



## INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE SOJA A *Meloidogyne javanica*

INDUCTION OF SOYBEAN GENOTYPE RESISTANCE TO *Meloidogyne javanica*

JANEGITZ, T.<sup>1</sup>; VIEIRA, S.S.<sup>2</sup>; GRAÇA, J.P.<sup>3</sup>; UEDA, T.<sup>4</sup>; SALVADOR, M.C.<sup>5</sup>; LEMES, T.<sup>5</sup>; OLIVEIRA, M.C.N.<sup>6</sup>; DIAS, W.<sup>6</sup>; FERRARESE-FILHO, O.<sup>1</sup>; HOFFMANN-CAMPO, C.B.<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual de Maringá/ UEM, PR; e-mail: [tatjanegitz@hotmail.com](mailto:tatjanegitz@hotmail.com)

<sup>2</sup> Instituto Agronômico de Campinas/ IAC, SP;

<sup>3</sup> UNESP – Jaboticabal, SP;

<sup>4</sup> Centro Universitário Filadélfia/ UniFil, PR;

<sup>5</sup> Universidade Estadual de Londrina/ UEL, PR;

<sup>6</sup> Embrapa Soja, Londrina - PR

### Resumo

Nematóides parasitas de plantas estão amplamente distribuídos no Brasil, sendo *M. javanica* a espécie que vem causando os danos mais severos à cultura da soja. Essa praga é difícil de controlar, sendo a resistência de plantas a principal estratégia de controle. A indução de compostos de defesa pela aplicação de *cis*-jasmone foi analisada em extratos de raízes de plântulas dos genótipos BRS 133 (suscetível) e PI 595099 (resistente). As plantas foram tratadas com pulverização foliar e os extratos foram analisados em cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) para quantificação de compostos fenólicos e atividade da PAL (fenilalanina amônia-liase). A pulverização foliar com *cis*-jasmone induziu sistemicamente nas raízes das plantas a atividade da PAL, após 120h da aplicação, e a síntese de daidzeína, genisteína e coumestrol, após 144h, sendo essa indução mais acentuada no genótipo resistente. Estes resultados sugerem que a indução de forma sistêmica da fitoalexina coumestrol, nas raízes de soja, por *cis*-jasmone, pode estar relacionada à resistência de genótipos de soja à *M. javanica*.

### Introdução

No Brasil, nematóides parasitas de plantas estão amplamente distribuídos, sendo *M. javanica* a espécie que vem causando danos crescentes e severos a cultura da soja, principalmente em lavouras na região central (TECNOLOGIAS..., 2011).

A utilização de cultivares resistentes ou tolerantes e a rotação de culturas são a principal forma de controle dos nematóides (AUBERTOT et al., 2006), e a indução de resistência pode ser uma ferramenta adicional, possibilitando não somente a redução das populações de nematoides e como pode propiciar a identificação de genes candidatos à utilização em programas de melhoramento.

A indução de resistência consiste no aumento dos níveis de defesa da planta pela ativação de genes que codificam para diversos compostos em resposta a fatores externos bióticos e/ou abióticos. Essas respostas de defesa estão relacionadas com a atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL), conduzindo ao acúmulo de lignina e à síntese de isoflavonas e fitoalexinas (KOVÁČIK et al., 2007).

É amplamente aceito que o ácido jasmônico e metil jasmonato são indutores de defesa em diversas plantas (KESSLER & BALDWIN, 2002). Entretanto, pouco se sabe sobre os efeitos, em soja, do *cis*-jasmone, que é o produto final da via biossintética do ácido jasmônico. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade da PAL, identificar e quantificar os compostos fenólicos induzidos por *cis*-jasmone em genótipos de soja resistente e suscetível à *M. javanica*.

### Material e Métodos

Genótipos de soja BRS 133 (suscetível a *M. javanica*) e PI 595099 (resistente a *M. javanica*) foram semeados em tubetes plásticos contendo areia esterilizada como substrato em

casa de vegetação da Embrapa Soja. Sete dias após semeadura as plântulas foram pulverizadas com 1,4mM de *cis*-jasmone (água + 0,02% de Tween 20) ou com a solução controle (água + 0,02% de Tween 20). Antes da pulverização (0h), 48h, 72h, 96h, 120h e 144h após a pulverização foliar, amostras de raízes foram coletadas para posterior análise da atividade da PAL e quantificação de isoflavonóides.

A análise da atividade da PAL foi fundamentada na metodologia descrita por Ferrarese et al. (2000) e o extrato foi injetado em cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC Shimadzu®, Japão). Para identificação e quantificação dos isoflavonóides, amostras de raízes foram moídas com N líquido e extraídas com 90% MeOH, o extrato após filtrado e injetado em HPLC.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as comparações múltiplas das médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Dados quantitativos foram submetidos à análise de regressão. Os programas estatísticos utilizados foram os pacotes SAS-Statistical Analysis System e Sanest.

