

RESISTÊNCIA SISTÊMICA INDUZIDA EM *Phaseolus vulgaris* L. POR METIL JASMONATO.

Elvira Maria dos SANTOS¹; Silvana PETROFEZA¹; Marília Barros OLIVEIRA¹; Tomás de Aquino Portes¹ e CASTRO, Murillo Lobo JÚNIOR².

Palavras chaves: feijoeiro, fitormônio, mofo branco.

1. Introdução

O feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma cultura de grande relevância na alimentação da população brasileira sendo importante fonte nutricional de proteínas, carboidratos e ferro (Borém e Carneiro 2006). Porém a espécie é afetada por diversas doenças causadas por vírus, bactérias, fungos e nematóides, incluindo o ascomiceto necrotrófico *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, causador do mofo branco, a doença mais destrutiva em áreas irrigadas do Brasil (Bianchini et al. 2005). Devido à ausência de genótipos de *P. vulgaris* resistentes ao mofo branco e às práticas com fungicidas serem danosas ao ambiente, os estudos sobre os mecanismos moleculares do feijoeiro envolvidos na resposta ao patógeno são necessários e apresentam perspectivas promissoras com o uso indução das defesas latentes das plantas. Uma alternativa para reduzir severidade de doenças causadas por fitopatógenos é a indução de resistência sistêmica adquirida (SAR), um método com potencial a ser aplicado ao feijoeiro comum contra o mofo branco. A SAR pode ser através da aplicação de indutores como os fitormônios jasmonatos, etileno e ácido salicílico (Van Loon & Pieterse, 2006). Dentre os processos de defesa fisiológica em plantas podem ocorrer aumento de atividade de proteínas relacionadas à patogenezidade (PR), explosão oxidativa, acúmulo de fitoalexinas, lignificação e enrijecimento de parede (Durrant & Dong, 2004). Entre as PR, encontram-se hidrolases como as β -1,3-glucanases e quitinases que têm sido relatadas principalmente como inibidoras do crescimento fúngico (Van Loon & Pieterse, 2006). Este estudo teve como objetivo a análise do efeito do regulador metil jasmonato na indução de resistência sistêmica do feijoeiro contra o fungo *S. sclerotiorum*, bem como os efeitos da aplicação exógena do regulador no desenvolvimento da planta.

1. Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil.

2. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio, GO, Brasil. elvira.maria@yahoo.com.br

2. Metodologia

As plantas de feijão c.v. BRS Pérola foram produzidas em vasos contendo 5L de solo devidamente adubado sob luz natural, temperatura de até 20°C e irrigado diariamente em casa de vegetação da Embrapa Arroz e Feijão (Santo Antônio de Goiás, GO). Aos 15, 21, 27 e 32 dias após emergência as folhas das plantas receberam aplicação de exógena do regulador metil jasmonato (MeJA), nas concentrações 1, 10, 50 e 100µM, do Acibenzolar S-methy (ASM) 100mg/L e de água destilada (controle). Para ensaios de atividade de enzimas, plantas no estágio R6 foram inoculadas, 24h após a 4ª aplicação do MeJA, com plugs de micélio em BDA do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* nas axilas sob câmara úmida, conforme método Hunter et al 1981. Os caule foram coletados e imediatamente imersos em nitrogênio líquido e homogeneizados em tampão acetato de sódio (50 mM, pH 5.2) e centrifugado a 20000g por 25min a 4°C, o sobrenadante foi utilizado para quantificação de proteínas totais e ensaios de atividade específica das enzimas: β-1,3-glucanase pelo método DNS (Miller 1959); Peroxidase método Lusso e Pascholati 1999; N-acetilglucosaminidase pelo método Ulhoa e Peberdy 1999; e Fenilalanina amônia-liase (FAL) pelo método Pascholati et al 1986. A análise da atividade específica das enzimas citadas acima foi realizada nos extratos de tecido do caule após 12, 24, 48 e 72h de inoculação do micélio do fungo nas plantas tratadas com 0 µM (controle), 10µM, 50µM 100µM de MeJA. Para avaliar a resistência fisiológica foi utilizado o método de inóculo em folhas, tratadas com os indutores químicos, e destacadas conforme Steadman et al. (1997), as lesões macroscópicas após 48h de inoculação foram fotografadas por câmara digital Sony e o tamanho das áreas de lesões foram medidas pelo software AFSoft (Embrapa Instrumentação Agropecuária). Para avaliar o efeito do MeJA e do ASM na fisiologia e desenvolvimento do feijoeiro foram coletados durante o estágio R6 dados de área foliar, clorofila, comprimento do caule, desenvolvimento de flores, matéria seca da parte aérea, composição de nitrogênio total da parte aérea, volume e massa seca da raiz. Os dados consistiram de 06 tratamentos com 18 plantas cada. Foi ainda medido o número de flores, vagens, sementes e viabilidade de germinação das sementes das plantas tratadas. A área foliar foi medida com clorofilômetro chorophyll modelo CFL-1030 Flake e a determinação da área foliar foi com medidor Area Meter modelo LI3100. Para análise da composição de nitrogênio total utilizou-se o método Kejdahl. A análise de variância (ANOVA) e a comparação das médias

