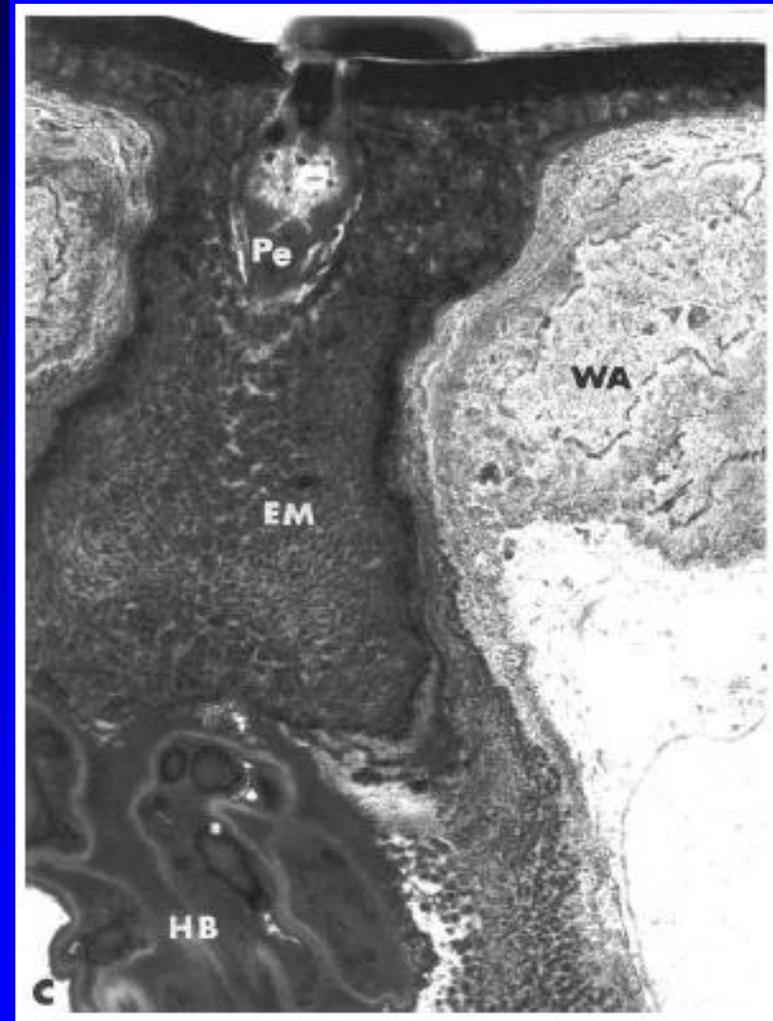
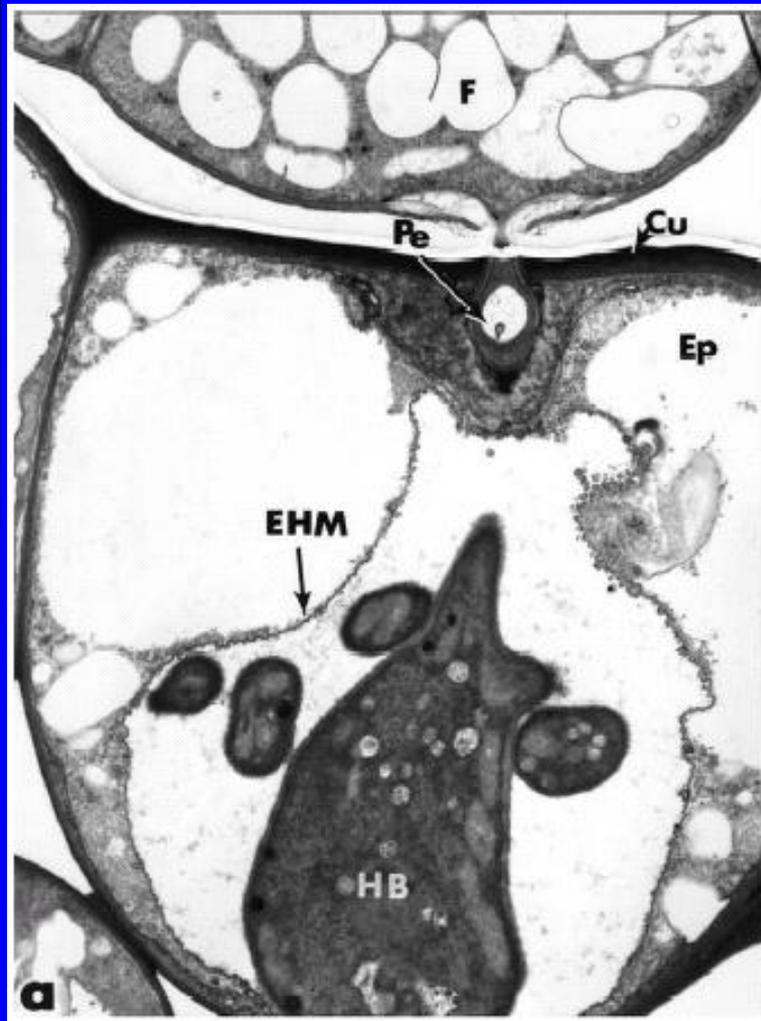


(Ghanmia et al., 2004)

# Arabidopsis – Míldio Pulverulento

-Si

+Si



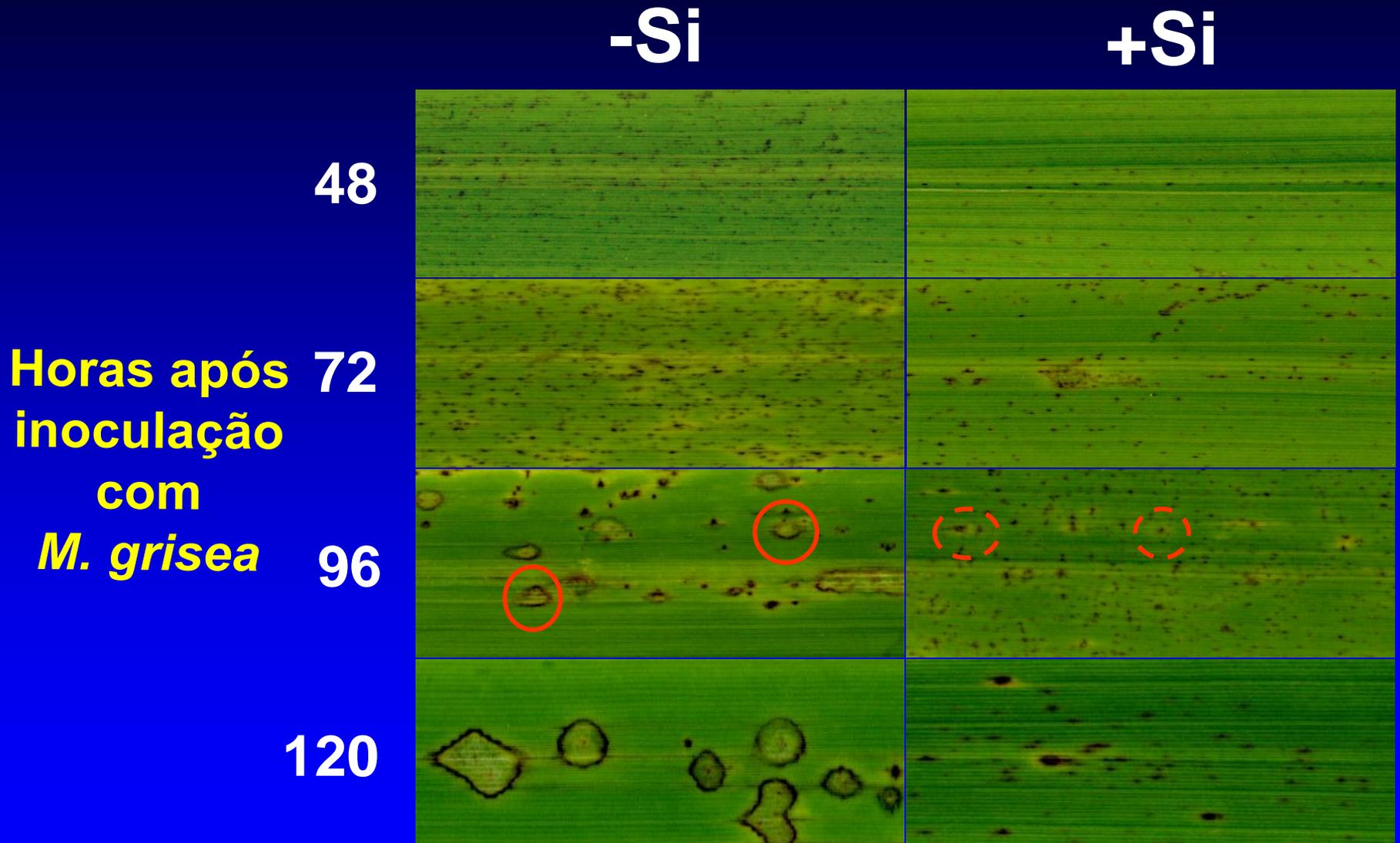
(Ghanmia et al., 2004)

# **The influence of silicon on components of resistance to blast in susceptible, partially resistant, and resistant cultivars of rice**

