



## **BIOFORMULADOS NA INDUÇÃO DE PROTEÍNAS RELACIONADAS A PATOGENESE EM COTILEDONES DE SOJA.**

Alice S. Utiyama (Bolsista Edital 81 CNPq/MDA); Juliana S.B. Oliveira (Doutoranda PGA); João Batista G.D. da Silva (Doutorando PGA); Kátia Regina F. Schwan-Estrada (Orientadora)  
e-mail: friendstar22@hotmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias/  
Agronomia/Maringá, PR.

**Área e subárea do conhecimento:** Agronomia – 50100009; Fitopatologia - 50102010

**Palavras-chave:** Controle alternativo, indução de resistência, soja.

### **Resumo:**

O uso de produtos alternativos, como o bioformulado, é um dos caminhos do controle alternativo de doenças. Deste modo, o objetivo deste projeto é analisar o potencial do formulado na indução de proteínas relacionadas a patogênese em soja (PR-proteínas). Utilizaram-se dois bioformulados (B1 e B2) produzidos a partir de fermentação de extratos plantas medicinais e diluídos a 5, 10, 15 e 20%, após autoclavagem por 20min à 120 °C. Para análise da atividade das enzimas, cotilédones de soja cv INT-6100 foram seccionados longitudinalmente e receberam 30µl dos tratamentos sobre os cortes. Foram analisados a atividade de peroxidase de guaiacol (GPOX), a atividade de catalase (CAT), a atividade de polifenoloxidase (PFO) e o teor de proteínas. Os dados foram submetidos à análise de variância e análise de regressão. A atividade de PFO com aplicações de B1 e B2 autoclavados, obtiveram ajustes de resposta linear e cúbica; e resposta quadrática para o tratamento B1 filtrado. A atividade de CAT com aplicações de B1 e B2 autoclavados, obtiveram ajustes de resposta quadrática e cúbica; e resposta quadrática para o tratamento B1 filtrado. A atividade de GPOX com aplicações de B1 filtrado obteve ajuste de resposta quadrática.

### **Introdução**

O controle de doenças em culturas como a soja é feito usualmente pela aplicação, na maioria das vezes indiscriminada, de produtos químicos, causando prejuízos ao meio e à saúde humana/animal. Procurando por outras maneiras para seu controle, visando também à diminuição desses



danos, há um enfoque no controle alternativo, que consiste no controle biológico e no uso de produtos naturais com atividade antimicrobiana e/ou indutora de resistência.

A resistência induzida, utilizando agentes externos, ativam genes (sem modificá-los) que emitem diversas respostas de defesa como proteínas relacionadas à patogênese e na síntese de fitoalexinas, entre outros.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi analisar o potencial do bioformulado na indução de proteínas relacionadas a patogênese em cotilédones de soja.

### **Materiais e métodos**

Os bioformulados foram preparados a partir da fermentação aeróbia induzida de extratos de plantas medicinais, denominados B1 e B2 respectivamente. Parte do material foi autoclavado durante 20min a 120°C, para avaliação de compostos termolábeis ou mesmo potencialização dos efeitos. Os tratamentos consistiram nas doses 5, 10, 15 e 20% dos formulados. Foram utilizados como controles negativo e positivo água destilada e Bion respectivamente.

Para avaliação dos tratamentos na indução de PR-proteínas foram utilizados cotilédones de soja cv INT-6100 após 10 dias de crescimento em areia esterilizada. Os cotilédones foram cortados em seção longitudinal e sobre os cortes depositados 30µl dos tratamentos. Após 24h em BOD no escuro à 25°C, os cotilédones foram pesados e feita extração em tampão fosfato 0,05M pH7. Após a centrifugação, o sobrenadante foi utilizado para as determinações bioquímicas.

Foram analisadas o teor de proteínas foi determinada pelo método de Bradford e o valores expressos em mg prot.  $gpf^{-1}$ ; a atividade da GPOX pelo método de Góth; a atividade de catalase pelo método de Tománková; e a atividade de PFO pelo método de Duangmal e Apenten; e os valores de todos foram expressos em  $\Delta ABS \text{ min mg prot}^{-1}$ . Os dados foram submetidos à análise de variância e análise de regressão.

