

Morfoanatomia de *Glycine max* (L.) Merrill infectadas por *Phakopsora pachyrhizi* H. Sydow & Sydow

Rosilda Mara Mussury^{1,2}, Roseli Betoni¹, Magaiver Andrade Silva¹, Viviane Decian¹,
Silvana de Paula Quintão Scalon² e Eveline de Lima Barbosa¹

Introdução

A cultura da soja (*Glycine Max* (L.) Merrill) está sujeita a diversos problemas fitossanitários sendo a ferrugem asiática, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* H. Sydow & Sydow um basidiomiceto, pertencente à subclasse Teliomicetidae, ordem Uredinales e família Phakopsoraceae, a principal doença fúngica no Estado de Mato Grosso do Sul. A doença já atingiu os municípios de Sete Quedas, Juti, Amambaí, Itaquiraí, Itaporã, Laguna Carapã, Iguatemi, Aral Moreira, Chapadão do Sul, Costa Rica, São Gabriel do Oeste, Antonio João, Aral Moreira, Ponta Porã, Maracajú, Jardim, Dourados, Rio Brillhante, Sidrolândia e Caarapó [3].

De forma geral, as plantas desenvolveram mecanismos de defesa contra os fitopatógenos, os quais são desencadeados imediatamente após a presença destes organismos nos tecidos hospedeiros [1,13]. Nesta interação, o simples contato entre o fitopatógeno e a planta desencadeia uma série de reações de reconhecimento, resultando em modificações, entre elas, mudanças morfológicas visíveis. O conhecimento da maneira pela qual um fitopatógeno altera a fisiologia e o crescimento do vegetal pode auxiliar no combate às doenças, assim como também na diminuição dos danos causados às culturas. Dessa forma, os estudos anatômicos visam caracterizar as estruturas que dificultam o estabelecimento do patógeno e as análises histopatológicas permitem identificar os tecidos infectados pelos patógenos, associando-os com a fisiologia da planta e com os prejuízos causados ao vegetal.

Assim o objetivo da presente pesquisa foi caracterizar os tecidos vegetais lesados de *Glycine max* por *P. pachyrhizi*.

Material e métodos

Os canteiros experimentais foram feitos na Embrapa Agropecuária Oeste em Dourados, MS. O material amostrado foi trazido para o laboratório de Botânica do Centro Universitário da Grande Dourados – MS (UNIGRAN) e posteriormente analisado.

Folhas completamente expandidas, provenientes do quinto nó do cultivar 181 de *G. max* foram analisadas no terço mediano. Para análise anatômica foram amostradas secções transversais e paradérmicas. Os cortes anatômicos foram realizados à mão livre, utilizando-se material fresco e fixado. As secções obtidas à mão livre

foram clarificadas com hipoclorito de sódio a 20% e, após serem lavadas em água acética 2%, foram submetidas à dupla coloração com azul de astra e safranina [5] e montadas em gelatina glicerizada [6].

O teste histoquímico de cloreto férrico para detecção de compostos fenólicos [8] foi realizado em secções de material não fixado, obtidas à mão-livre com auxílio de lâmina de barbear.

Folhas também foram fixadas em FAA 50 [8], estocados em álcool 70% e, posteriormente, incluídas em historesina da marca Leica, seguindo-se as recomendações do fabricante e seccionado com cerca de 8-10µm de espessura, em séries transversais. As secções obtidas foram coradas com azul de toluidina a 0,05%, em tampão acetato pH 4,7 [12] e montadas em Permount.

As fotomicrografias foram obtidas em microscópio trinocular Labomed CXRII acoplado a câmera fotográfica Sony cyber shot 4.1.

Resultados

A ferrugem da soja aparece em qualquer fase do desenvolvimento da planta e caracteriza-se pelo aparecimento de minúsculas lesões mais escuras do que o tecido sadio da folha (Fig. 1). Os sintomas mais comuns da ferrugem da soja cultivada são lesões poligonais marrom a castanho escuro. No interior de cada lesão existem erupções formando a urédia globosa. Uredosporo (Fig. 2) são liberados diretamente no ostíolo circular. Observaram-se lesões em toda parte aérea, mas, em maior abundância na face abaxial das folhas.

