

Efeitos da aplicação de promotor de lignificação sobre a propagação da mancha alva (*Corynespora cassiicola*)

Guilherme Straliote Gonçalves de Oliveira, Lucas Diego Figueiredo, Breno Miguel Joia, Osvaldo Ferrarese Filho (Orientador), email: osferrarese@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Bioquímica.

Ciências Biológicas, Bioquímica, Química de Macromoléculas

Palavras-Chave: Lignina, Fitopatologia, Indutor de lignificação

Resumo

A soja (*Glycine max* L.) é uma leguminosa importante para a economia brasileira. Nesse contexto, é necessário que o Brasil mantenha constante o investimento em pesquisa e tecnologia para atingir melhor produtividade. As lavouras de soja sofrem com diversas pragas como insetos, nematoides e fungos, o que leva à redução na produtividade. A parede celular vegetal é composta de polissacarídeos, compostos fenólicos e proteínas. Estes compostos formam uma rede entrelaçada covalentemente ligada. A presença de lignina nos tecidos vegetais é essencial para o seu desenvolvimento, pois a parede celular secundária, rica em lignina, confere aos tecidos vegetais resistência mecânica para o crescimento em altura, resistência e hidrofobicidade aos vasos condutores de seiva, além de atuar como uma barreira física contra a degradação da parede celular por patógenos e herbívoros. Após a pulverização do indutor de lignificação – um composto da família dos hidroxycinamatos – analisamos os teores de lignina nas folhas e seus efeitos sobre a propagação da mancha alva (*Corynespora cassiicola*). Analisando os dados obtidos por meio das técnicas descritas, podemos constatar que o número de amostras escolhido se mostrou com baixo valor estatístico, não sendo possível avaliar com precisão os efeitos do indutor de lignificação sobre as amostras. Além disso, não foi possível avaliar, precisamente, o efeito da lignificação sobre a infecção fúngica, pois a doença não se manifestou completamente nas folhas, uma vez que a cepa fúngica utilizada não se adaptou ao clima da região em que o estudo foi realizado.

Introdução

A soja é uma leguminosa de origem asiática, cujos primeiros registros datam de 2883 a 2838 a.C. No Brasil, dois fatores favoreceram a produção de soja: o clima favorável para a produção e a demanda de farelo de soja para a produção de ração para suínos e aves (EMBRAPA, 2019).

A lignina é um dos principais componentes da parede celular vegetal. É um polímero fenólico natural de alto peso molecular que possui composição e estrutura complexa. A biossíntese da lignina ocorre através de uma rede que se divide em três

processos: a biossíntese dos monolignóis, seguido pelo transporte e a polimerização (Liu et al. 2018).

No Brasil, o fungo *C. cassiicola*, agente etiológico da mancha-alvo, doença que infecta toda a parte aérea e o sistema radicular, ocorre com frequência nos Cerrados, sendo relatado pela primeira vez no Mato Grosso e no Paraná (Almeida et al. 2005). Sob condições de alta temperatura e alta umidade, *C. cassiicola* pode causar danos sérios à cultura, como a clorose das folhas que leva a queda das folhas do baixeiro, podendo avançar para as folhas superiores.

Metodologia

O cultivo de soja foi realizado em sala de cultivo do Laboratório de Bioquímica de Plantas (BIOPLAN), sob a temperatura média de 25 °C. Para isso, foi utilizado substrato a base de terra vegetal e vermiculita, na proporção de 1:1. O protocolo foi constituído de três grupos com três tratamentos cada um, totalizando nove vasos. O primeiro grupo era o controle, com plantas sem tratamento; o segundo com aplicação do indutor de lignificação na concentração de 5,0 M e, por fim, o terceiro tratamento com Cercobin[®], um fungicida de referência para *C. cassiicola*. A assepsia das sementes foi efetuada com hipoclorito de sódio 1%, por cinco minutos, seguido por lavagem exaustiva com água deionizada. O plantio foi realizado e a primeira rega efetuada com 200 ml de água deionizada por vaso. As regas foram feitas três vezes por semana, sendo que às segundas-feiras foi utilizada solução nutritiva de Hoagland e, as quartas e sextas, com água deionizada.

O indutor foi pulverizado sobre as plantas utilizando um aspersor manual, com vazão ajustada para 200 L ha⁻¹, contendo 0,5% do adjuvante Áureo[®]. A aplicação do indutor de lignificação foi realizada nas plantas na transição entre o V4 e o V5, o que corresponde a aproximadamente o 30º dia após a germinação (DAG). Três dias após a pulverização, foi procedido o inóculo do fungo. O desenvolvimento experimental foi acompanhado diariamente com a coleta das folhas realizadas após 10 dias da infecção. O material coletado foi seco em estufa à 60 °C. Após obtenção de massa constante as folhas foram processadas em moinho de bola durante 30 segundos.

