

AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA INDUZIDA À FERRUGEM ASIÁTICA (*Phakopsora pachyrhizi*), EM GENÓTIPOS DE SOJA

EVALUATION OF INDUCED RESISTANCE TO ASIAN RUST (*Phakopsora pachyrhizi*), IN SOYBEAN GENOTYPES

JANEGITZ, T.¹; RACHID, B.F.²; FERNANDEZ, L.A.¹; MAEDA, J.M.³; SOARES, R. M.⁴; HOFFMANN-CAMPO, C.B.⁴

¹ Centro Universitário Filadélfia – UniFil, Curso de Ciências Biológicas, Londrina, PR; ² Universidade Estadual de Londrina – UEL, Londrina-PR; ³ Universidade Estadual Norte do Paraná – UENP, Bandeirantes-PR; ⁴ Embrapa Soja, Caixa Postal 231, CEP 86001-970, Londrina, PR; e-mail: tatiani@cnpso.embrapa.br

Resumo

A ferrugem asiática é uma importante doença da soja causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*. Estudos têm mostrado que a soja é capaz de responder a estresses provocados por microrganismos com a produção de metabólitos secundários. Para avaliação da reação fenotípica e a concentração de flavonóides, BRS 154 (suscetível), BR01-18437 (hilo claro e hilo escuro) e Shiranui (resistente) foram inoculadas ou não com *P. pachyrhizi*. A reação fenotípica foi avaliada pelo tipo de lesão, esporulação, número de urédias/lesão e a severidade da doença. Para a análise de flavonóides, foram realizadas coletas do primeiro trifólio expandido de cada genótipo 48, 72, 96 e 120 h após a inoculação. A maior concentração de malonil genistina ocorreu em plantas inoculadas à 96h. Gliceolinas II foram identificadas apenas em Shiranui em plantas inoculadas ou não inoculadas. Os resultados sugerem que o aumento dos flavonóides produzidos pelos genótipos é um dos mecanismos de resposta na defesa contra a ferrugem asiática.

Palavras-chaves: *Glycine max*, flavonóides, fitoalexinas.

Introdução

A ferrugem asiática da soja (FAS), causada por *Phakopsora pachyrhizi*, é uma importante doença da cultura, que atualmente está disseminada por todas as regiões produtoras de soja no Brasil. Estudos têm mostrado que a soja é capaz de responder a estresses provocados por microrganismos com a produção de metabólitos secundários constitutivos ou induzidos. As substâncias induzidas, denominadas fitoalexinas, são elicitadas por fitopatógenos, como resposta de defesa das plantas (Pascholati & Leite, 1995).

Em soja, flavonóides constitutivos foram identificados em diversas partes da planta e, em sementes imaturas e raízes, observou-se o aumento na concentração de isoflavonas e a indução de gliceolinas (Hoffmann-Campo, 2007). Ainda, sementes de soja podem responder aos danos de percevejo sugadores de sementes através do aumento da concentração de compostos constitutivos como os isoflavonóides genistina e daidzeina (Piubelli et al., 2005). Essas substâncias podem, eventualmente, ser também responsáveis pela defesa das plantas a microrganismos. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a reação fenotípica e a concentração de flavonóides, em folhas de três genótipos de soja inoculados ou não com *P. pachyrhizi*.

Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos na Embrapa Soja, em Londrina, PR, em plantas cultivadas em câmaras de crescimento (fitotron) com controle de temperatura e luz, com os genótipos BRS 154 (padrão de suscetibilidade), BR01-18437 com hilo claro (HC) e hilo escuro (HE) e Shiranui (padrão de resistência). Os tratamentos consistiram em plantas inoculadas e plantas não inoculadas com o fungo. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições, cada uma composta por um vaso contendo cinco plantas.

Aos 21 dias após a semeadura, as plantas foram pulverizadas com uma suspensão contendo 50.000 esporos/mL de água + 0,5% de espalhante adesivo Tween 20. Cada vaso foi individualmente coberto com saco plástico (câmara úmida) durante 24 h. Nas testemunhas não inoculadas, foi aplicado apenas água + 0,5% de Tween 20.