**(Seebold et al., Phytopathology 91:63-69, 2001)**

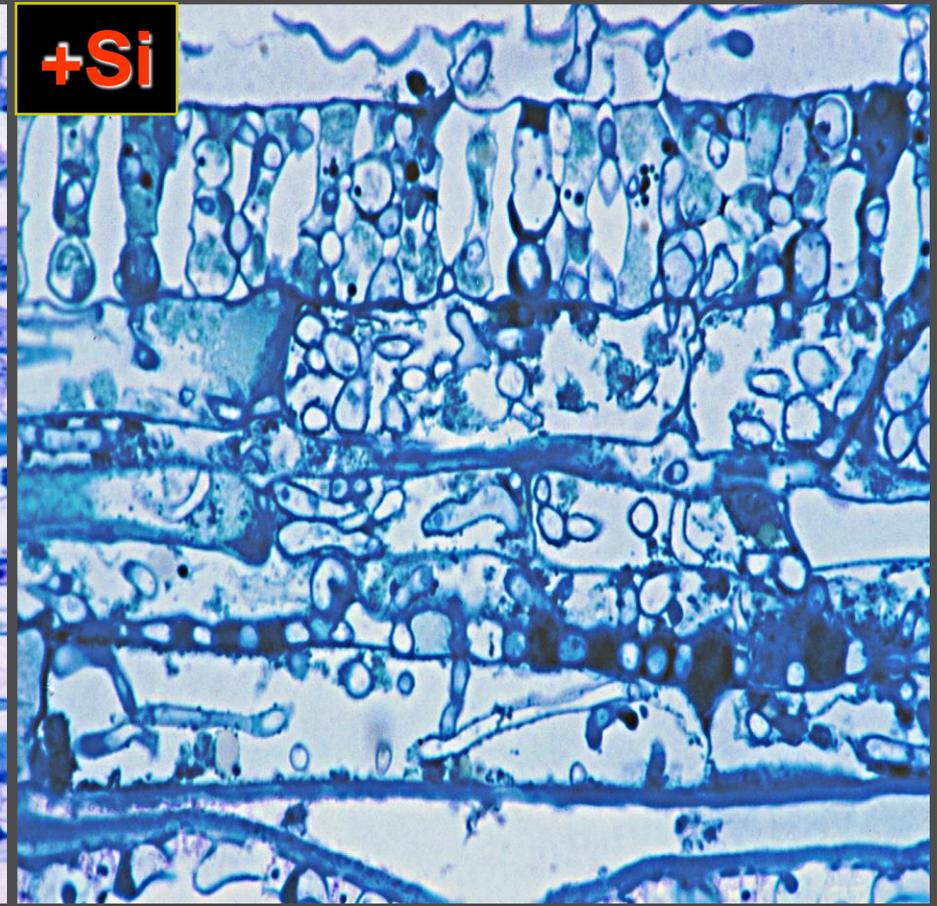
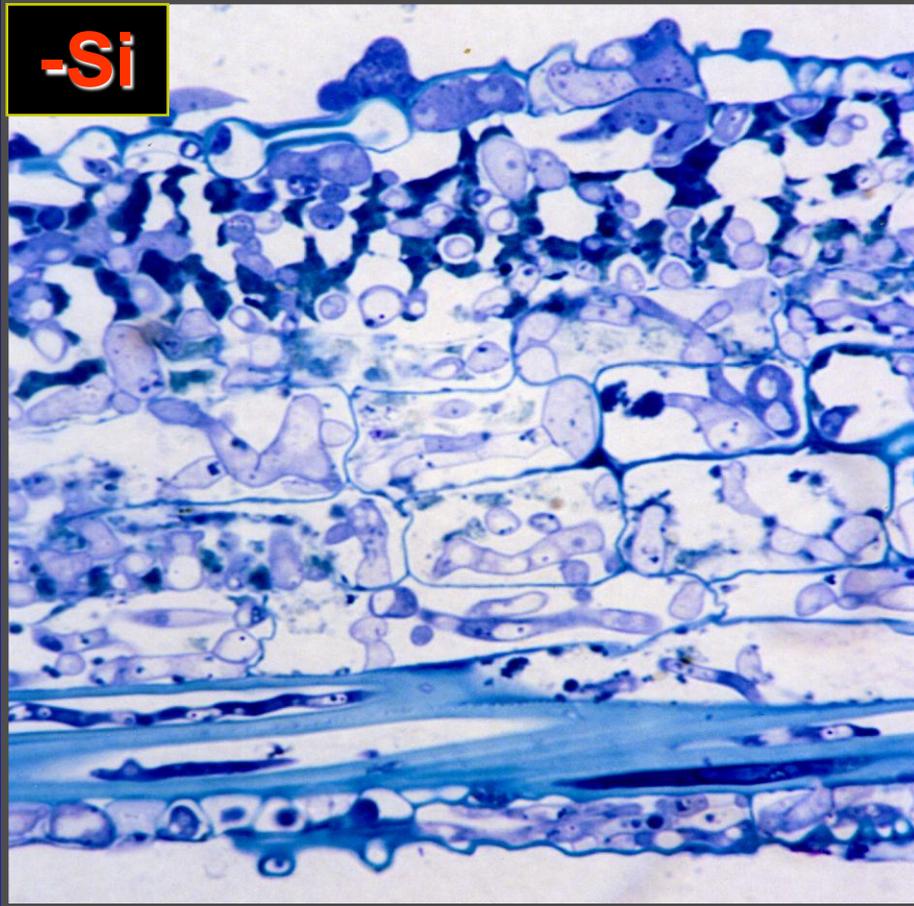
- ▶ **aumento no período de incubação.**
- ▶▶ **decréscimo significativo:**
  - a) **no número de lesões esporulantes.**
  - b) **na taxa de expansão das lesões (mm/dia).**
  - c) **no número de conídios por lesão.**

# Desenvolvimento da Brusone



Rodrigues et al. (2003)

# Microscopia de Luz

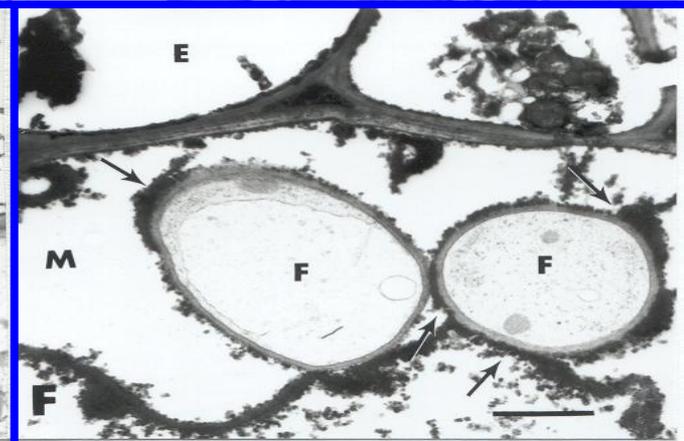
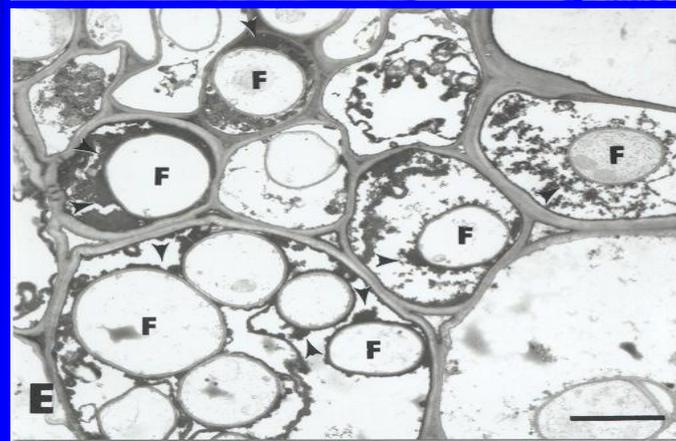
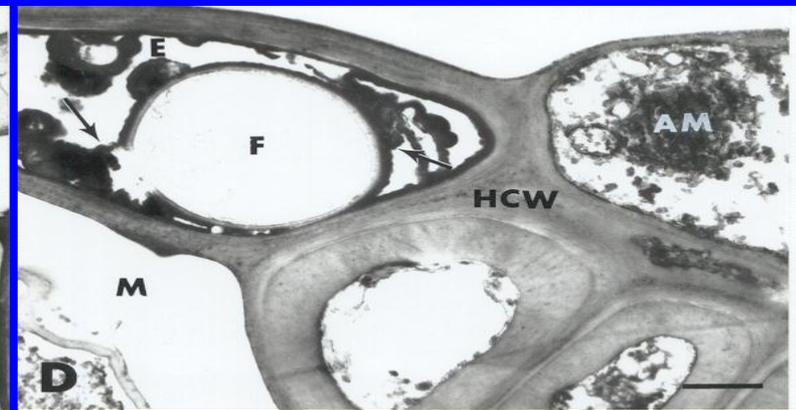
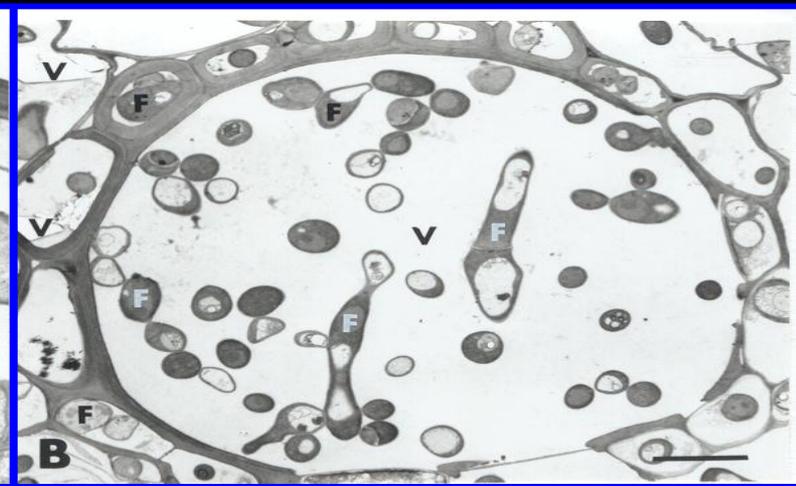
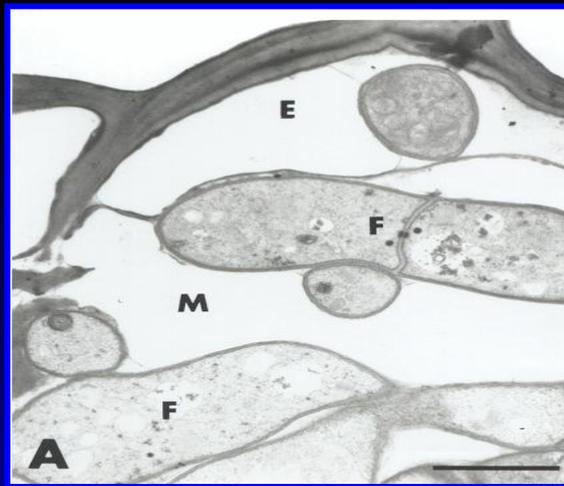


Rodrigues et al. (2003)

# Microscopia Eletrônica de Transmissão

A, B e C = -Si

D e F = +Si

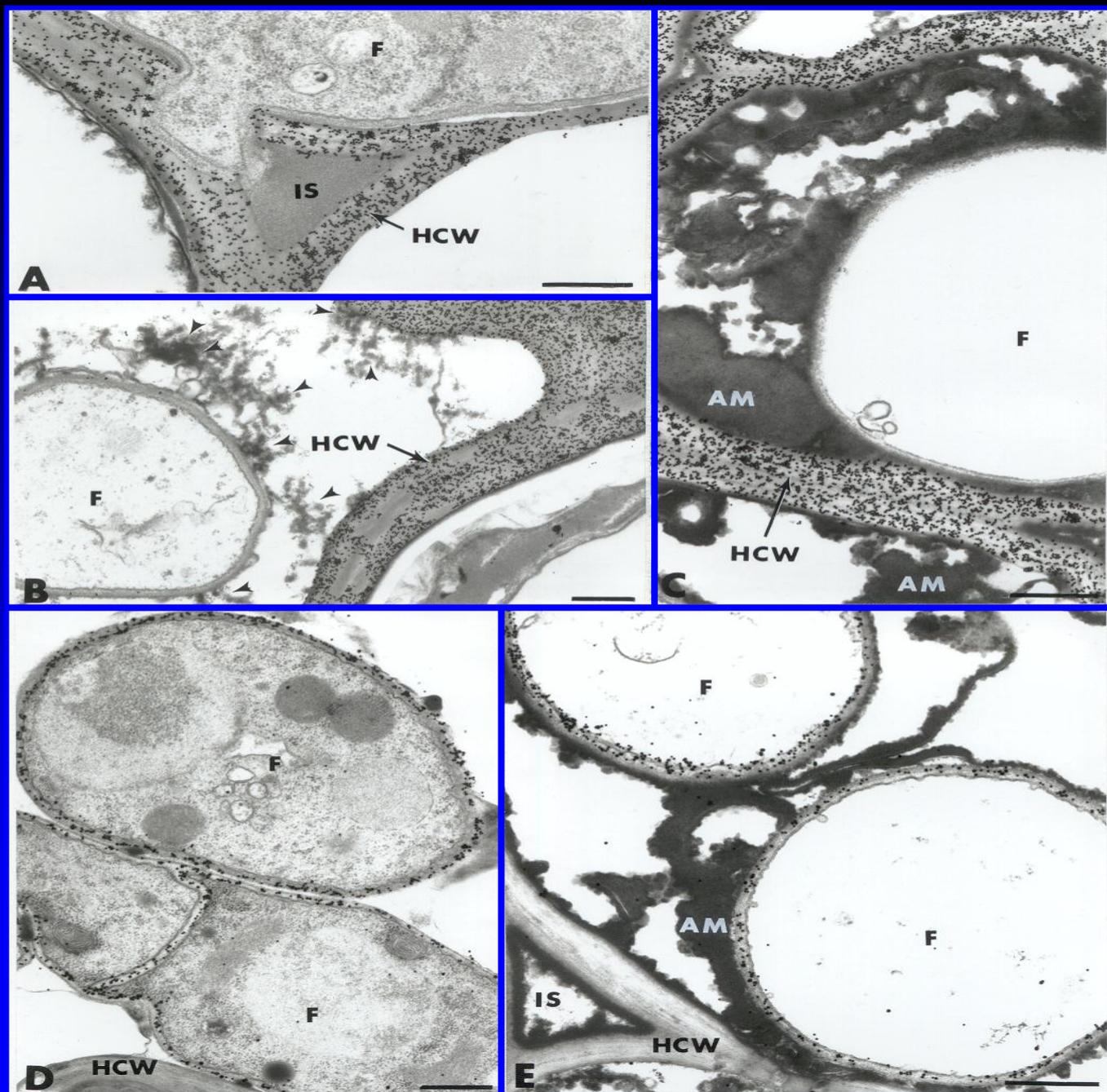


Rodrigues et al. (2003)

