

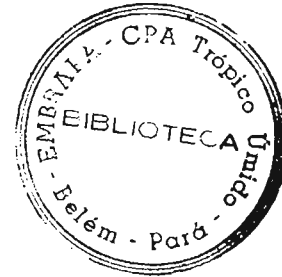
00172
1973
FL-PP-00172

FL
00172



M.A. - DNPEA

IPEAN



SEMINÁRIOS TÉCNICOS

ESTUDO BIOQUÍMICO DO MECANISMO DE RESISTÊNCIA DE
CLONES DE SERINGUEIRA À Dothidella ulei (P.Henn)

Elza Maria Frias Martins



BELÉM, 29 DE JANEIRO DE 1973

000170

ESTUDO BIOQUÍMICO DO MECANISMO DE RESISTÊNCIA DE
CLONES DE SERINGUEIRA À Dothidella ulei (P.Henn)

Nestas duas últimas décadas pesquisadores de todo o mundo têm se empenhado árduamente em estudar as relações entre patógenos e hospedeiro, e o comportamento bioquímico através do qual as plantas expressam a sua resistência (1,2,3,5,14).

O esclarecimento desse mecanismo é fundamental para aqueles que procuram fazer o controle das doenças através da seleção de variedades resistentes.

Conforme tem sido demonstrado (4,10,11,12,13,), a resistência das plantas a agentes patogênicos, especialmente fungos, está, quase sempre, relacionada com a existência prévia de substâncias inibidoras na planta ou com a formação de novos compostos após a infecção.

Por esse motivo tentamos a purificação de uma substância que estaria ligada à resistência de clones de seringueira (*Hevea* spp) ao fungo Dothidella ulei, agente causal da doença conhecida por "queima das folhas".

Em 1965, Figari (6), em Turrialba, Costa Rica, trabalhando com os clones IAN-710 (resistente) e GA-1126 (suscetível), logrou determinar a existência de uma substância tóxica ao fungo, Dothidella ulei, no extrato aquoso de folhas de plantas de ambos os clones.

Essa substância se encontrava, porém, em maior concentração nas plantas do clone resistente. Aparecia em cromatogramas do extrato bruto de folhas, como uma mancha amarela, visível a luz do dia, marrom à luz ultravioleta longa, tornando-se amarela fluorescente quando o cromatograma era exposto à vapores de amônia. Os testes biológicos, realizados por aquele autor, revelaram que esta mancha continha uma substância que inibia a germinação dos conídios de Dothidella ulei. Na ocasião o autor não identificou a substância, limitando-se apenas a sugerir, que seria de natureza fenólica e provavelmente um flavonal.

Através de extração aquosa de folhas adultas de seringueiras do clone IAN-717 seguido de separação cromatográfica em coluna de celulose, foi possível, a cristalização da substância amarela com as

mesmas características descritas por Figari.

Posteriormente usamos extrações em acetona "powder" devido a um rendimento melhor.

Essa substância foi identificada como sendo Kaempferol 3 rhamnoglucosídeo (3,5,4' tetraoxiflavona-3rhamnoglucosídeo) através de: Rfs. obtidos em diferentes solventes; testes de coloração em papel com o emprego de reveladores específicos; testes de coloração em tubo de ensaio com diferentes reagentes, ponto de fusão hidrólise e análise dos produtos, análise espectrofotométrica ao ultra-violeta (7,8,9,15,16).

O poder fungitóxico da substância foi testado na germinação de esporos em lâminas de agar-água. Foram utilizados conídios de Dothidella ulei colhidos em Ubatuba (litoral de São Paulo) e oportunamente aqui em Belém, conídios de Dothidella ulei da região. A concentração de 1mM a germinação dos esporos do fungo proveniente de Ubatuba foi totalmente inibida. Para os esporos do fungo da região de Belém, somente a uma concentração superior a 4mM conseguimos uma inibição de 70% da germinação dos esporos.

Dentro da programação de nossos trabalhos verificaremos a ação do glicosídeo sobre o crescimento micelial de Dothidella proveniente de Ubatuba, Pindamonhangaba e Belém; a variação quantitativa do glicosídeo nos diferentes estágios de maturação da folha; a capacidade de síntese (quantidade e velocidade) de glicosídeo após a inoculação do fungo, em plantas suscetíveis e resistentes.

Fizemos ensaios que demonstraram, ser a síntese do glicosídeo dependente de luz vermelha de comprimento de onda de 660nm (red) e inibida pelo far-red (comprimento de onda 730 nm).

