

Efeito da aplicação do ácido *cis*-jasmônico sobre a indução de flavonóides e de tricomas glandulares em plantas de soja

LOPES, B.P.V.¹; MAEDA, J.M.²; SILVA, D.M.³; BALESTRI, M.R.D.⁵; JANEGITZ, T.¹; LEVY, S.M.⁴; HOFFMANN-CAMPO, C.B.⁵

¹Centro Universitário Filadélfia - UNIFIL;

²Universidade Estadual do Norte do Paraná -

UENP; ³Universidade Federal do Paraná - UFPR;

⁴Universidade Estadual de Londrina - UEL; ⁵Embrapa Soja

A soja é a principal cultura de grãos do Brasil, tanto em área quanto em produção, ocupando o segundo lugar no ranking mundial de maior produtor e exportador. Assim, o país é um dos poucos com potencial para aumentar a produção no futuro, devido à existência de grandes áreas não cultivadas e à crescente demanda por produtos de soja (CONAB, 2007). No Brasil, a soja se tornou hospedeira de um número considerável de insetos-pragas (Hoffmann-Campo et. al., 2000). Na defesa contra insetos herbívoros e patógenos, as plantas possuem naturalmente metabólitos secundários chamados constitutivos, assim como produzem outras inúmeras substâncias que podem ser induzidas por estresses bióticos e abióticos. Além disso, após a ativação, alguns metabólitos secundários voláteis são sintetizados em estruturas especializadas, como os pelos epidérmicos modificados ou tricomas glandulares (Dimock & Kennedy, 1983). Em soja, (Polizel, 2007) observou que plantas submetidas a diferentes níveis de estresse causados pela falta de água apresentaram, entre outros mecanismos morfológicos de adaptação, o surgimento de tricomas glandulares. Substâncias constitutivas como os flavonóides são produtos naturais de defesa da soja, enquanto as fitoalexinas são induzidas, após desafios causados por agentes estressantes externos (Hoffmann-Campo, 1995). O ácido *cis*-jasmônico é um fito-hormônio ativador de defesas

químicas das plantas, produzindo metabólitos secundários voláteis e não-voláteis (Morais et. al., 2008; e Birkett et. al., 2000). De acordo com trabalhos realizados em nosso laboratório (Fernandez et al., 2009), a aplicação foliar de ácido *cis*-jasmônico em soja afetou negativamente o ganho de peso e diminuiu o desfolhamento causado por *Anticarsia gemmatalis*, além de aumentar as concentrações de flavonóides tanto na cultivar resistente (IAC 100) como na suscetível (BRS 134). Assim, na sequência, avaliou-se o efeito da aplicação do ácido *cis*-jasmônico na indução de compostos fenólicos e/ou na produção de tricomas glandulares em plantas de soja.

Em casa de vegetação, as cultivares BRS-134 (suscetível) e IAC-100 (resistente) foram semeadas em vasos de isopor (2 L) , utilizando-se uma mistura de pedra e vermiculita como substrato. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com tratamentos em arranjo fatorial 3 x 2 com oito repetições. Quando as plantas atingiram o estágio de desenvolvimento V1 para V2, as folhas foram pulverizadas com água; água + tween 20; água + tween 20 + ácido *cis*-jasmônico. Antes da pulverização foi realizada uma coleta para contagem de tricomas, análises cromatográficas e para eletromicrografia de varredura. Em seguida, aos 4, 7, 14, 21 e 28 dias após a pulverização, coletou-se novamente a última folha completamente desenvolvida por repetição, para as mesmas análises. Um folíolo foi usado para a contagem de tricoma, outro para análise cromatográfica e o mediano para eletromicrografia de varredura. O folíolo coletado para a realização das análises cromatográficas foi imediatamente colocado em nitrogênio líquido e, no laboratório, macerado com auxílio de almofariz. Para extração, retirou-se uma amostra de 200 mg do tecido que foi macerada, adicionando-se 2 mL de metanol 80 %, submetido a ultrassom por 20 min., filtrada e seca a vácuo. Os tricomas do folíolo foram contados, sob lupa estereoscópica (aumento de 20 vezes), em uma amostra, com área de 6 cm de diâmetro, retirada com o auxílio de um vazador. Para a realização da eletromicrografia de varredura, o folíolo mediano foi cortado utilizando um vazador de 1,5 cm, sendo as amostras fixadas em glutaraldeído e submetidas a um tampão fosfato a 0,1M, fixadas em ósmio a 1 % e lavadas com tampão fosfato por 10