# Marcação Citoquímica de Celulose e Quitina

A, B e D = -Si

C e E = +Si



Rodrigues et al. (2003)

# Conclusões

☞ A severidade da brusone foi reduzida pela aplicação de

☞ Si Essa redução foi associada com:

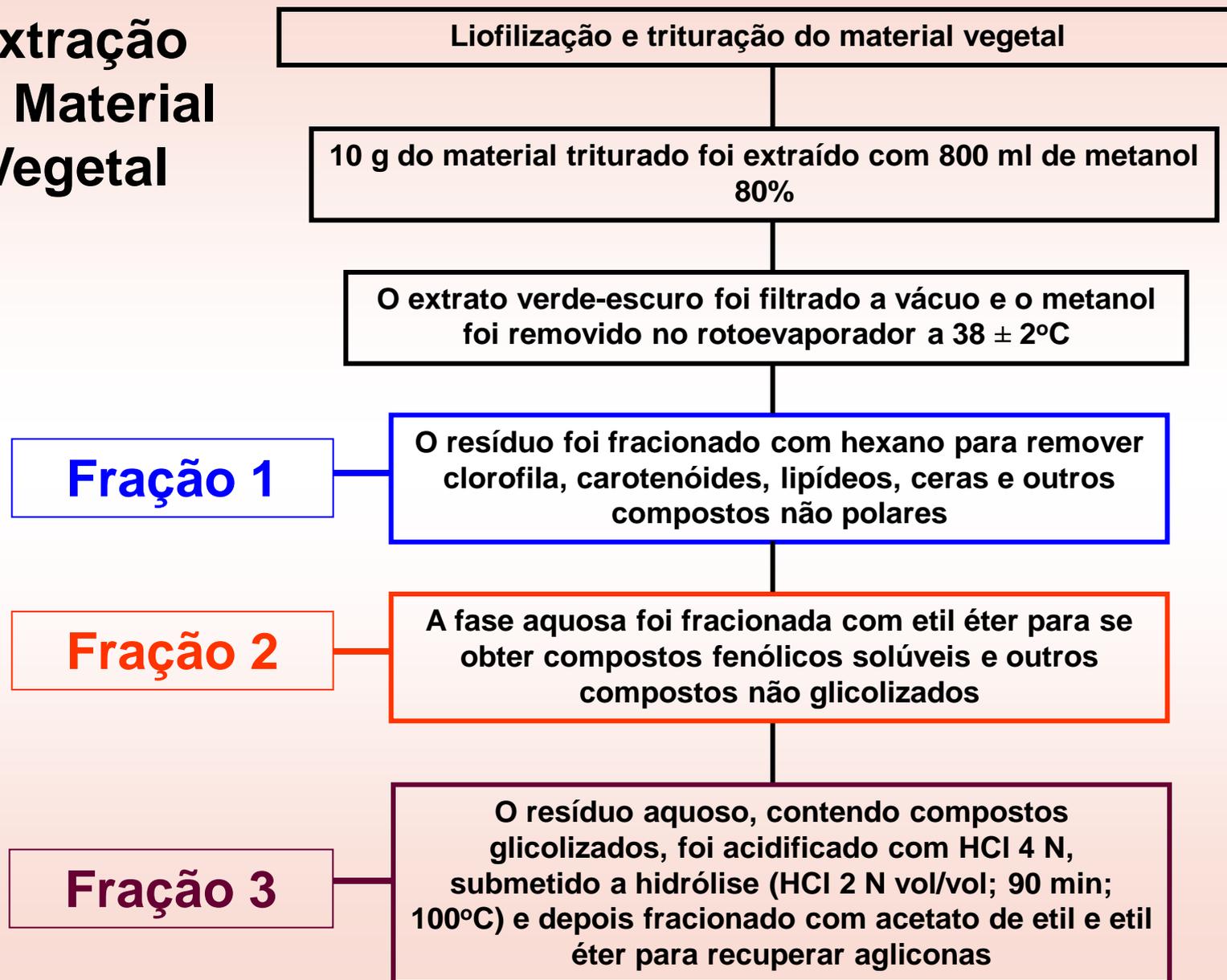
1) a presença de material fenólico envolvendo as estruturas fúngicas e

2) estruturas fúngicas vazias dentro das células da epiderme, do mesófilo e dos vasos do xilema e floema (**atividade fungitóxica?**)

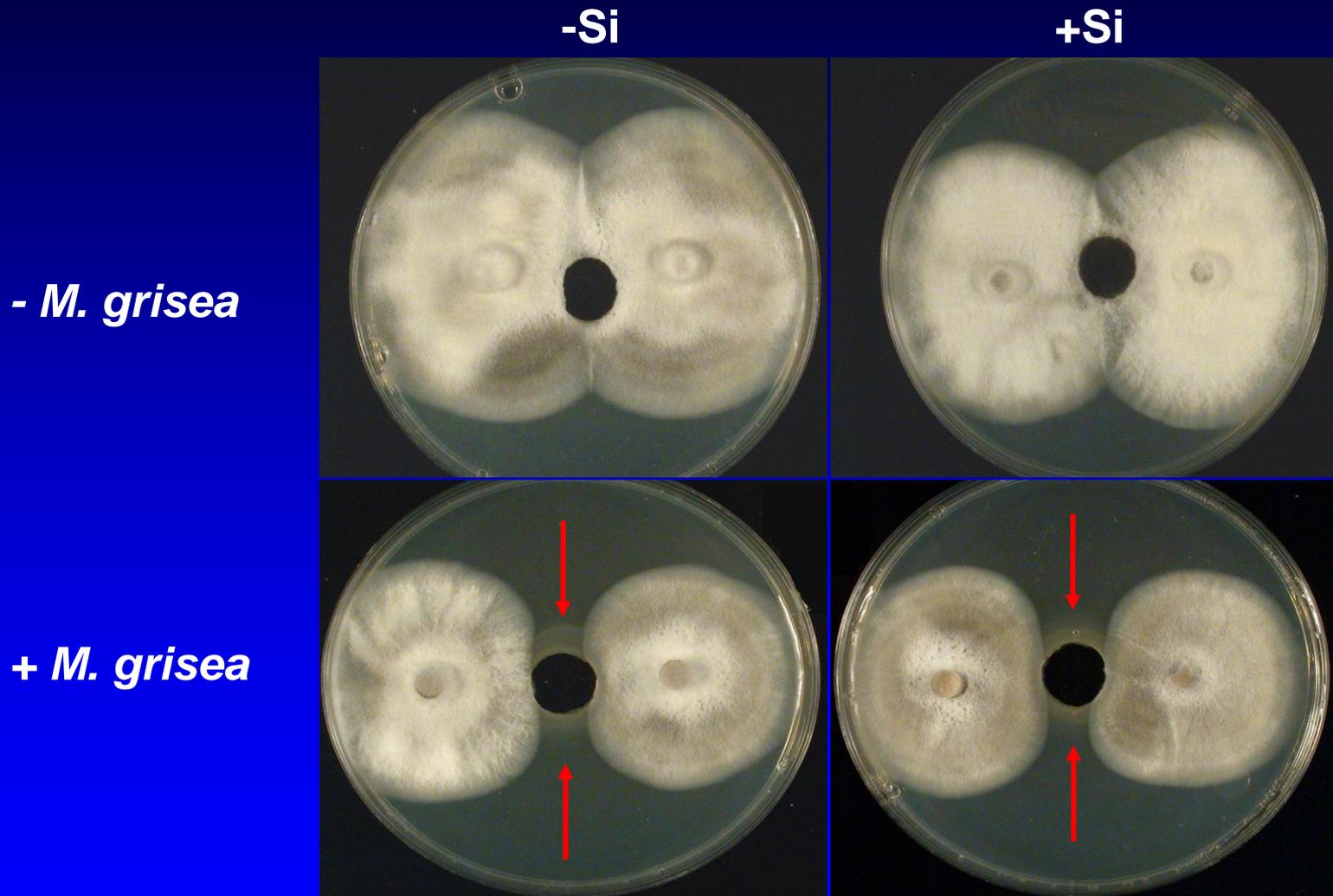
☞ A resistência do arroz à brusone conferida pelo Si foi ativa. Porém, não deve ser desconsiderada a formação de uma barreira mecânica pelo Si dificultando a penetração de *M. grisea*.

# Análise Bioquímica

## Extração do Material Vegetal



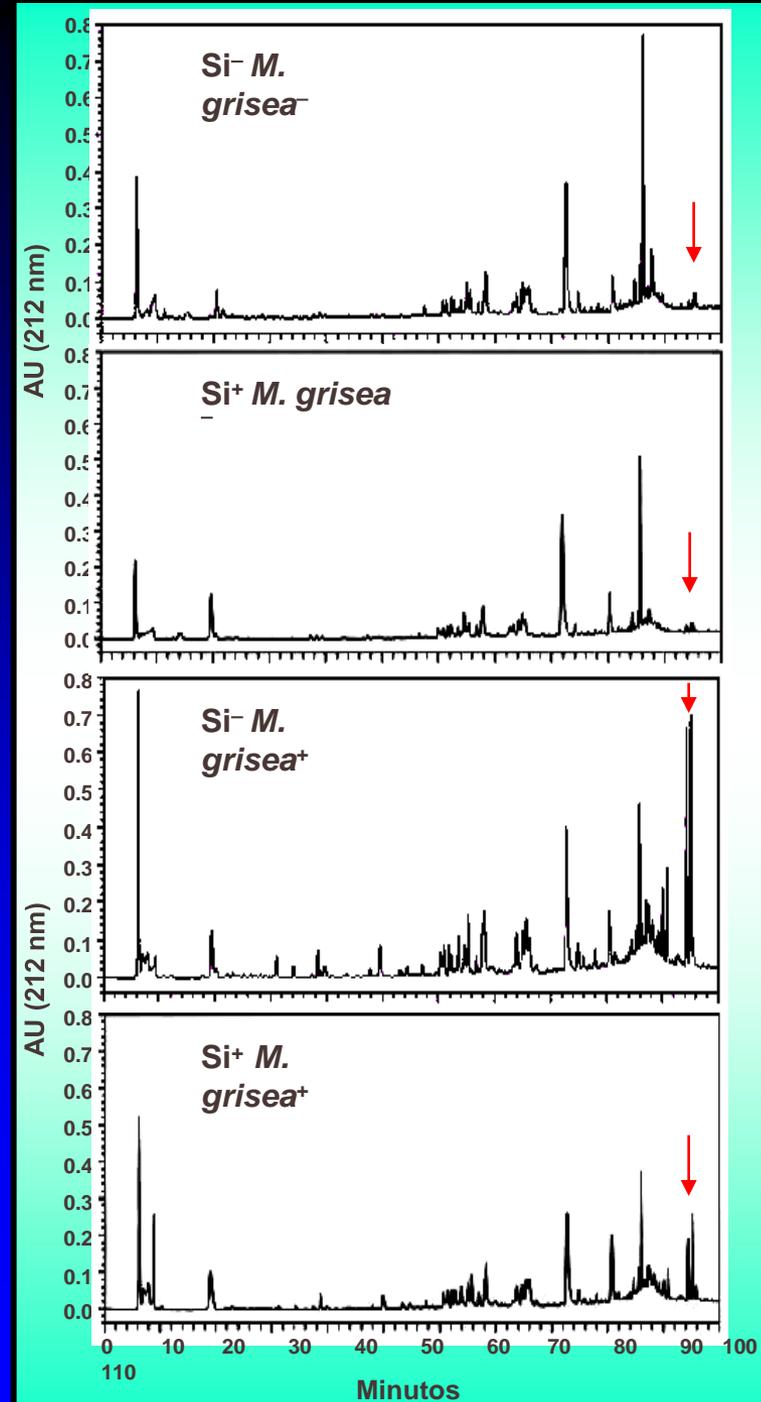
# Bioensaio com as frações 1, 2 e 3



Rodrigues et al. (2004)