Para análise de flavonóides, as coletas foram realizadas 48, 72, 96 e 120 horas, após a inoculação, utilizando o primeiro trifólio completamente expandido de cada genótipo. O tecido foi macerado em almofariz com nitrogênio líquido, retirando-se uma alíquota de 200 mg que foi homogeneizada com 2 mL de metanol 90% e submetidas ao ultrassom por 20 min. Posteriormente, as amostras foram evaporadas sob fluxo de nitrogênio gasoso e ressolubilizadas com 1,5 mL de metanol 80% e injetadas no cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC) para identificação e quantificação dos flavonóides.

Após 15 dias da inoculação, foi feita a avaliação fenotípica da doença, verificando-se o tipo de lesão (RB – resistente, ou Tan - suscetível), a quantidade de esporulação (notas de 0 a 3), o número de urédias por lesão e a severidade no trifólio mais infectado, usando escala diagramática desenvolvida para FAS (Godoy et al. 2006). Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de comparações múltiplas de Tukey a 5%.

Resultados e discussão

O genótipo resistente Shiranui mostrou menor número de urédias por lesão, menor esporulação no trifólio mais infectado e lesões do tipo RB. Já a BRS 154 foi o genótipo que apresentou maior número de urédias por lesão e a única que apresentou lesão do tipo Tan. Tanto o genótipo BR01-18437 HC quanto HE mostraram lesões do tipo RB, mas a esporulação não diferiu do padrão de suscetibilidade (Tabela 1). Esse fato pode ser explicado, pois o gene de resistência desse genótipo é derivado do genótipo PI 203398, que possui um gene de resistência recessivo a FAS (Pierozzi et al., 2008). Dessa forma, embora a BR01-18437 tenha apresentado lesões do tipo RB, não conseguiu controlar com eficiência a esporulação destas lesões.

Tabela 1 – Análise fenotípica dos genótipos de soja à ferrugem asiática

Genótipos	Nº urédias/lesão	Severidade (%)	Esporulação	Tipo de lesão
BRS 154	4,3 a*	14,2 ^{NS**}	3	Tan***
BR01-18437 (HC)	3,1 b	12,2 ^{NS}	3	RB
BR01-18437 (HE)	3,1 b	17,8 ^{NS}	3	RB
Shiranui	0,4 c	18,0 ^{NS}	1,2	RB
C.V.	17,74%	37,37%		

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5%.**NS: não significativo. ***Tan = marrom claro; RB = marrom-avermelhado

Nas análises cromatográficas, foram identificados diversos flavonóides e com maior intensidade daidzina, genistina, malonil genistina, malonil daidzina e daidzeína, apresentando interação significativa entre os fatores inoculação x período de coleta. As concentrações foram sempre maiores nas plantas inoculadas com o fungo, coletadas 48, 72 e 96 h (daidzina, malonil-daidzina e malonil genistina) e 48 e 72 h (genistina) após inoculação (Tabela 2). As isoflavonas daidzina e genistina também aumentaram a sua concentração em sementes de soja submetidas ao ataque de percevejos fitófagos (Piubelli et al 2003).

Além da interação dos fatores inoculação x período de coleta, as concentrações de genistina e malonil daidzina dependeram também da interação dos fatores inoculação x genótipo. A concentração de genistina nos genótipos BR01-18437(HE) e BRS 154 foi maior nas plantas inoculadas comparadas com as não inoculadas, enquanto em BR01 18437 (HC) e Shiranui não diferiram entre si. (Tabela 3). A concentração de malonil daidzina nos genótipos BR01-18437(HC) e BRS 154, também aumentou nas plantas inoculadas em comparação com as não inoculadas.

A fitoalexina gliceolina II foi identificada em algumas amostras e, em Shiranui, foi observada tanto em plantas inoculadas como em não inoculadas, nos quatro períodos de coleta.

Tabela 2 – Análise da produção de flavonóides com interação inoculação versus período de coleta, para as diferentes substâncias.