Com o intuito de relacionarmos a quantidade relativa de glicosídeo presente em folhas adultas de clones de seringueira, com o teor de luz vermelho/vermelho distante existente na atmosfera de diferentes locais, em diferentes épocas do ano, fizemos extrações quantitativas de folhas adultas dos clones Fx-2261, IAN-717. IAN-873 e seu poliploide 6532-7544, e RRIM-600, a cada dois meses durante um ano. As regiões de onde provieram os clones foram: Campinas (Planalto de São Paulo) Ubatuba (Litoral de São Paulo), e Ituberá (Bahia). A análise destes dados obtidos até então está na dependência da obtenção dos valores do teor de luz vermelho/vermelho distante dessas regiões nos meses em que foram feitas as extrações.



B I B L I O G R A F I A



01. ALLEN, E.H. - 1963 - Biochemistry of disease resistance in plants. The isolation and purification and partial characterization of a fungitoxic compound from white potato tubers. M.S. Thesis Purdue University, Lafayette, Ind. 105 p.
02. ALLEN, E.H. e KÚC, J. - 1968 - Solanine and Chaconine as fungitoxic compounds in extracts of Irish potato tubers. *Phytopathology*, 58 (6): 776 - 781.
03. ANGELL, H.R., WALKER, J.C. e LINK, K.P. - 1930 - The relation of protocatechuic-acid to disease resistance in the onion. *Phytopathology*, 20 (5): 431 - 437.
04. BIEHN, W.L., KÚC, J. e WILLIAMS, E.B. - 1968 - Accumulation of phenols in resistant plant-fungi interactions. *Phytopathology*, 58 (9): 1255 - 1260.
05. ECHANDI, E. e FERNANDEZ, C.E. - 1962 - Relacion entre el contenido de ácido clorogênico y la resistência a la llaga macana o cãncer de los cafetos causado por Ceratocystis fimbriata. *Turrialba*, 12 (2): 87 - 90.
06. FIGARI, ALEJANDRO - 1965 - Sustancias fenólicas tóxicas ao longo Dothidella ulei. Em lojas de clones de Hevea brasiliensis. *Turrialba* 15 (2): 103 - 110.
07. GEISSMAN, T.A. - 1955 - in PAECH e TRACEY, (Heransg); *Moderne Methodender Pflanzennalyse* Springer Verlag, Berlin, tomo 3, 450.
08. JIRÁČEK, V. e Z. PROCHAZKA - 1963 in I.M. HAISE K. MACEK (Herangs): *Handbuch der Papierchromatographie* Veb. Gustar Fischer Verlag, Jena, 275.
09. HARBONE, J.B. - 1957 - In *Comparative Biochemistry of the Flavonoids* Academic Press, London, 53.
10. KUC, J.-1957 - Biochemical study of resistance of potato tubers. *Phytopathology*, 47: 676 - 680.
11. KUC, J.-1964 - Phenolic compounds and disease resistance in plants. p. 63-81. In V.C. Runckles (ed.) *Symp. Plant Phenolics group of North American 1963*, Proc.
12. KUC, J.-1966 - Resistance of plants to infectiores agents. *Ann. Rev. Microbiol.*, 20: 337 - 370.

13. KUC, J.-1968 - Biochemical control of disease resistance in plants. World Review of Pest Control, 7 (1): 42 - 55.
14. KUC, J., HENZE, R., ULLSTRUP, A.J. e QUACKENBUSH, F.V.- 1956 - Chlorogenic and caffeic acids as fungistatic agents produced by potatoes in response to inoculation with Helminthosporium carbonum. J. Amer. Chem. Soc., 78: 3123 - 3125.
15. OSHIMA, YASUYOSHI and TOSHISO NAKABAYASHI - 1954 - Studies on catechins and pigments in tea leaves. Part 5. Paper chromatography of tea flavones. J. Agric. Chem.Soc.Japan, 27: 754 - 756.
----- - Studies on catechins and pigments in tea leaves. Part 6. Isolation of tea flavones by column chromatography. J. Agric. Chem Soc. Japan, 27: 756 - 759.
----- - Studies on catechins and pigments in tea leaves. Part.7. Isolation of tea flavones by chromatopile. J. Agric. Chem. Soc. Japan, 27: 719 - 761.
16. RZADKOWSKA, BODALSKA, HALINA - 1965 - A new glucoside of Kaempferol in the flouwers of Roseda lutea. Diss. Pharm. Zake. Farmakol. Pol. Akad. Navk 17: 27 - 32.