# Cromatografia líquida de alta precisão (HPLC) da fração 2

Rodrigues et al. (2004)



# Semi-purificação da fração 2 obtida de plantas não inoculadas e inoculadas recebendo ou não a aplicação de Si

Colunas Sep-Pak C-18 foram acondicionadas com 20 ml de metanol acidificado e depois com 20 ml de água acidificada

Um volume de 5 ml do extrato 2 (concentrado) obtido de cada tratamento foi depositado na coluna e lavado sequencialmente com:

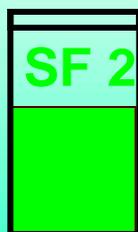
**A**

10 ml de água acidificada



**B**

10 ml de água acidificada-metanol acidificado (75:25)



**C**

10 ml de água acidificada-metanol acidificado (50:50)



**D**

10 ml de água acidificada-metanol acidificado (25:75)



**E**

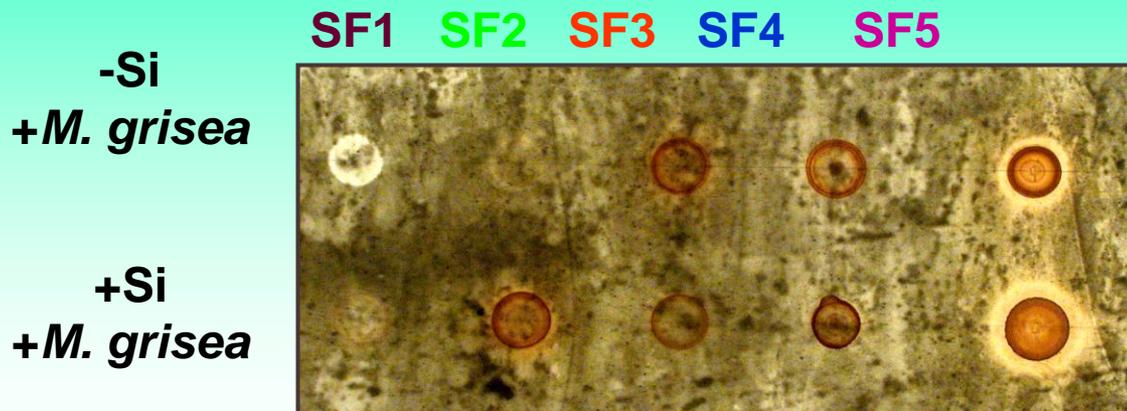
10 ml de metanol acidificado



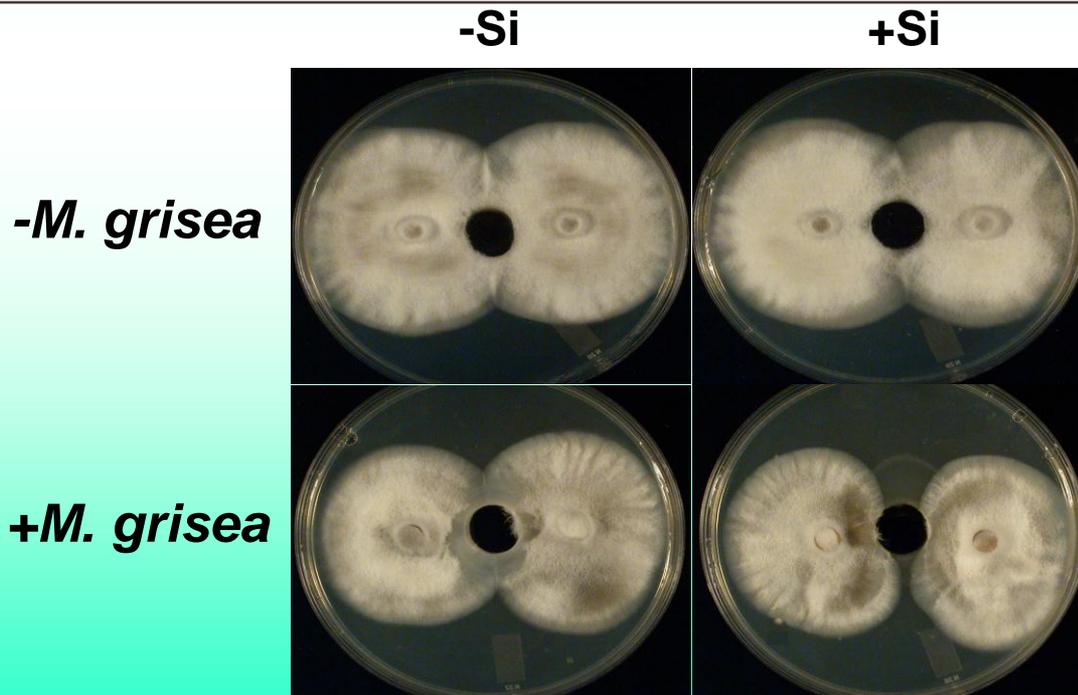
Metabólitos mais polares



# Bioensaio das cinco subfrações da fração 2



*Cladosporium cucumerinum*

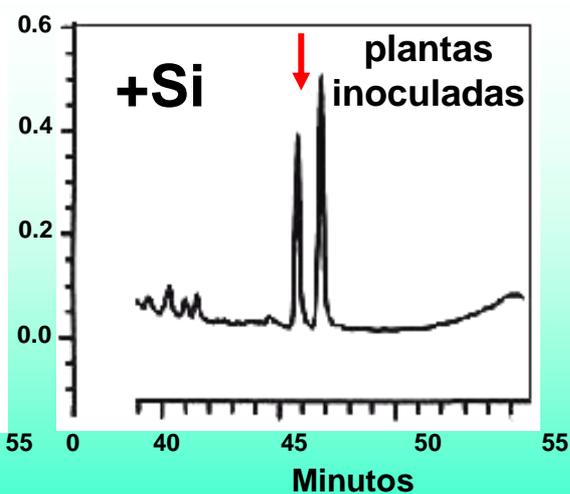
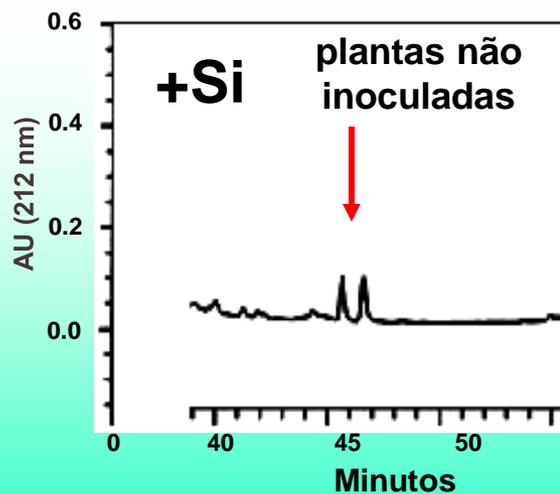
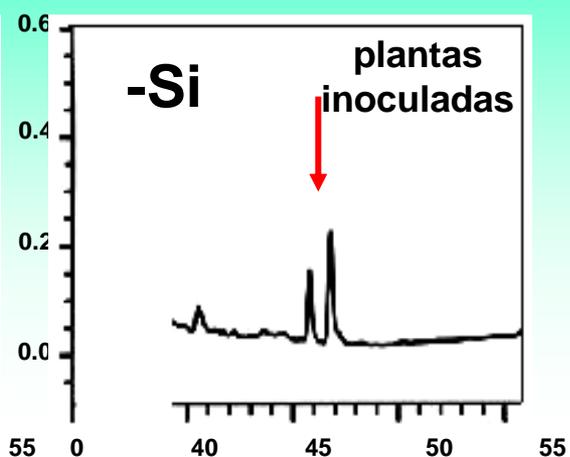
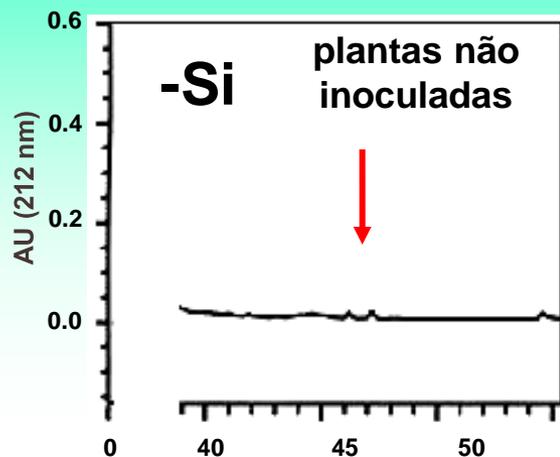


e

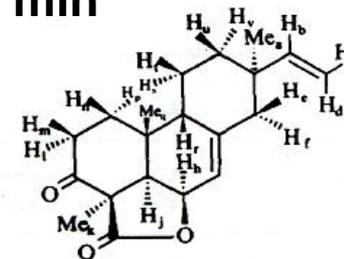
*Magnaporthe grisea*

Rodrigues et al. (2004)

# HPLC da SF5 obtido da fração 2



46 min



Momilactona A

47 min

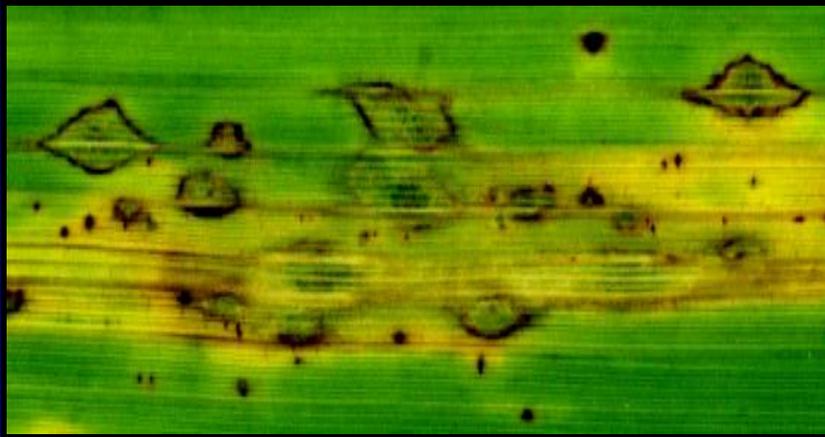


Momilactona B

Rodrigues et al. (2004)