		48 h	72 h	96 h	120 h
Daidzina	I	0,0144 A a	0,0197 A a	0,0196 A a	0,0021 B b
	NI	0,0030 B b	0,0080 AB b	0,0091 AB b	0,0112 A a
Genistina	I	0,0606 A a	0,0820 A a	0,0665 A a	0,0093 B b
	NI	0,0382 A b	0,0291 A b	0,0503 A a	0,0477 B a
Malonil Daidzina	I	0,0152 BC a	0,0368 A a	0,0265 AB a	0,0010 C b
	NI	0,0006 A b	0,0033 A b	0,0101 A b	0,0132 A a
Malonil Genistina	I	0,1473 A a	0,1749 A a	0,1806 A a	0,0112 B a
	NI	0,0582 A b	0,0246 A b	0,0586 A b	0,0464 A a
Daidzeína	I	0,0031 A a	0,0032 A a	0,0056 A a	0,0040 A b
	NI	0,0026 B a	0,0048 AB a	0,0071 A a	0,0080 A a

Letras minúsculas na coluna comparam concentração de cada flavonóides em genótipos inoculados com não inoculados. Letras maiúsculas na linha comparam concentração de flavonóides dentro dos tempos de coleta de folhas. I= inoculado; NI= não inoculado.

Tabela 3 – Análise da produção de flavonóides com interação inoculação versus genótipo, para as diferentes substâncias.

		BR01-18437 (HC)	BR01-18437 (HE)	Shiranui	BRS 154
Genistina	I	0,0446 B a	0,0807 A a	0,0387 B a	0,0522 B a
	NI	0,0408 A a	0,0495 A b	0,0443 A a	0,0307 A b
Malonil Daidzina	I	0,0202 AB a	0,0179 B a	0,053 B a	0,0356 A a
	NI	0,0068 A b	0,0081 A a	0,0025 A a	0,0096 A b

Letras minúsculas na coluna comparam concentração de flavonóides em genótipos inoculados com não inoculados. Letras maiúsculas na linha comparam concentração de flavonóides dentro dos tempos de coleta de folhas. I= inoculado, NI= não inoculado; HC= hilo claro, HE= hilo escuro.

Conclusão

Os resultados sugerem que os flavonóides produzidos pelos genótipos sejam um dos mecanismos de resposta na defesa contra a ferrugem asiática, já que suas concentrações foram maiores em praticamente todas as plantas inoculadas. A análise fenotípica e da produção de flavonóides mostraram que o genótipo Shiranui foi o mais resistente e que gliceolina II pode ser a principal substância de defesa contra a ferrugem asiática da soja.

Referências

- GODOY, C.V.; KOGA, L.J.; CANTERI, M.G. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, p.63-68, 2006.
- HOFFMANN-CAMPO, C.B. Respostas da soja a estresses bióticos e abióticos. In: ENCONTRO BRASILEIRO DE ECOLOGIA QUÍMICA, 5., 2007, Londrina. **Resumos...** Londrina: Embrapa Soja, p.40, 2007.
- PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. (ed). Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos. 3ª ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.1, p. 417, 1995.
- PIEROZZI, P.H.B.; RIBEIRO, A.S.; MOREIRA, J.U.V.; LAPERUTA L.D.C.; RACHID, B.F.; LIMA, W.F.; ARIAS, C.A.A.; OLIVEIRA M.F.O.; TOLEDO, J.F.F. New soybean (*Glycine max* Fabales, Fabaceae) sources of qualitative genetic resistance to Asian soybean rust caused by *Phakopsora pachyrhizi* (Uredinales, Phakopsoraceae). **Genetic Molecular Biology**, v.31, n.2, 2008.
- PIUBELLI, G.C.; HOFFMANN-CAMPO, C. B.; ARRUDA, I.C.; FRANCHINI, J.C.; LARA, F.M. Flavonoid increase in soybean as a response to *Nezara viridula* injury and its effect on insect feeding preference. **Journal Chemycal Ecology** v.29, p. 1223-1233, 2003.