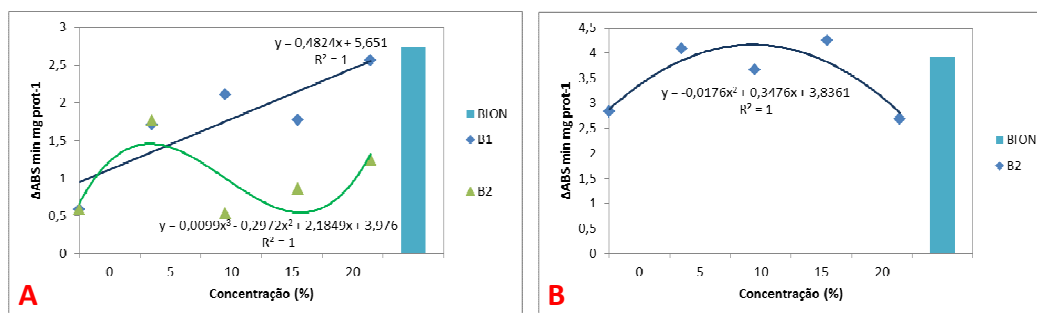
### **Resultados e Discussão**

A atividade de PFO foi incrementada pela aplicação do B1 e B2 autoclavados, com ajuste de resposta linear e cúbica (Figura 1A); e resposta quadrática para o tratamento B1 filtrado (Figura 1B). Na Figura 1A verifica-se que a atividade da polifenoloxidase com o tratamento B1 aumenta. Na Figura 1B verifica-se que a atividade aumenta até 15% e depois tende a diminuir. Resultados significativos não foram observados para B2 autoclavados, indicando presença de compostos com atividade indutora termolábel.

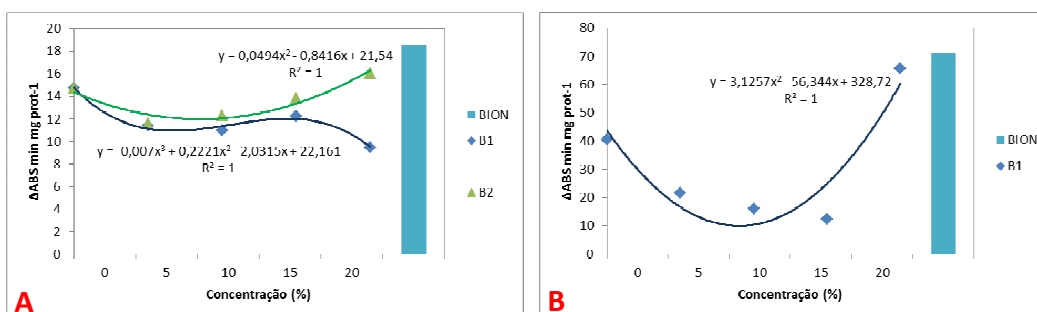


A atividade de catalase foi incrementada pela aplicação do B1 e B2 autoclavados, com ajuste de resposta quadrática e cúbica (Figura 2A); e resposta quadrática para o tratamento B1 filtrado (Figura 2B). Na Figura 2A verifica-se que houve redução na atividade de catalase com o tratamento B1; com B2 a maior atividade foi observada quando utilizou-se a concentração de 20%. Na Figura 2B verifica-se que a atividade diminui até 10% e aumento da atividade é observado a 20%. Resultados significativos não foram observados para B2 autoclavados, indicando presença de compostos com atividade indutora termolábel.

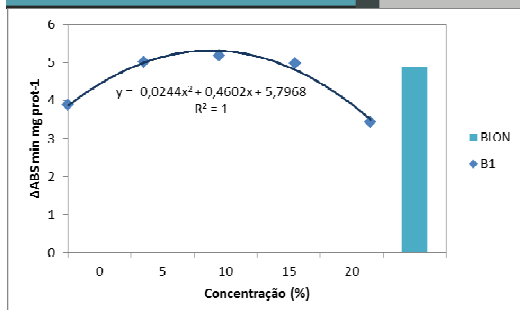
A atividade de GPOX foi incrementada pela aplicação do B1 filtrado, com ajuste de resposta quadrático (Figura 3). Neste gráfico verifica-se que a atividade de GPOX aumenta até a concentração 10% e depois tende a diminuir. Resultados significativos não foram observados para B2, nem para os tratamentos autoclavados, indicando presença de compostos com atividade indutora termolábel.



**Figura 1** – Atividade de polifenoloxidase em cotilédones de soja cv INT-6100 tratados com bioformulados A: autoclavados e B: filtrados.



**Figura 2** – Atividade de catalase em cotilédones de soja cv INT-6100 tratados com bioformulados A: autoclavados e B: filtrados.



**Figura 3** – Atividade de peroxidase em cotilédones de soja cv INT-6100 tratados com bioformulado filtrado.

### Conclusões

Conclui-se com o estudo que os bioformulados B1 e B2 autoclavados apresentaram aumentos na atividade de polifenoloxidase e catalase; e que B1 filtrado apresentou aumento da atividade das três enzimas estudadas, indicando o potencial desses produtos na elicitação de defesa em soja.

### Agradecimentos

Ao CNPq/MDA (Edital 81) por financiar e apoiar o projeto, e à Universidade Estadual de Maringá.

### Referências

DUANGMAL, K.; APENTEN, R.K.O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) e potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, Barking, v. 64, p. 351-359, 1999.

GÓTH, L. A simple method for determination of serum catalase and revision of reference range. **Clinica Chimica Acta**, v. 196, p. 143-152, 1991.

TOMÁNKOVÁ, K.; LUHOVÁ, L.; PETŔIVALSKÝ, M.; PEÈ P.; LEBEDA A. Biochemical aspects of reactive oxygen species formation in the interaction between *Lycopersicon* spp. and *Oidium neolycopersici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 68, p. 22–32, 2006.