# Conclusão

**-Si**



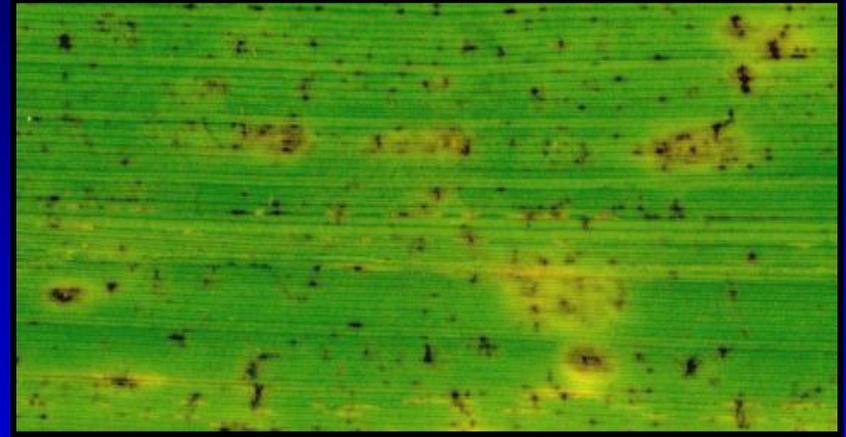
Baixo teor de  
momilactonas

e

Maior severidade

≠

**+Si**



Alto teor de  
momilactonas

e

Menor severidade

# Estudo Citológico e Molecular

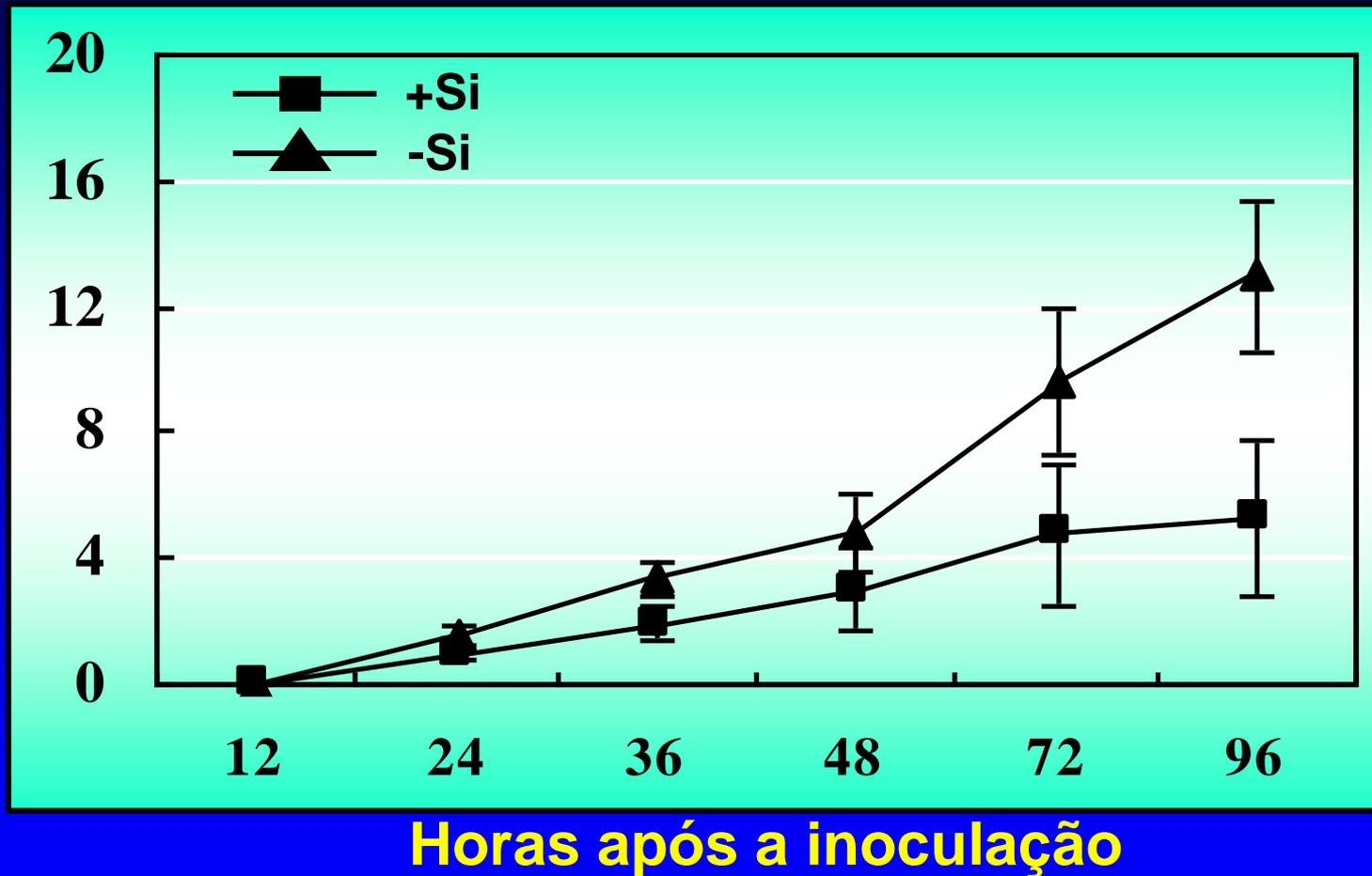
- Cultivar M201 inoculada com a raça IB-49 de *M. grisea*.

**M201 é susceptível à raça IB-49**

- Plantas de arroz foram cultivadas em vasos contendo 2 kg de substrato\* recebendo (10 g vaso<sup>-1</sup>) ou não (0 g vaso<sup>-1</sup>) a aplicação de silicato de cálcio.

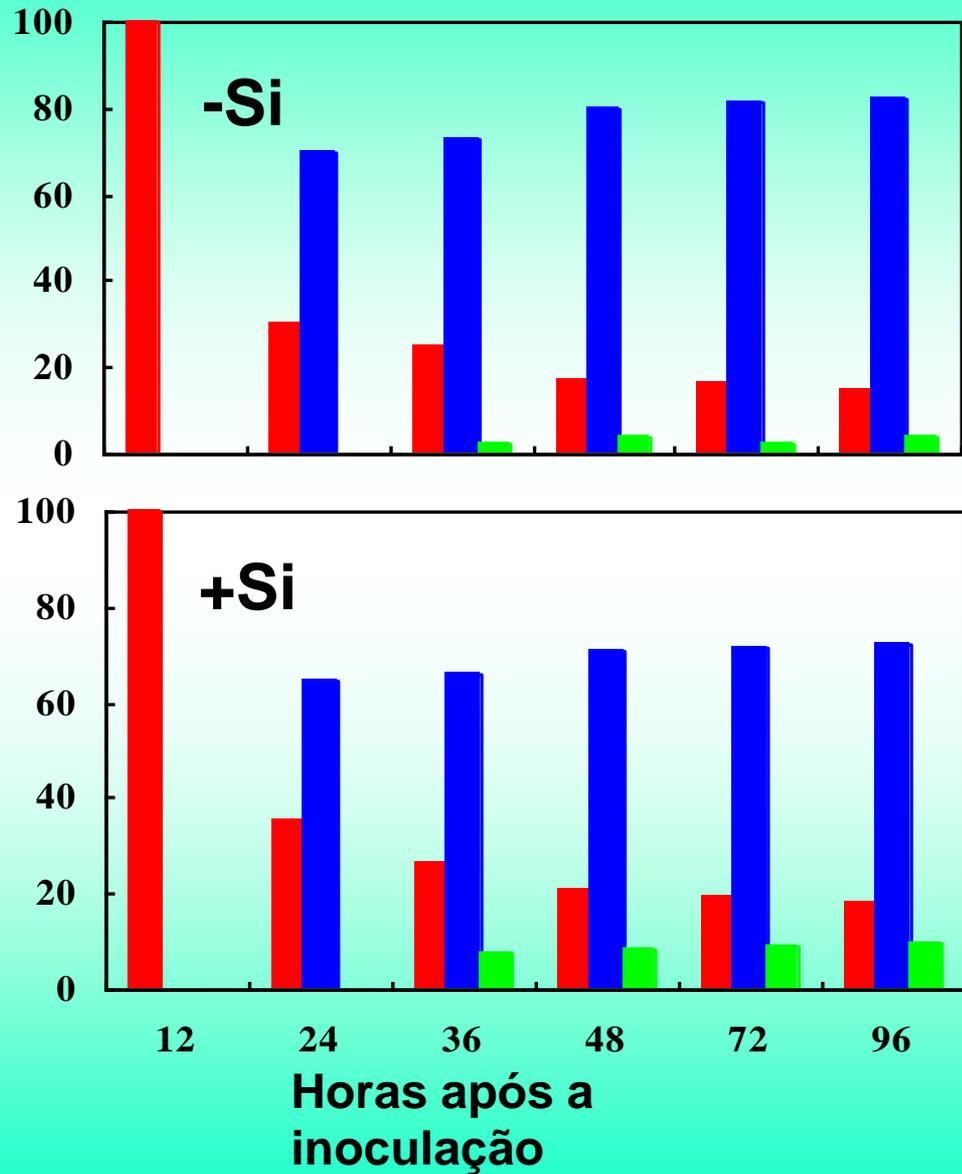
O substrato (Fafard No. 2) foi submetido à análise química para determinação do teor de Si obtendo-se a concentração de 4 mg kg<sup>-1</sup> de Si