dos tratamentos foram pelo teste de Tukey a nível de significância a 1% ou a 5% de probabilidade; a análise de regressão foram utilizando o programa estatístico ASSISTAT 2010 versão 7,5 beta.

3. Resultados e discussão

O ácido jasmônico e o seu ester metil jasmonato são moléculas de sinalização envolvidas em vários processos fisiológicos das plantas incluindo florescimento, desenvolvimento de fruto, acúmulo de metabolismo secundário e resposta a estresse biótico e abiótico (Devoto & Turner 2003). A indução de SAR no feijoeiro tratado com as diferentes concentrações do MeJA nas folhas pode ser observada a partir dos resultados das atividades das enzimas β -1,3Glucanases, Peroxidases (POX), N-Acetilbeta-D-Glucosaminidase (NAGase) e Fenilalanina amônia-liase (PAL) na Figura 1. Em todos os ensaios, os dados obtidos da atividade de todas as enzimas em caule inoculados pelo fungo foram significativamente maiores quando comparado ao caule de plantas sem indutor químico e sem inóculo. A atividade específica da enzima β -1,3Glucanase foi maior no caule tratado com 10 μ M de MeJA com pico em 24h após inoculação. As atividades de POX apresentaram variações significativas, o período de 24h de inoculação com o fungo apresentou maior atividade de POX em todas as plantas tratadas com diferentes concentrações do MeJA. A enzima NAGase apresentou aumento de atividade em todas plantas 24h após inoculação, e no grupo tratado com 50 μ M o aumento da atividade da enzima foi mais evidente. Houve um evidente aumento na atividade da FAL 24h após inoculação com o fungo, em todas as plantas tratadas com MeJA. As plantas sem aplicação do regulador apresentou indução tardia em 72h de inoculação. Os dados indicam que há indução da atividade de PAL logo no início da infecção nas plantas tratadas com MeJA. A enzima FAL é essencial na síntese de metabólitos secundários como fitoalexinas e lignina, importantes na resposta da planta a estresses e doenças (Gómez-Vásquez et al 2004). O efeito do MeJA na resistência fisiológica a partir de folhas destacadas apresentou um menor desenvolvimento lesão, nos períodos de 24 e 48h após inoculação comparado às plantas sem o indutor químico. O MeJA está envolvido na respostas de resistência contra patógenos necrotróficos como *Botrytis cinérea* (Thomma et al. 1998). O Efeito das diferentes concentrações de MeJA no desenvolvimento do feijão sem o patógeno apresentou variações. As plantas apresentaram área foliar reduzida com a aplicação

de 0 μ M 1 μ M, 100 μ M de MeJA e ASM. O teor de clorofila total foi reduzido em todas as plantas que receberam a aplicação exógena do MeJA comparado ao grupo de plantas controle. Houve uma relação inversamente proporcional entre concentração de metil jasmonato e teor de clorofila nas folhas.