O processo de infecção começa quando uredosporos germinados produzem um simples tubo germinativo (Fig. 2) que cresce através da superfície da folha até a formação do apressório.

A anatomia da folha sadia apresenta o limbo em secção transversal mediana (Fig. 3), com epiderme unisseriada em ambas as faces, constituída por células de tamanhos variados, com parede periclinal externa espessada e estômatos em ambas as faces. Em secção paradérmica observa-se que os estômatos são do tipo paracítico, ocorrendo tricomas glandulares e tectores. O mesofilo é dorsiventral e apresenta dois a três estratos de parênquima paliçádico dispostos de forma descontínua que se prolongam até a região da nervura primária e quatro a cinco estratos frouxamente dispostos de parênquima esponjoso. O feixe vascular das nervuras foliares é envolvido por uma bainha de células

1. Centro Universitário da Grande Dourados, UNIGRAN, Dourados-MS. Rua Balbina Vieira de Matos, 2121. Jardim Universitário. Dourados-MS. CEP 79824900. e-mail: mara@unigran.br

2. Universidade Federal da Grande Dourados, UFGD. Rodovia Dourados - Itahum km 12. Dourados-MS. CEP 798000. Apoio financeiro: FUNDECT e CNPq.

parenquimáticas, as quais se arranjam de forma justaposta estendendo-se até a epiderme.

A nervura principal em secção transversal exhibe contorno biconvexo, apresentando células epidérmicas em ambas as faces com tamanho reduzido em relação às células do mesofilo e parênquima fundamental. Abaixo da epiderme, observam-se uma a duas camadas de colênquima e, mais internamente, células parenquimáticas de diferentes tamanhos ocorrem junto ao feixe. O tecido vascular é formado por um feixe vascular grande e um feixe vascular menor em posição frontal ao maior. Fibras envolvem de forma descontínua os feixes.

No tecido infectado observa-se que após a penetração do fungo as lesões nos tecidos foliares ocorrem inicialmente na face abaxial (Fig. 4) com destruição do parênquima lacunoso em função da intensa proliferação do tecido micelial. Posteriormente uma saliência aparece no tecido epidérmico que se rompe liberando uredosporos (Fig. 4, 5 e 6). Na região da nervura principal urédias desenvolvidas são observadas principalmente na face abaxial.

Observou-se que na planta infectada há intensa pilosidade no limbo e cutícula espessada. Foi observada a presença de compostos fenólicos na epiderme rompida em função de crescimento do tecido micelial.

Discussão

De acordo com Andrade & Andrade [2] as lesões provocadas por *P. pachyrhizi* em *G. max* podem aparecer nos pecíolos, vagens e ramos, porém são mais abundantes nas folhas, principalmente na superfície inferior. O estudo anatômico evidencia a ocorrência de tais lesões em todo limbo predominantemente na região internervural, sendo observada ainda na porção lateral da nervura principal.

Dentre os mecanismos de resistência os tricomas e os tecidos lignificados funcionam como uma barreira mecânica a invasão do fungo [9, 13]. Além dos tricomas, a cutícula e a parede celular são as primeiras barreiras que os microorganismos encontram para estabelecer a infecção. Segundo McNeil *et al.* [11], as paredes celulares não apenas afetam o tamanho e a forma das células como constituem barreiras aos microorganismos por apresentarem uma mistura complexa de substâncias inibidoras. De acordo com Jiménez-Díaz [7] observa-se que quando a planta hospedeira apresenta densa pilosidade as hifas permanecem na superfície da folha enoveladas nos tricomas presentes, indicando haver uma relação entre a densidade de tricomas e a resistência à doença. Em *G. max* foi observado abundância de tricomas principalmente na face abaxial além de cutícula espessada. Provavelmente os tricomas agem evitando o