# Crescimento de hifas de *M. grisea* dentro das células da epiderme

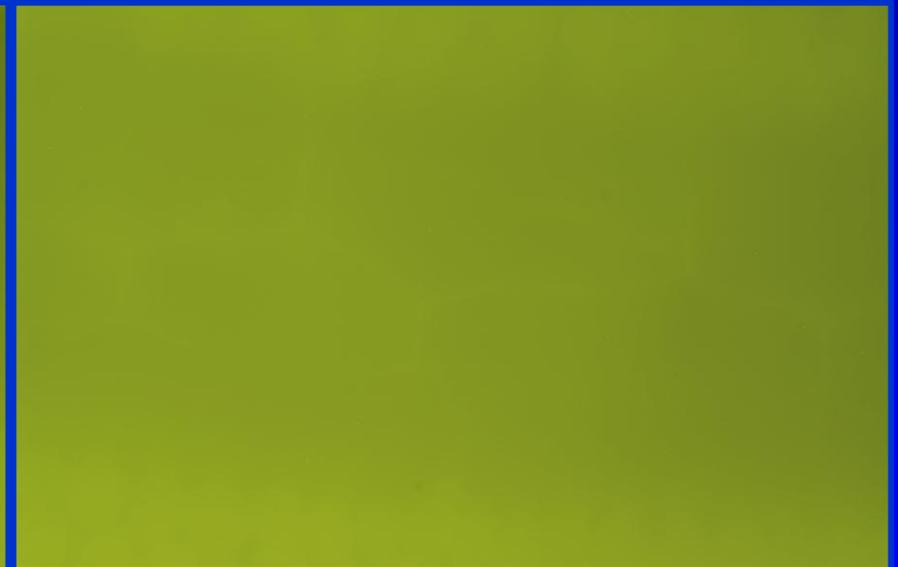
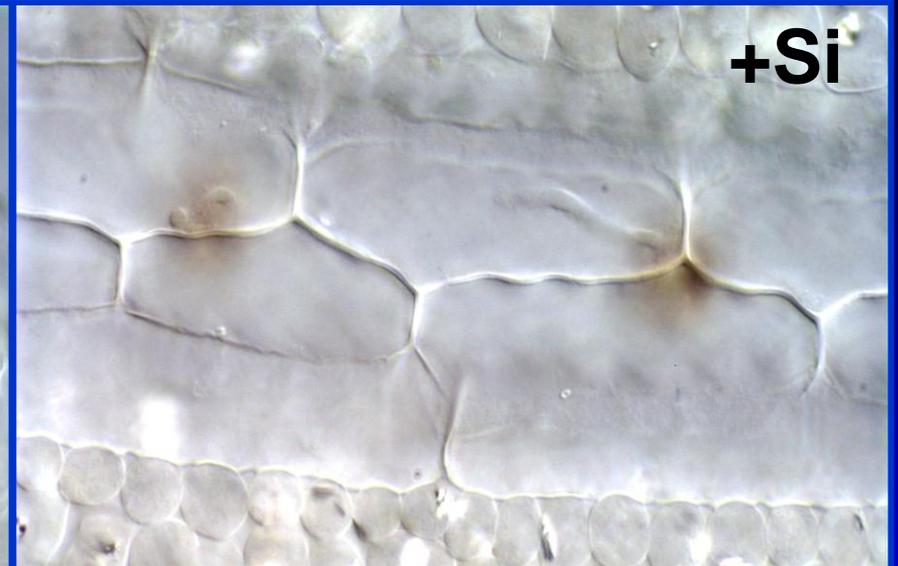
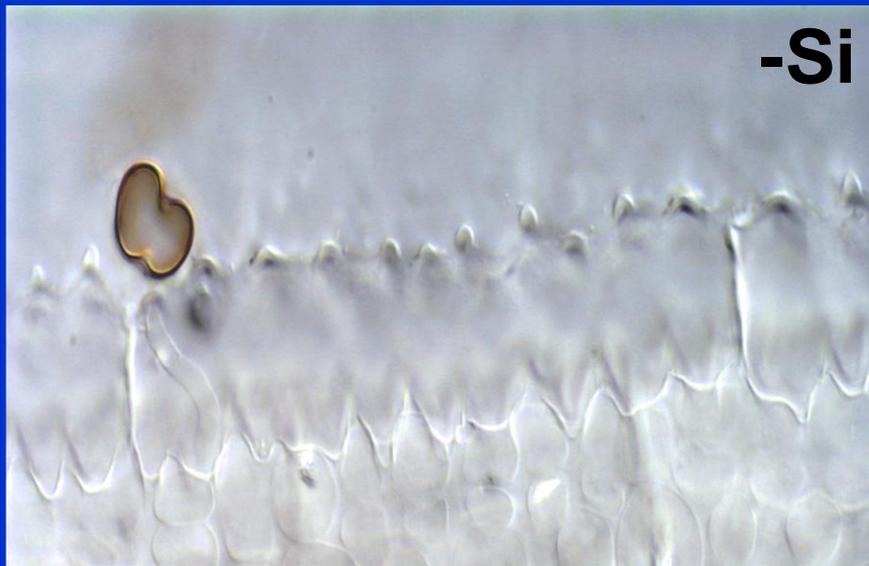


# Frequência de Reações Celulares (%)

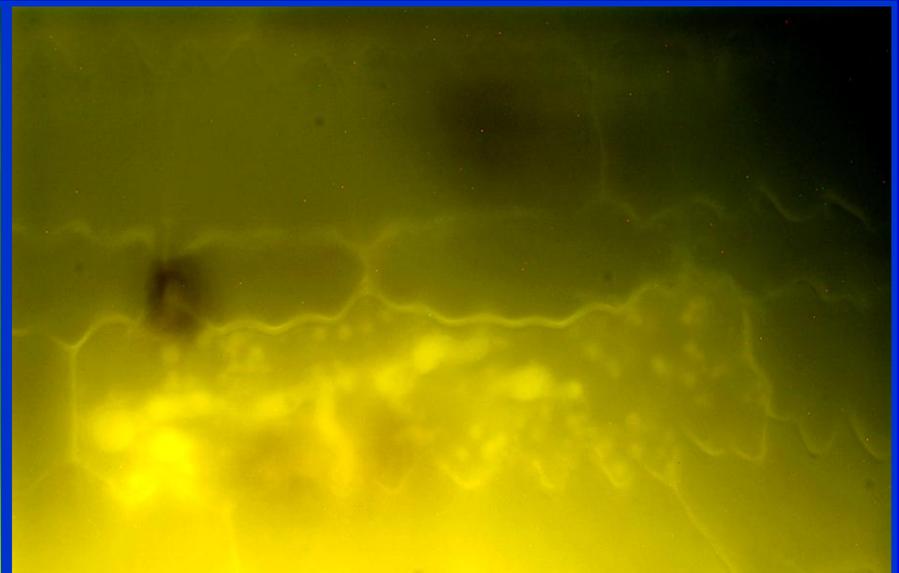
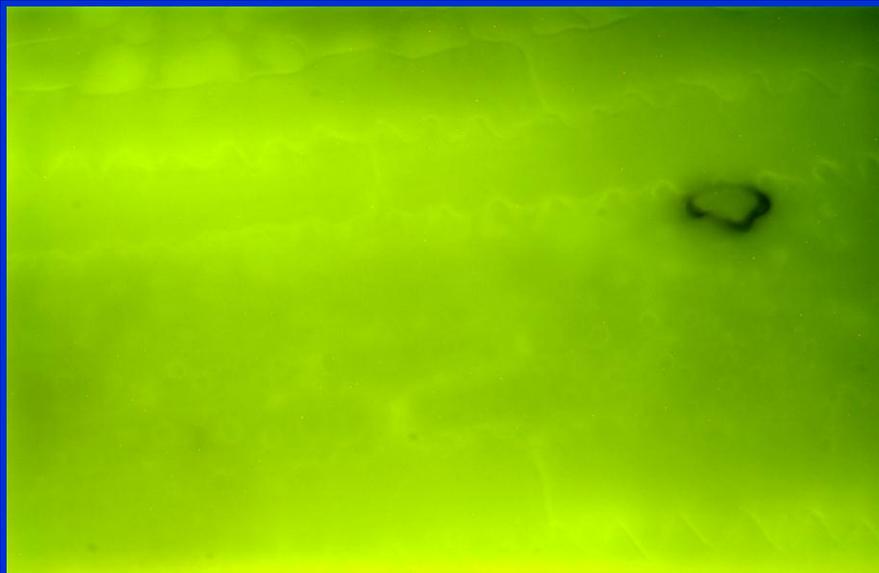
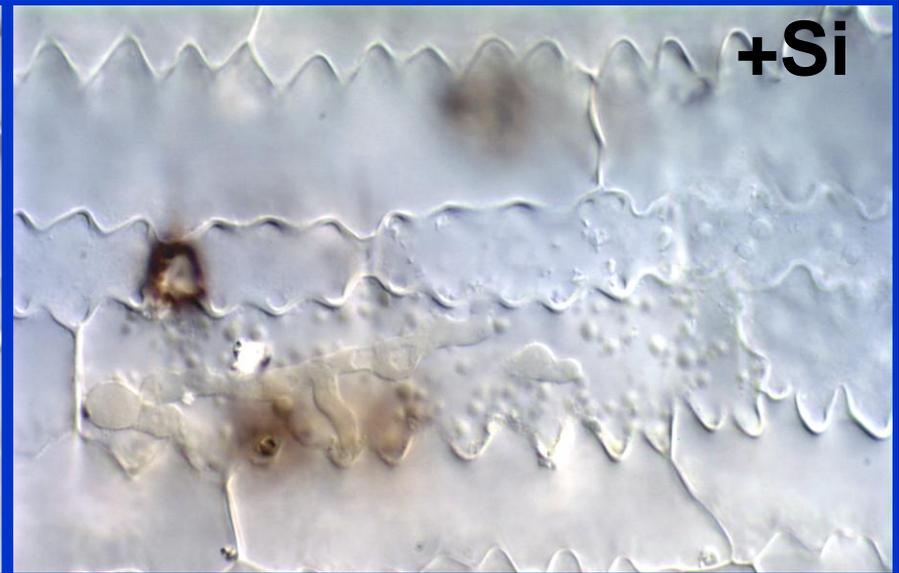
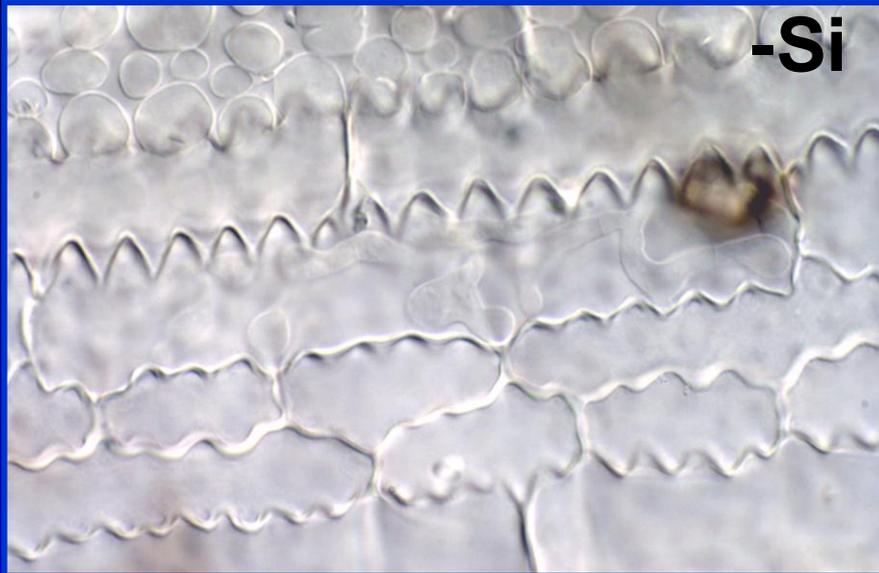
- sem penetração
- penetração sem granulação
- penetração com granulação