min. Esse procedimento e a desidratação, em série alcoólica (70 %, 80 %, 90 % e 100 %), foram repetidos três vezes. As amostras fixadas e desidratadas foram secas, por meio do ponto crítico com CO₂, em equipamento Bal-Tec/CPD-030 (Critical Point Dryer). A seguir, a amostra foi montada em *stub* (suporte metálico), e fixada por meio de uma fita dupla face de carbono e inserida em disco e, a seguir, a amostra foi metalizada a vácuo com ouro, em equipamento Bal-Tec/SCD-050 (Sputter Coater). As observações das amostras e os registros fotográficos foram realizados em Microscópio Eletrônico de Varredura na UEL.

O número de tricomas variou de 44 a 102 por 6 cm de diâmetro nas duas cultivares (Fig. 1). De modo geral, o número de tricomas observados na cultivar IAC-100 foi maior do que na cultivar BRS-134, porém, naquela cultivar não foram observadas alterações importantes entre os tratamentos (água, tween ou ácido *cis*-jasmônico), em nenhuma das datas de avaliação. Contudo, na cultivar BRS 134, o número de tricomas nas folhas tratadas com ácido *cis*-jasmônico dobrou nas avaliações realizadas aos 7 e 21 dias após a pulverização, quando comparado com os demais tratamentos (água e água + tween).

A Fig. 2 mostra as fotografias eletrônicas dos tricomas das duas cultivares de soja, obtidas antes da aplicação dos tratamentos. Para identificar os diferentes tipos de tricomas (tectores e glândulares), estômatos e células epidérmicas, avaliações nas demais datas de coleta de tecido estão em andamento.

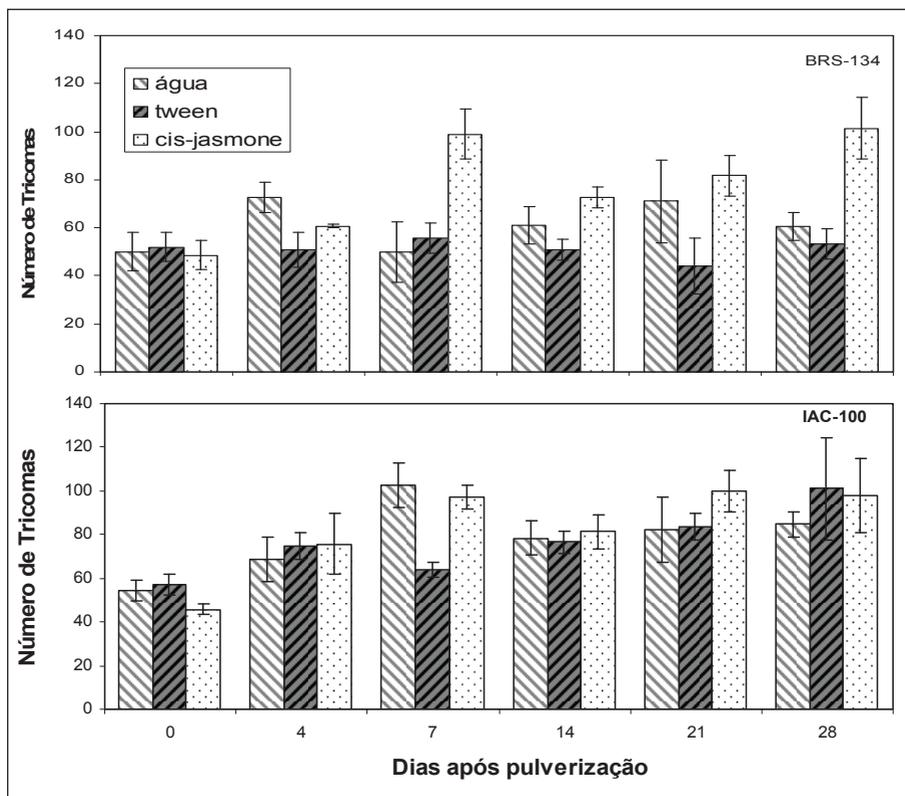


Fig. 1. Média do número de tricomas observados nas folhas das cultivares BRS 143 e IAC-100, nas diferentes datas após a pulverização com água, água + tween e água + tween + ácido *cis*-jasmônico.

