



Indução de resistência por fosfitos em soja

Induction of resistance phosphite in soybean

RESUMO

Édson Bertoldo

Autor

edsonb@alunos.utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná,
Brasil

Sérgio Miguel Mazaro

Co-autor

sergio@utfpr.edu.br Instituição

Universidade Tecnológica Federal
do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná,
Brasil

OBJETIVO: avaliar o potencial de produtos a base de fosfitos na ativação de mecanismos de defesa em cotilédones de soja. **MÉTODOS:** O experimento foi conduzido em DIC (5x4). Os tratamentos foram constituídos de diferentes concentrações de fosfito (0,002%, 0,003% e 0,004%), indutor de referência (Acibenzolar-S-Metil) e a testemunha, água destilada. Os cotilédones foram tratados, incubados e a atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) e das fitoalexinas determinada por espectrofotometria. **RESULTADOS:** o fosfito não apresentou potencial de induzir a atividade da enzima fenilalanina amônia-liase, mas induziu a produção de gliceolina, uma fitoalexina da soja. **CONCLUSÕES:** o produto a base de fosfito é capaz de induzir a produção de gliceolina em soja, ou seja, apresenta potencial para estimular mecanismos de defesa inerentes à planta.

PALAVRAS-CHAVE: Gliceolina. Fenilalanina amônia-liase. Defesa vegetal.

INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max* L.) é a cultura agrícola brasileira que mais cresceu nas últimas décadas, sendo o Brasil o segundo maior produtor mundial do grão (EMBRAPA, 2017). O principal desafio da cultura é aliar produtividade com sustentabilidade, diminuindo os riscos ao meio ambiente e contribuindo para a segurança alimentar.

Alguns compostos naturais e sintéticos estimulam respostas naturais de defesa vegetal, de forma similar aos observados em interações planta-patógeno (DANIEL; GUEST, 2006). Estes compostos são conhecidos como indutores de resistência. Fosfitos têm sido utilizados para induzir respostas de defesa nas plantas (ESHRAGHI et al., 2011). Estudos sugerem que os fosfitos tem um modo complexo de ação, incluindo os efeitos diretos e indiretos. O efeito direto refere-se à inibição do crescimento de agentes patogênicos e redução ou mudança no seu metabolismo (KING et al., 2010), já o efeito indireto envolve a estimulação dos mecanismos de defesa da planta, tal como o aumento da produção de fitoalexinas e ROS (espécies reativas ao oxigênio), a indução de proteínas relacionadas com patogênese (PR proteínas) e reforço da parede celular (ESHRAGHI et al., 2011).

A enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) é indicativa da expressão constitutiva de metabólitos secundários de origem fenólica, essenciais à estrutura celular (PREGELJ et al., 2011). A enzima está envolvida no primeiro passo da síntese dos fenilpropanóides, com a conversão de fenilalanina em ácido trans-cinâmico, o que resulta em compostos como a lignina, que conferem resistência à parede celular e atuam como sinalizadores e em respostas de defesa. Além disso, atua na biossíntese, na regulação da síntese de compostos fenólicos (GERASIMOVA et al., 2005), e em respostas a estresses bióticos e abióticos.

As fitoalexinas são metabólitos secundários, antimicrobianos, produzidos pela planta em resposta a estresses físicos, químicos ou biológicos. O modo de ação sobre fungos inclui granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas, refletindo na inibição da germinação ou na elongação do tubo germinativo e na redução ou na inibição do crescimento micelial (CAVALCANTI et al., 2005). Em soja, a fitoalexina gliceolina (pterocarpanóide) mostra-se importante na interação dessa leguminosa com fitopatógenos, sendo que a utilização de cotilédones de soja mostrou-se como excelente ferramenta para estudos envolvendo a ação elicitora de moléculas de origem biótica e abiótica (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de produtos a base de fosfitos na ativação de mecanismos de defesa em cotilédones de soja, quanto à capacidade de estimular a produção das enzimas FAL e gliceolina em cotilédones de soja.

METODOLOGIA

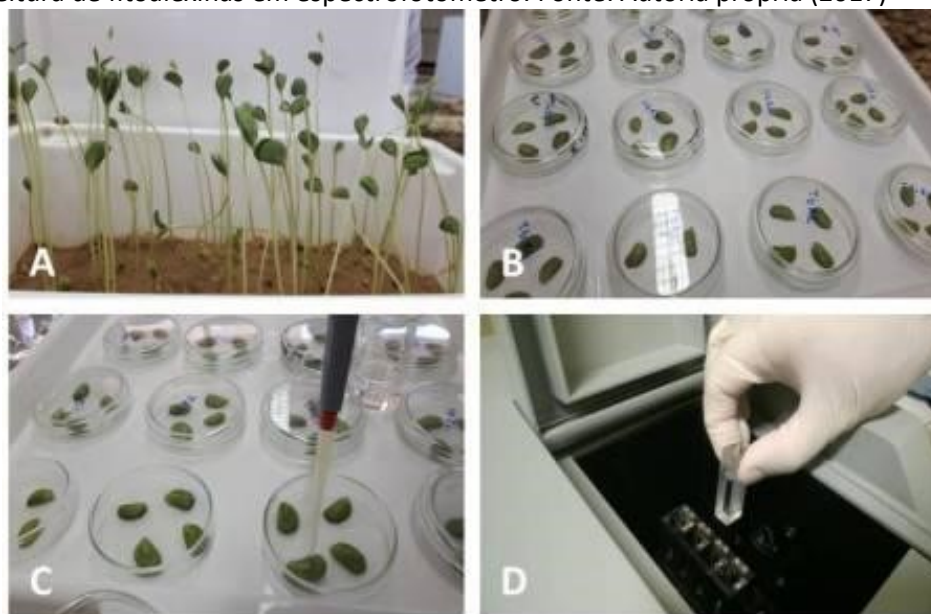
O experimento foi conduzido no ano de 2017, nos Laboratórios de Fitossanidade e Bioquímica da UTFPR, Campus Dois Vizinhos, Paraná (PR).