# 24 h após a inoculação



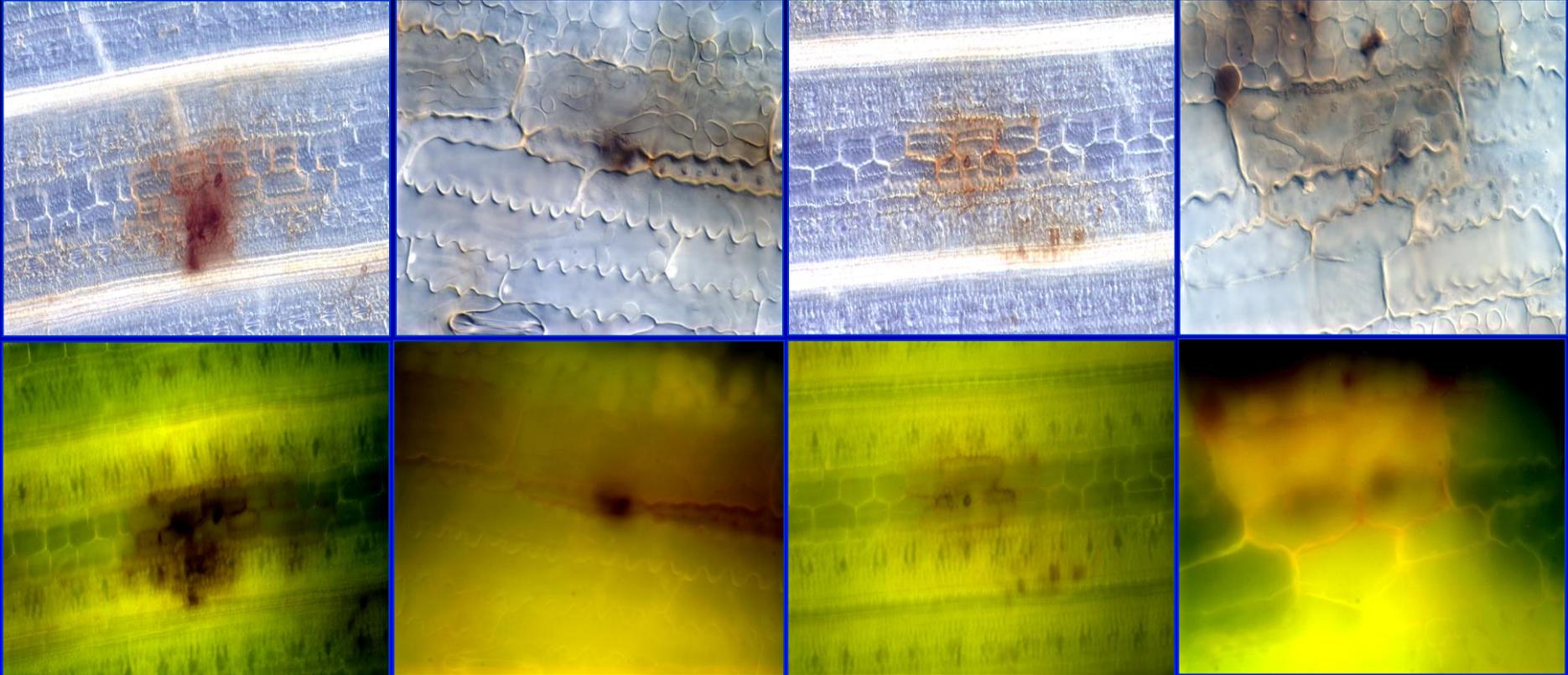
# 36 h após a inoculação



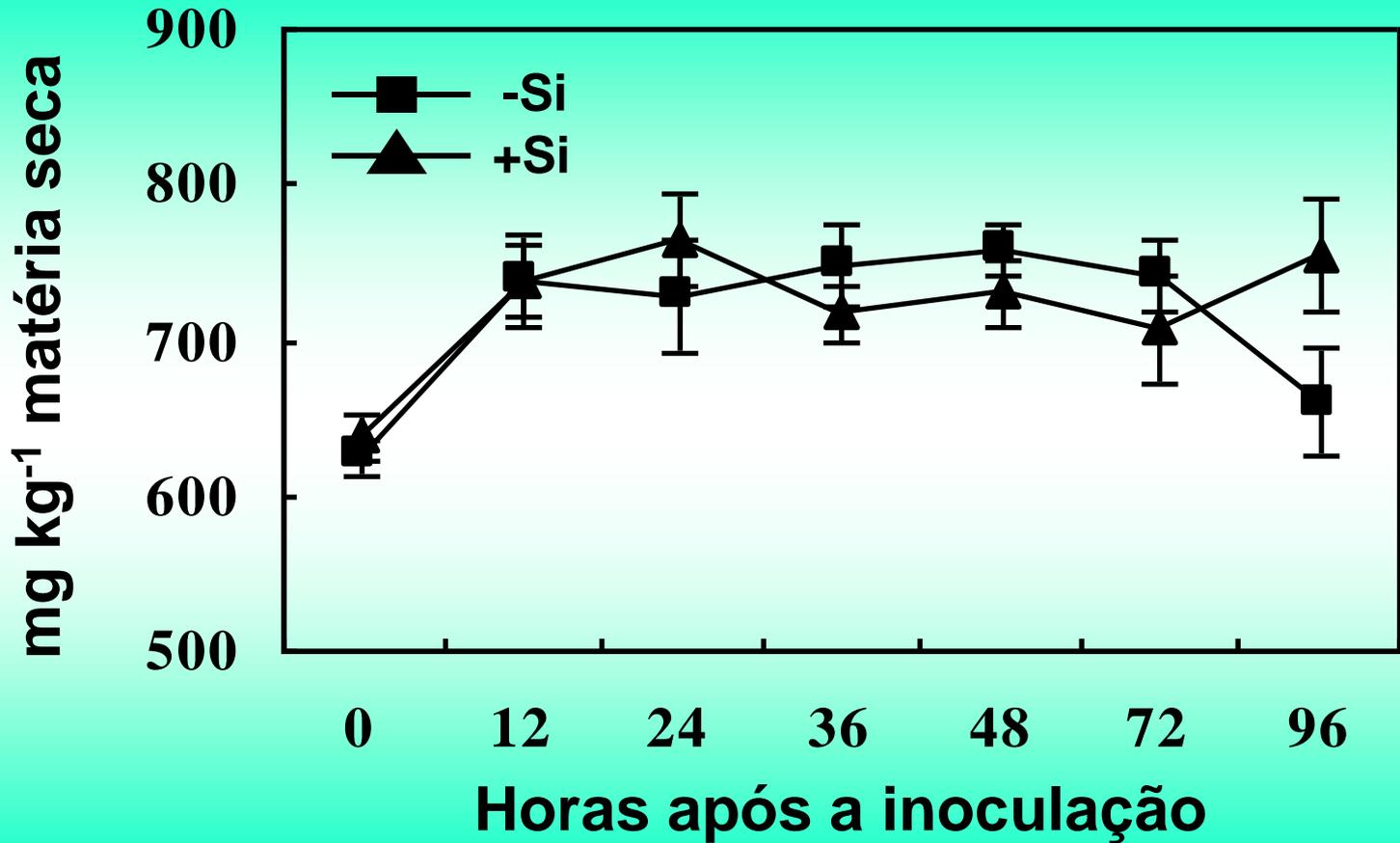
# 72 h após a inoculação

-Si

+Si



## Concentração de Fenóis Solúveis Totais



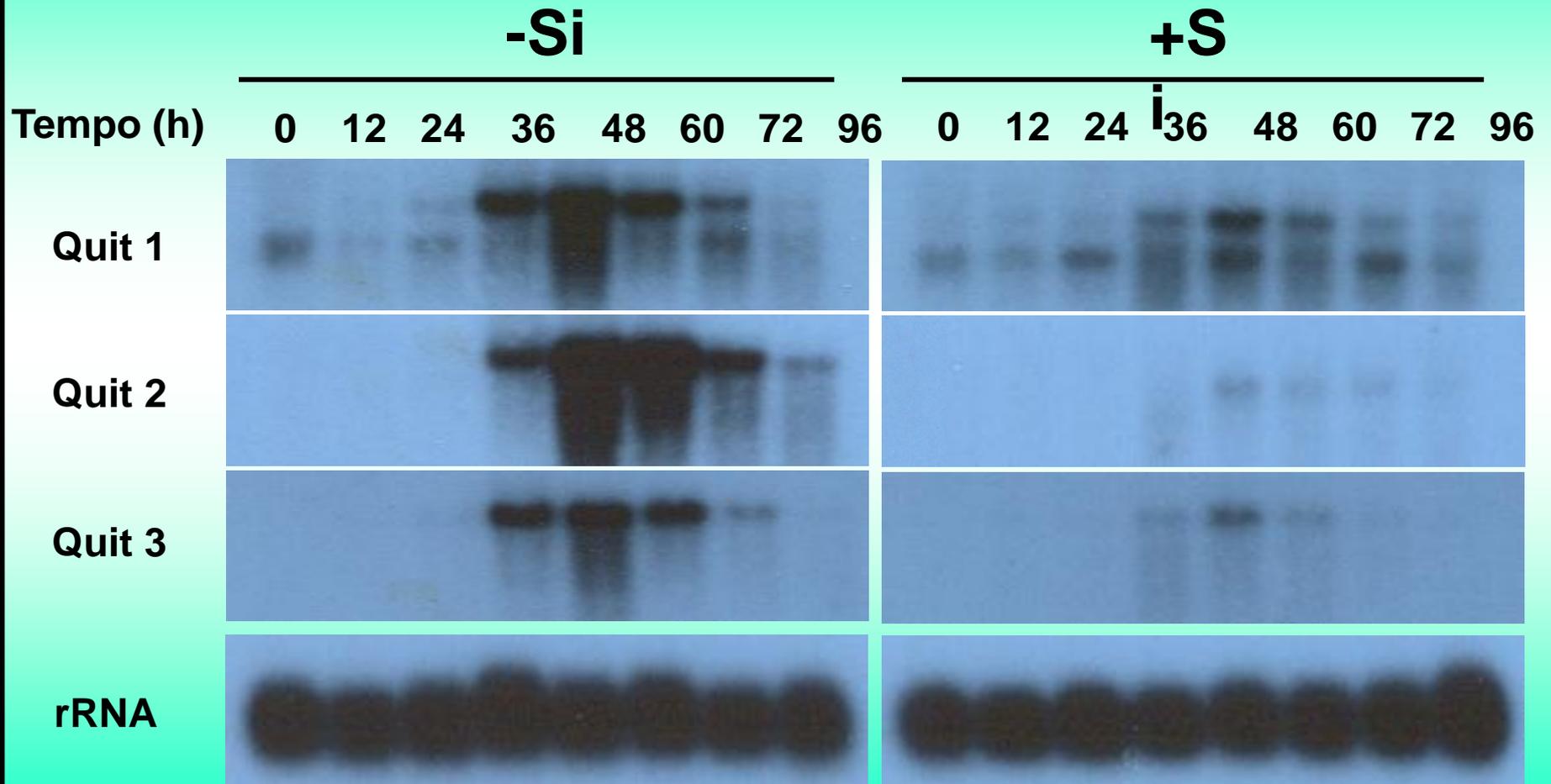
# Estudo Molecular

- Cultivar M201 inoculada com a raça IB-49 de *M. grisea*.

## M201 é susceptível à raça IB-49

- Plantas de arroz foram cultivadas em vasos contendo 2 kg de substrato recebendo (10 g vaso<sup>-1</sup>) ou não (0 g vaso<sup>-1</sup>) a aplicação de silicato de cálcio.
- Folhas foram coletadas às 0, 12, 24, 36, 48, 60, 72 e 96 horas após a inoculação com *M. grisea*. RNA total foi extraído das folhas para se determinar a acumulação de mRNA de alguns genes associados com a resistência do arroz a patógenos utilizando-se a técnica de Northern Blot.