## Resultados e Discussão

Nas análises cromatográficas de raízes de plântulas de soja tratadas com *cis*-jasmone ou controle, observou-se a atividade da PAL e a produção dos isoflavonoides daidzeína e genisteína, além da fitoalexina coumestrol. A resposta da atividade da PAL (Figura 1), manteve-se baixa nas primeiras horas de coleta (0, 48, 72 horas após aplicação), aumentando em 96h e 120h após aplicação, para ambos os tratamentos (Figura 1A). Porém, de um modo geral, a atividade da enzima foi mais acentuada nas plantas tratadas com *cis*-jasmone.

Concentrações de daidzeína e genisteína aumentaram mais acentuadamente 120h e 144h após aplicação de *cis*-jasmone, enquanto no controle houve um aumento ao longo das horas de coleta (Figura 1B, C). Por outro lado, a indução da fitoalexina coumestrol (Figura 1D) foi observada a partir de 48h após aplicação foliar dos tratamentos. Em plantas tratadas com *cis*-jasmone, observou-se, após 144h da aplicação, um aumento de aproximadamente cinco vezes na concentração da fitoalexina, atingindo 1ng mg<sup>-1</sup>, sendo em geral maior em plantas tratadas com *cis*-jasmone.

Quando se analisa a interação genótipo x hora (Figura 2) se observa que as concentrações de genisteína aumentaram mais rapidamente na PI595099 a partir de 48h da aplicação dos tratamentos, enquanto a cultivar suscetível permaneceu inalterada até 96h. (Figura 2A). Concentrações de coumestrol na BRS 133 permaneceram baixas até 120h após a pulverização foliar, aumentando, surpreendentemente, na última avaliação (144h). Na PI 595099, as concentrações de coumestrol aumentaram linearmente a partir de 48h da aplicação dos tratamentos.

A interação genótipo x tratamento foi significativa apenas nas concentrações de daidzeína (Figura 3). Em relação a cultivar suscetível (BRS 133), a PI 595099 apresentou maior concentração do composto e não se observou diferença significativa dos tratamentos (*cis*-jasmone e controle). Por outro lado, as raízes da cultivar BRS 133 apresentaram maior concentração de daidzeína, quando suas folhas foram tratadas com *cis*-jasmone.

Os resultados demonstraram que a aplicação foliar com *cis*-jasmone induziu o aumento da atividade da PAL e das concentrações de isoflavonóides como daidzeína, genisteína e do coumestrol de forma sistêmica, principalmente no genótipo resistente à *M. javanica*. O aumento da atividade da PAL em 96h e 120h após pulverização foliar com *cis*-jasmone pode, na sequência, estar relacionado com o aumento da síntese dos isoflavonoides em 120h e 144h após pulverização. Indicando que *cis*-jasmone induziu a atividade da PAL, e esta enzima desencadeou a síntese de compostos relacionados com a defesa de plantas de soja. Sendo assim, a pulverização foliar com *cis*-jasmone pode ter desencadeado a síntese dos isoflavonoides como resposta de defesa da soja.