Sementes de soja foram plantadas em bandeja plástica, contendo areia autoclavada (figura 1A). Após oito dias, os cotilédones das plântulas foram removidos e lavados com água destilada. Os cotilédones foram colocados em

placas de Petri® com disco de papel de filtro umedecido (figura 1B). Na face abaxial, foi aberto um ferimento superficial e sobre este foram depositados 20µL de cada tratamento (figura 1C). O experimento foi conduzido em DIC, com 5 tratamentos e 4 repetições. Os tratamentos foram constituídos de diferentes concentrações de fosfitos (0,002%, 0,003% e 0,004%), indutor de referência (Acibenzolar-S-Metil), e a testemunha água destilada. As placas foram mantidas em BOD, sem fotoperíodo, a 26°C. Após 20 horas, os cotilédones foram retirados das placas e colocados em béqueres de 25 mL contendo 10mL de água destilada e agitados em shaker a 160 rpm (1h), para a extração de gliceolina. A solução foi filtrada em papel de filtro e a absorbância foi determinada em espectrofotômetro a 285nm (figura 1D).

Após conclusão da etapa de determinação da atividade de gliceolina, os mesmos cotilédones foram utilizados para determinação da enzima FAL. As leituras foram obtidas em espectrofotômetro a 290 nm.

Figura 1. Plântulas de soja cultivadas em areia autoclavada; (B) Cotilédones de soja destacados das plântulas, compondo os diferentes tratamentos; (C) Detalhe da deposição de 20µL sobre o ferimento na face abaxial dos cotilédones; (D) Leitura de fitoalexinas em espectrofotômetro. Fonte: Autoria própria (2017)



Para análise dos dados utilizou-se a ferramenta computacional R (TEAM, 2017) versão 3.4.1.

Para verificar os pressupostos do modelo matemático do delineamento experimental, utilizou-se ao nível 5% de significância o teste de Shapiro-Wilk (para a normalidade dos resíduos) e o de Bartlett (para a homogeneidade de variâncias). Na sequência, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e quando significativos, procedeu-se o teste de comparação de médias de Duncan.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias das variáveis respostas estudadas estão discriminadas na tabela 1. A variável 'FAL' não atendeu os pressupostos do modelo matemático do

delineamento experimental, sendo necessária a transformação Box-Cox. Após transformação procedeu-se com a ANOVA. O teste F indicou que não houve diferença significativa entre os tratamentos, embora a atividade enzimática apresentada pelos tratamentos com fosfitos sejam maiores que a dos tratamentos com ASM e a testemunha.

Para a variável 'fitoalexinas', os pressupostos de normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, ao nível de 5% de significância, foram atendidos. O teste F indicou que houve diferença significativa entre as médias dos tratamentos ($p < 0,05$), procedendo-se o teste de comparação de médias de Duncan.

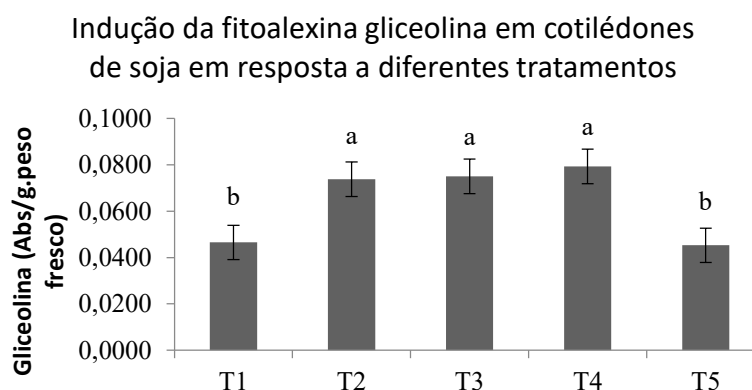
O tratamento fosfito a 0,004% com maior média (0,0793 Abs.g⁻¹ de peso fresco) não diferiu dos tratamentos com fosfito a 0,002% e 0,003%. Entretanto, observou-se que o aumento gradual da concentração de fosfito está correlacionado com a maior atividade de fitoalexinas. Já o tratamento 5 (0,0453 Abs.g⁻¹ de peso fresco) obteve menor média e não diferiu da testemunha (figura 2).