Extrações exaustivas foram executadas para a obtenção de parede celular isenta de proteínas (dos Santos et al. 2008). O método utilizado foi a hidratação do resíduo insolúvel em álcool utilizando tampão fosfato de sódio e potássio (pH 6,0), seguido de agitação em vortex. As amostras foram centrifugadas a 3200 rpm por cinco minutos e o sobrenadante descartado. O pellet residual foi lavado em Triton X-100, a 1% em tampão fosfato de sódio e potássio (pH 6,0). Todas as etapas foram repetidas cinco vezes. Por fim, o material foi lavado com acetona e centrifugado, por mais três repetições. Para a secagem, o material foi colocado em estufa, a 60 °C durante a noite. Após a obtenção da parede celular isenta de proteínas, as amostras foram pesadas para determinação do teor total de lignina. A quantificação de lignina foi realizada por meio de hidrólise ácida, a 70 °C, na presença de brometo de acetila (25% em ácido acético). Após 30 minutos, as reações foram resfriadas em banho de gelo e neutralizadas com NaOH 2M, para interromper a reação. Posteriormente, foi adicionado hidroxilamina-HCl a 7,5M. Os volumes finais da reação foram ajustados com ácido acético glacial, e as amostras foram centrifugadas a 3200 rpm por 5 minutos. As amostras foram diluídas em ácido acético e a absorbância foi

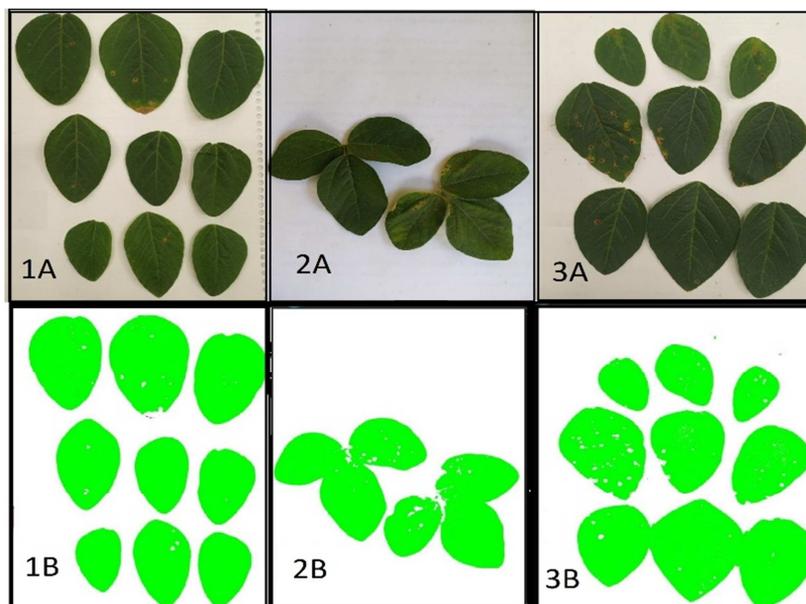
determinada em espectrofotômetro a 280 nm. Para a análise da área foliar, ocupada pelas manchas de *C. cassiicola*, foi utilizado o software Easy Leaf Scanner®.

Resultados e discussão

Após as análises realizadas, segundo a metodologia descrita e com auxílio do software Microsoft Excel®, obtivemos os seguintes dados sendo C (controle) e T (tratamento com o indutor de lignificação) e F (fungicida).

Tabela 1. Dados obtidos por espectrofotometria para avaliação da quantidade total de lignina por amostra.

	mg/g PCIP	desvio	aumento
Controle	69,61	± 4,63	
Tratamento	68,02	± 1,34	-
Fungicida	76,21	± 4,57	9,5%



A fig.1 mostra as imagens das folhas no 10º dia após o inóculo do fungo.

Figura 1. Em 1A: folhas do grupo controle. Em 1B: área das folhas do grupo controle. Em 2A: grupo tratado com o indutor de lignificação. Em 2B: área das folhas do grupo tratado com o indutor. Em 3A: folhas do grupo do fungicida. Em 3B: área das folhas do grupo do fungicida

Analisando os dados obtidos por meio das técnicas descritas, podemos constatar que o número de amostras escolhido se mostrou com baixo valor estatístico. Possivelmente, para uma análise mais precisa sobre os efeitos do indutor de lignificação e sobre o efeito dessa condição na infecção fúngica, um novo estudo

com número maior de indivíduos poderá ser útil. Além disso, observarmos que o grupo tratado com o fungicida apresentou um aumento significativo ($p \leq 0,05$) no teor de lignificação. Esse resultado pode ser decorrente de um efeito colateral da aplicação, uma vez que estresses podem ativar as vias do metabolismo secundário (dos Santos et al., 2008).

Não foi possível avaliar, precisamente, o efeito da lignificação sobre a infecção fúngica, pois a doença não se manifestou completamente nas folhas. Possivelmente, a cepa de *C. cassiicola*, cedida pela Embrapa - Soja, era oriunda do estado de Mato Grosso do Sul, e não se desenvolveu adequadamente no clima paranaense. Sendo assim, a avaliação dos efeitos da progressão da doença foi inconclusiva.

Agradecimentos

Fundação Araucária, CNPq e CAPES.

Referências

ALMEIDA, A.M.R.; FERREIRA, L.P.; YORINORI, J.T.; SILVA, J.F.V.; HENNING, A.A.; GODOY, C.V.; COSTAMILAN, L.M.; MEYER, M.C. Doenças da Soja. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Eds.) **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v.2, p. 569-588.

DOS SANTOS, Wanderley Dantas; FERRARESE, M. L. L.; NAKAMURA, C. V.; MOURÃO, K. S. M.; MANGOLIN, C. A.; FERRARESE-FILHO, O. **Soybean (*Glycine max*) root lignification induced by ferulic acid. The possible mode of action.** *Journal of Chemical Ecology*, v. 34, n. 9, p. 1230–1241, 2008. DOI: 10.1007/s10886-008-9522-3.

EMBRAPA. **História da Soja**: Embrapa Soja, 2019. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/historia>>. Acesso: 3 abril 2020.

LIU, Q.; LUO, L.; ZHENG, L. **Lignins: Biosynthesis and biological functions in plants.** *International Journal of Molecular Sciences*, v. 19, n. 335, 2018. 16 p. DOI:10.3390/ijms19020335.