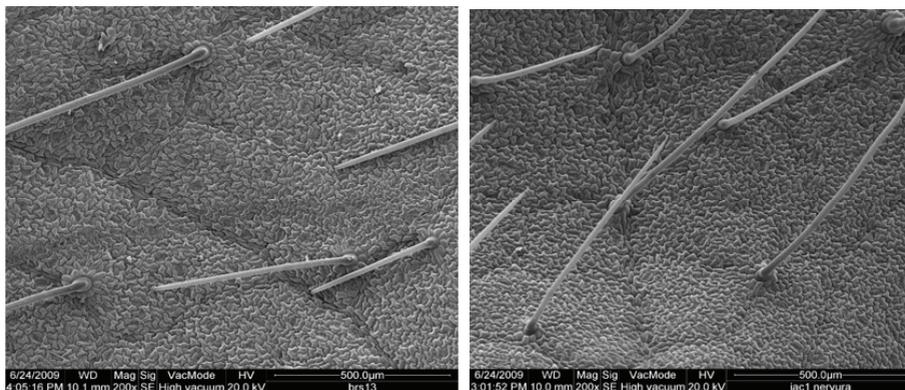


Fig. 2. Fotografias de tricomas de BRS 134 (esquerda) e IAC 100 (direita), obtidas por meio de microscopia eletrônica de varredura, antes da aplicação de ácido *cis*-jasmônico.

Referências

BIRKETT, M.A; CHAMBERLAIN, K; HICK, A.J; MARTIN, J.L; PICKETT, J.A; POPPY, G.M; POW, E.M; PYE, B.J; SMART, L.E; WADHAMS, G.H; WOODCOCK, C.M. New roles for *cis*-jasmone as an insect semiochemical and in plant defense. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.97, p.9329 -9324, 2000.

CONAB (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO). **Séries históricas safras 1990 a 2006**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 1 nov. 2007.

DIMOCK, M.; KENNEDY, G. The role of glandular trichomes in the resistance of *L. hirsutum f. glabratum* to *Heliothis zea*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v.44, p 263-268, 1983.

HOFFMANN- CAMPO, C.B. **Role of flavonoids in natural resistance of soybean to *Heliothis virescens* (F.) and *Trichoplusia ni* (Hübner)**. 1995. 165f. Dissertation (PHD) - The University of Reading, Reading, UK.

HOFFMANN-CAMPO, C. B.; MOSCARDI, F.; OLIVEIRA, L. J.; CORRÊA, B. S.; PAZZINI, A. R.; GAZZONI, D. L.; SOSA-GOMEZ, D. R.; CORSO, I. C.; OLIVEIRA, E. B. **Pragas da soja no Brasil e seu manejo integrado.** Londrina, Embrapa Soja, 2000, 70p.

FERNANDEZ, L.A., GRAÇA, J.P., JANEGITZ, T., MAEDA, J.M., BALESTRI, M.R.D., OLIVEIRA, M.C.N. de, HOFFMANN-CAMPO, C.B. Efeito da aplicação foliar de cis-jasmone no teor de flavonóides, no desfolhamento da soja e no ganho de peso de *Anticarsia gemmatalis*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 5.; MERCOSOJA 2009, Goiânia. **Resumos...** Londrina: Embrapa Soja, 2009. p. 156. Editado por Adilson de Oliveira Junior, Odilon Ferreira Saraiva, Clara Beatriz Hoffmann-Campo, César de Castro.

MORAIS, M.C.B; BIRKETT, M.A; GORDONWEEKS, R; SMART, L.E; MARTIN, J.L; PYE, B.J; BROMILOW, R; PICKETT, J.A. *Cis*-jasmone induces accumulation of defence compounds in wheat, *Triticum aestivum*. **Phytochemistry**, v. 69, p.9-17, 2008.

POLIZEL, A. M. **Avaliações moleculares, morfo-anatômicas e fisiológicas de soja geneticamente modificada com a construção rd29A: DREB1A de *Arabidopsis thaliana*, visando tolerância à seca.** 2007. 125 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.