Tabela 1 – Médias das variáveis repostas 'FAL' e 'fitoalexinas' em cotilédones de soja, obtidas em função dos tratamentos. UTFPR- Campus Dois Vizinhos, 2017.

Tratamentos	Variáveis repostas	
	FAL (Abs.mg ⁻¹ de proteína)	Fitoalexinas (Gliceolina) (Abs.g ⁻¹ de peso fresco)
Testemunha	0.0316	0.0465
Fosfito 0,002%	0.0395	0.0738
Fosfito 0,003%	0.0382	0.0750
Fosfito 0,004%	0.0393	0.0793
Acibenzolar-S-metil	0.0326	0.0453

Fonte: Autoria própria (2017).

Figura 2. Indução da fitoalexina gliceolina em cotilédones de soja em resposta a diferentes tratamentos, sendo: T1 – testemunha; T2 – Fosfito 0,002%; T3- Fosfito 0,003%; T4- Fosfito 0,004%, T5 – Acibenzolar-S-Metil(ASM). UTFPR- Campus Dois Vizinhos, 2017.



Fonte: Autoria própria (2017).

CONCLUSÃO

Ao finalizar este estudo, concluímos que o produto a base de fosfito é capaz de induzir a produção da fitoalexina gliceolina em soja, ou seja, apresenta potencial para estimular mecanismos de defesa inerentes à planta.

Induction of resistance phosphite in soybean

ABSTRACT

OBJECTIVE: to evaluate the potential of phosphite based products in the activation of defense mechanisms in soybean cotyledons. **METHODS:** The experiment was conducted in DIC (5x4). The treatments were composed of different concentrations of phosphite (0.002%, 0.003% and 0.004%), reference inducer (Acibenzolar-S-Methyl) and the control distilled water. The cotyledons were treated, incubated and the activity of the enzyme phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and phytoalexins determined by spectrophotometry. **RESULTS:** phosphite had no potential to induce the activity of the phenylalanine ammonia-lyase enzyme, but induced the production of glliceolin, a phytoalexin from soybean. **CONCLUSIONS:** the product based on phosphite is able to induce the production of glycerol in soybean, that is, it has potential to stimulate defense mechanisms inherent to the plant.

KEYWORDS: Glliceolin. Phenylalanine ammonia-lyase. Vegetable defense.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) do CNPq por apoiar a produção científica no país e pela concessão de bolsa de iniciação científica. Ao Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaro pelas orientações e ensinamentos durante esse período.

REFERÊNCIAS

CAVALCANTI, L. S.; BRUNELLI, K. R.; STANGARLIN, J. R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba: FEALQ**, p. 11-28, 2005.

DANIEL, Rosalie; GUEST, David. Defence responses induced by potassium phosphonate in *Phytophthora palmivora*-challenged *Arabidopsis thaliana*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 67, n. 3, p. 194-201, 2006.

EMBRAPA. Agência de Informação Embrapa. [Home page]. Disponível em: <https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos> . Acesso em: 30 jul. 2017.

ESHRAHGI, Leila et al. Phosphite primed defence responses and enhanced expression of defence genes in *Arabidopsis thaliana* infected with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, v. 60, n. 6, p. 1086-1095, 2011.

GERASIMOVA, N. G.; PRIDVOROVA, S. M.; OZERETSKOVSKAYA, O. L. Role of L-phenylalanine ammonia Lyase in the induced resistance and susceptibility of potato plants. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 41, n. 1, p. 103-105, 2005.

KING, Michaela et al. Defining the phosphite-regulated transcriptome of the plant pathogen *Phytophthora cinnamomi*. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 284, n. 6, p. 425-435, 2010.

PREGELJ, Lisette et al. Transcription profiling of the isoflavone phenylpropanoid pathway in soybean in response to *Bradyrhizobium japonicum* inoculation. **Functional Plant Biology**, v. 38, n. 1, p. 13-24, 2011.

SCHWAN-ESTRADA, Kátia Regina Freitas; STANGARLIN, José Renato; CRUZ, Maria Eugênia da Silva. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, v. 30, n. 12, 2000.

TEAM, R Development Core. **The R Project for Statistical Computing**. Vienna, Austria: [s.n.], 2017. Disponível em: <http://www.r-project.org/> . Acesso em: 27 jul 2017.

Recebido: 31 ago. 2017.

Aprovado: 02 out. 2017.

Como citar:

BERTOLDO, E; MAZARO, S. M. Indução de resistência por fosfitos em soja. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA UTFPR, 22., 2017, Londrina. **Anais eletrônicos...** Londrina: UTFPR, 2017. Disponível em: <<https://eventos.utfpr.edu.br/sicite/sicite2017/index>>. Acesso em: XXX.

Correspondência:

Édson Bertoldo

Rua do Comércio, número 1327, Bairro São Francisco de Assis, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil.

Direito autoral:

Este resumo expandido está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição-Não Comercial 4.0 Internacional.