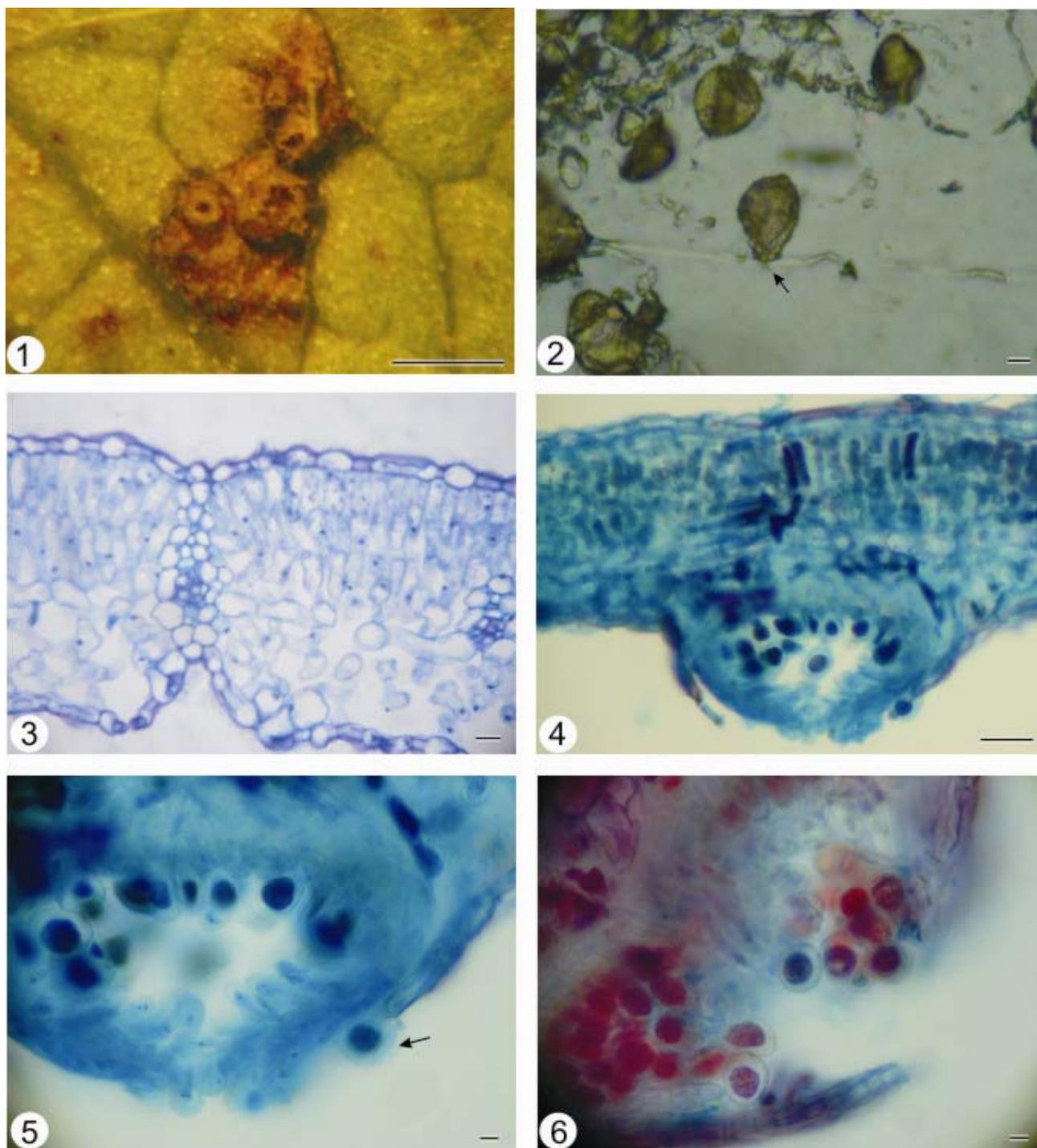
acúmulo de água sobre a superfície da planta hospedeira, necessário à germinação de esporos fúngicos. Outra forma de inibição da colonização dos tecidos por *P. pachyrhizi* foi a presença de compostos fenólicos, que de acordo com Mauseth [10] podem inibir enzimas degradadoras celulares. Provavelmente essas sejam importantes barreiras à penetração do patógeno.