# Quitinases



# Glucanase

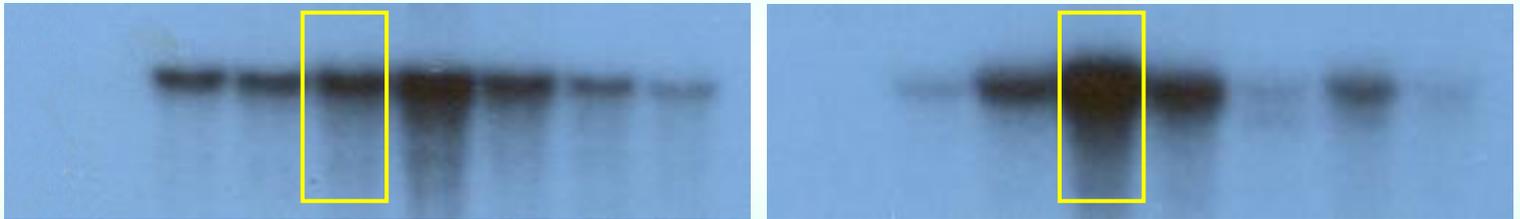
**-Si**

**+Si**

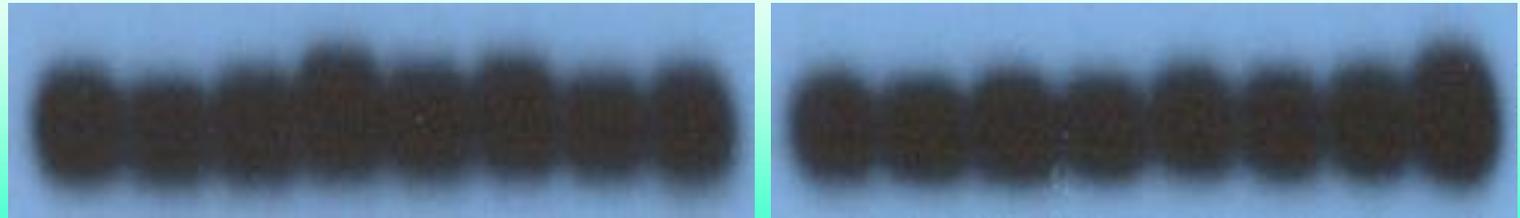
Tempo (h)

0 12 24 36 48 60 72 96 0 12 24 36 48 60 72 96

**Glu**



**rRNA**





# Chalcona sintase e Fenilalanina-amônia-liase

-Si

+Si

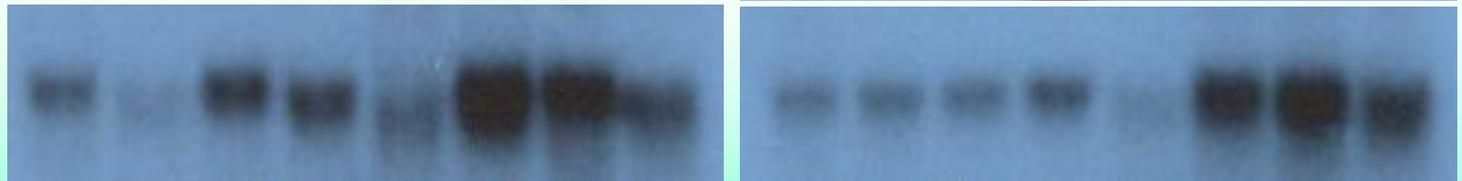
Tempo (h)

0 12 24 36 48 60 72 96 0 12 24 36 48 60 72

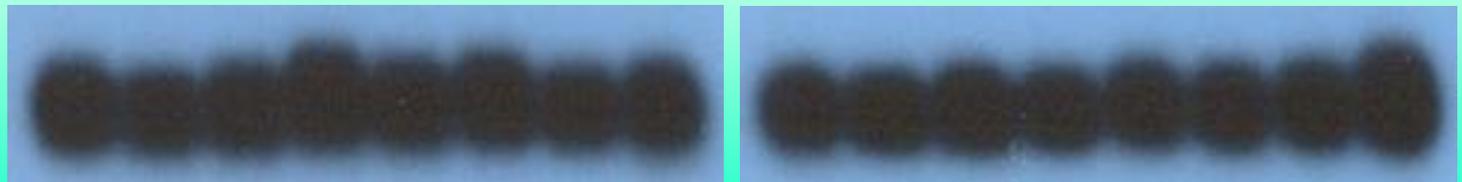
ChS



FAL



rRNA



# Peroxidase

**-Si**

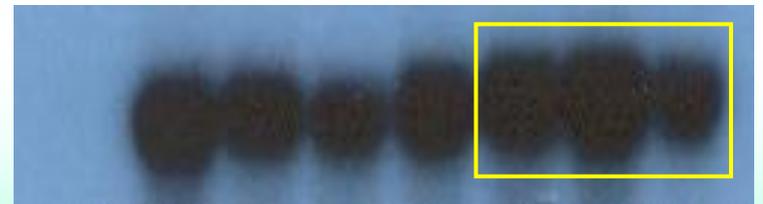
**+Si**

Tempo (h)

0 12 24 36 48 60 72 96

0 12 24 36 48 60 72 96

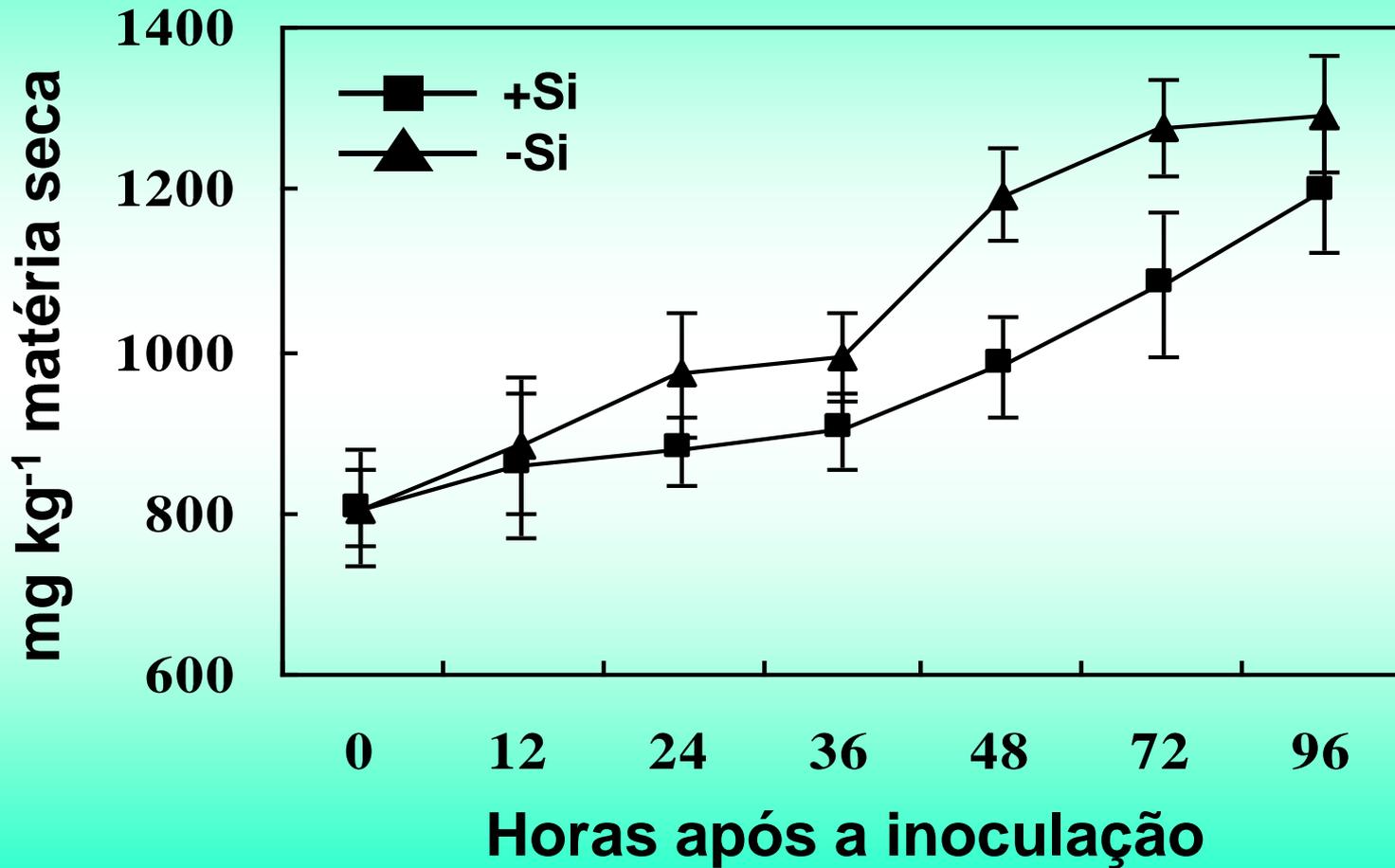
**Perox**



**rRNA**



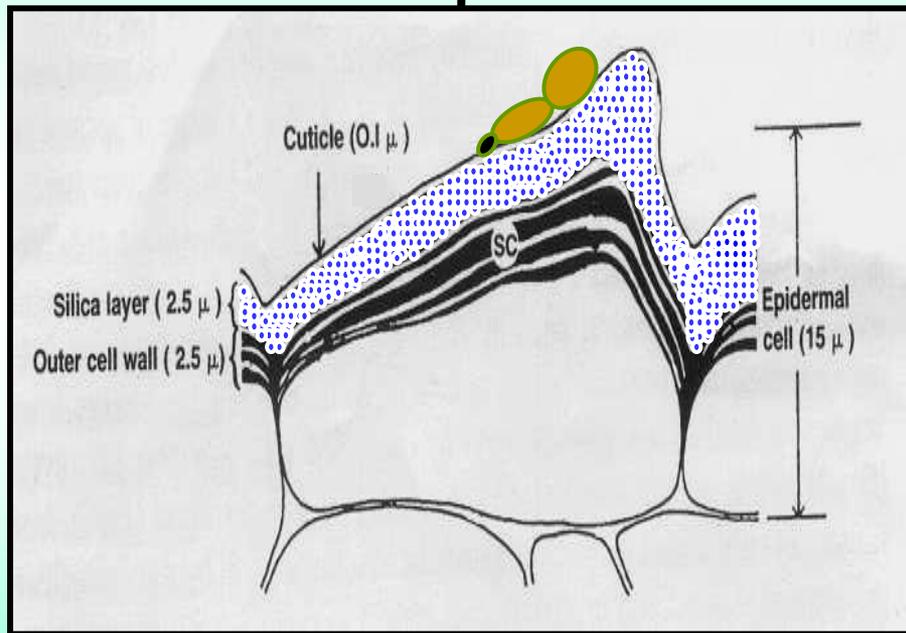
## Concentração de Lignina



# Esquema mostrando o efeito do Si no aumento da resistência do arroz à brusone

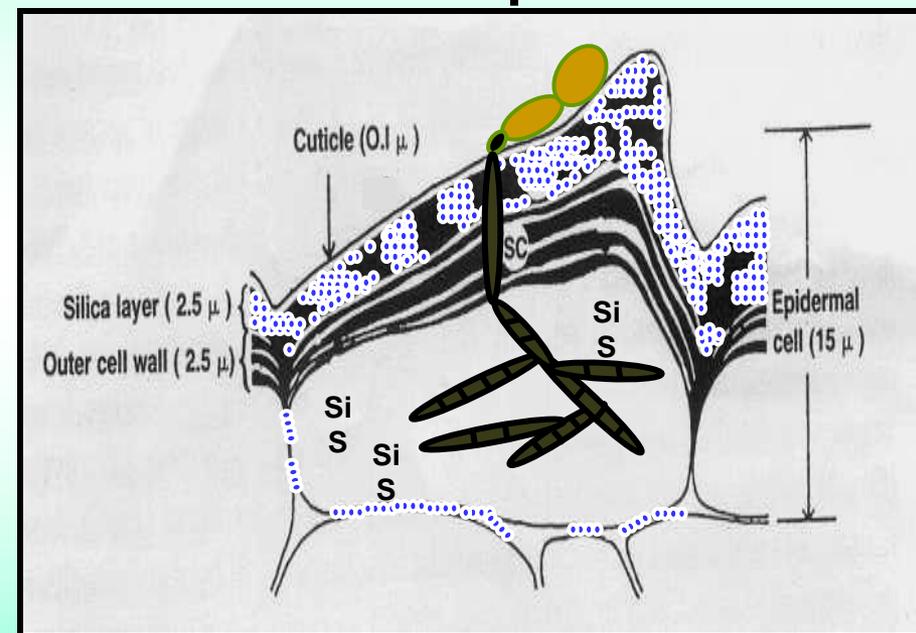
## Silício

### Ação Passiva



Ausência de lesão foliar e qualquer resposta de defesa do arroz

### Ação Ativa



Atraso na penetração e colonização do fungo. O silício solúvel (SiS) poderá amplificar a expressão do(s) mecanismo(s) de defesa do arroz após a penetração de *M. grisea*.

Muito Obrigado