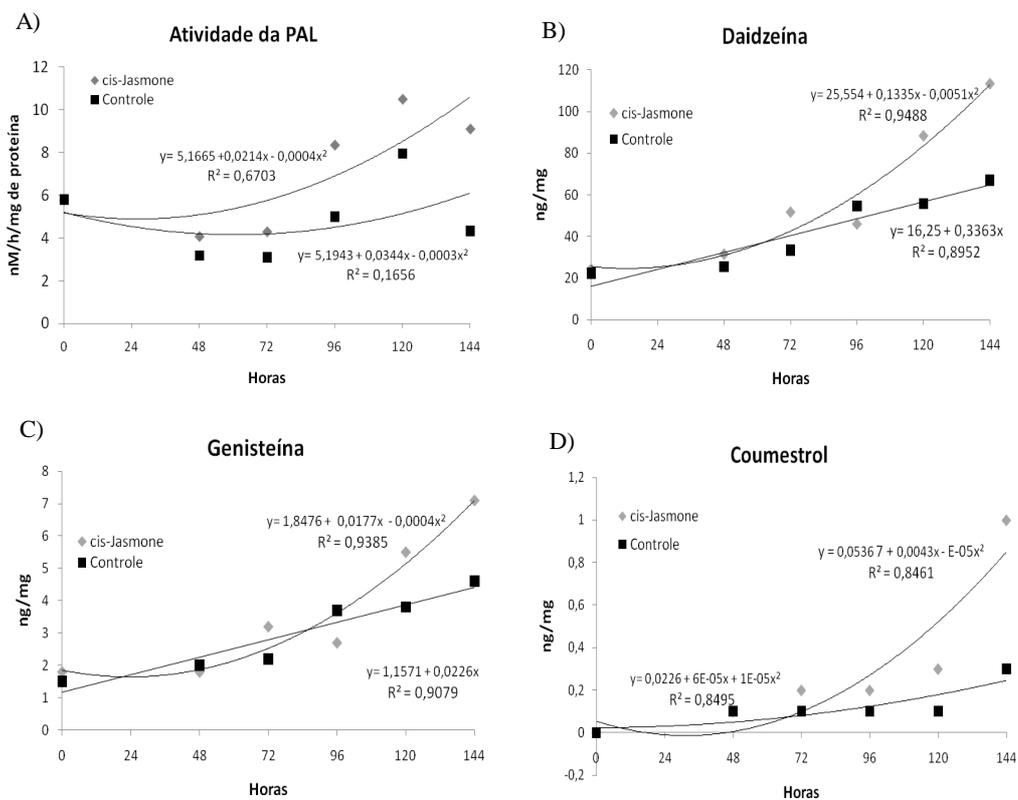


Figura 1. Atividade da fenilalanina amônia-liase (A) e concentrações de daidzeína (B), genisteína (C) e coumestrol (D) em raízes de plantas tratadas com pulverização foliar de *cis*-jasmone e controle. Análise de Regressão polinomial para os níveis de hora dentro de tratamento.

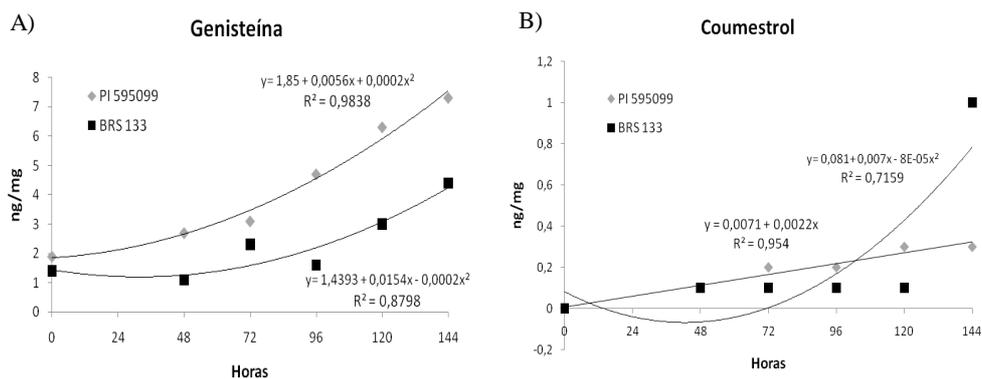


Figura 2. Concentração de genisteína (A) e coumestrol (B) em raízes dos genótipos tratados com pulverização foliar de *cis*-jasmone. Análise de Regressão polinomial para os níveis de hora dentro de genótipo.

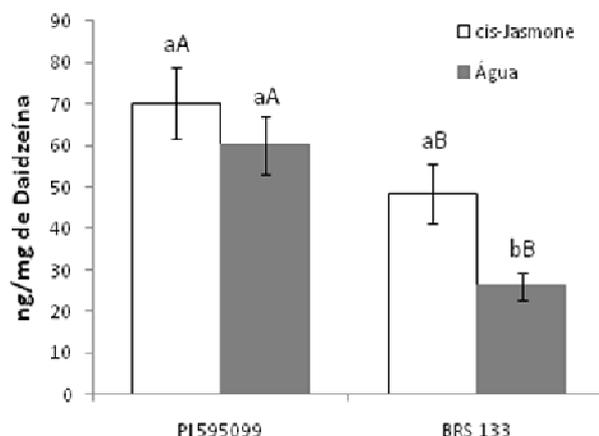


Figura 3. Efeito da interação genótipo x tratamento na concentração de daidzeína em raízes dos genótipos pulverizados com *cis*-jasmone ou controle. Letras minúsculas comparam as concentrações dos compostos entre os tratamentos, e letras maiúsculas comparam as concentrações dos compostos entre os genótipos pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

### Conclusões

- A aplicação foliar de *cis*-jasmone induz sistemicamente compostos de defesa em raízes de soja, principalmente no genótipo resistente.
- A fitoalexina coumestrol é um dos compostos relacionados à resistência da soja à *M. javanica*

### Referências

AUBERTOT, J.N.; WEST, J.S.; BOUSSET-VASLIN, L.; SALAM, M.U.; BARBETTI, M.J.; DIGGLE, A.J. Improved resistance management for durable disease control: a case study of phoma stem canker of oilseed rape (*Brassica napus*). **Eur. J. Plant Pathol.**, v.114, p.91-106, 2006.

KESSLER, A. & BALDWIN, I.T. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. **Annual Review of Plant Biology**, v.53, p.299-328, 2002.

KOVÁČIK, J.; KLEJDUS, B.; BACKOR, M.; REPCAK, M. Phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic compounds accumulation in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* leaf rosettes. **Plant Sci.**, v.172, p.393-399, 2007.

**Tecnologias de produção de soja - região central do Brasil 2011**. Londrina: Embrapa Soja: Embrapa Cerrados: Embrapa Agropecuária Oeste, p.197-224, 2010. 255 p. (Embrapa Soja. Sistemas de Produção, 14).