Agradecimentos

Os autores agradecem a UNIGRAN pela oportunidade na realização da pesquisa, ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) a bolsa concedida e à FUNDECT-MS (Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul) o apoio financeiro.

Referências

- [1] AGRIOS, G.N. 1997 How plants defend themselves against pathogens. In: *Plant Pathology* (G.N. Agrios, ed.). 4th ed. Academic Press, California, p.93-114.
- [2] ANDRADE, P.J.M.; ANDRADE, D. F. de A. A. 2002. Ferrugem Asiática - uma ameaça a soja brasileira. Dourados, MS: EMBRAPA Agropecuária Oeste. *Circular Técnica 11*.
- [3] BANCO DE NOTÍCIAS - EMBRAPA APONTA PERDAS DE US\$ 2 BILHÕES COM FERRUGEM DA SOJA NA SAFRA 2003/2004. Disponível em www.cnpsa.embrapa.br. Acesso em: 02 jul.2004.
- [4] BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. 2006. *Manual de Fitopatologia: Princípios e conceitos*. 3^o ed. São Paulo: Ceres. 417-453.
- [5] BUKATSCH, F. 1972. Bemerkungen zur Doppelfärbung Astrablau – Safranin. *Mikrokosmos*, v.61, n.8, p.225.
- [6] DOP, P.; GAUTIER, A. 1928. *Manual de technique botanique*. 2.ed. Paris: J. Lamare, 594p.
- [7] JIMÉNEZ-DÍAZ, R.M.1996. Interacciones planta-hongos: mecanismos de infección, patogénesis, y resistencia. In: LLÁCER, G.; LOPÉZ, M.M.; TRAPERO, A.; BELLO, A. *Patología Vegetal*. Valencia: Phytoma. 739-769 p.
- [8] JOHANSEN, D. A. 1940. *Plant Microtechnique*. McGraw-Hill Book Company. Inc. New York. 523p.
- [9] KUNWART, I.J.; SINGH, T.; SINCLAIR, J.B. 1985. Histopathology of mixed infection by *Colletortichum truncatum*, *Phomopsis* spp. and *Cercospora sojinia* in soybean seeds. *Phytopathology*. 75: 489-492.
- [10] MAUSETH, J.D. 1995. Fungi. In: *Botany: an introduction to plant biology*. 2^o ed. San Marino/California: Sunders College Publishing. 542-574.
- [11] MCNEIL, M.; DARVILL, A.G.; FRY, S.C. & ALBERSHEIM, P. 1984. Structure and function of the primary cells walls of plant. *Annual Review Biochemistry*. 53: 625-663.
- [12] O'BRIEN, T. P., FEDER, N.; MCCULLY, M. E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma*, v.59, n.2, p.368:73.
- [13] PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. 1995. Hospedeiro: Mecanismo de Resistência. In: Bergamin Filho, A.; Kimati, H.; Amorim, L. *Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos*. 3^o ed. São Paulo: Ceres v. 1, p.417-453.



Figuras 1-8. Esporos de *Phakopsora pachyrhizi* e folhas de *Glycyne max* infectadas. 1.Folha lesionada. 2. Detalhe de uredosporos e tubo germinativo de *P. pachyrhizi* (seta). 3. Região internervural. 4. Urédia aberta. 5. Uredosporo (seta). 6. Detalhe da urédia com abertura visível. Figura 1. 28 mm; Figuras 2, 3, 4, 5 e 6, 50 μ m.