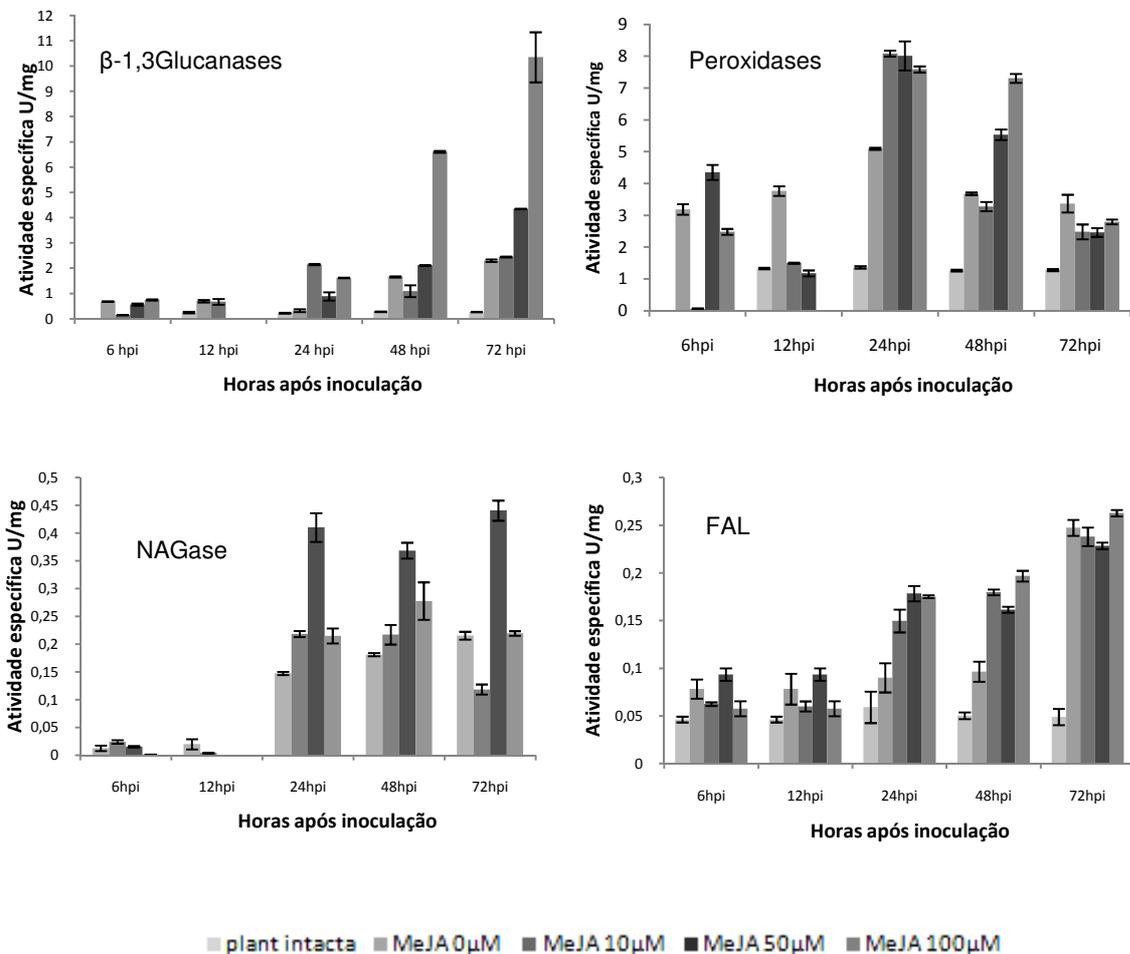


Figura1. Atividades Enzimáticas de β -1,3Glucanases, Peroxidase N-Acetilglucosaminidase e Fenilalanina amônia-liase do caule do feijoeiro após tratamento com diferentes concentrações de MeJA e inoculação pelo fungo *S sclerotiorum*. Os dados de cada tratamento representam a média com desvio padrão de três replicatas cada uma consistindo de um pool de 5 plantas.

O desenvolvimento da parte aérea foi menor nas plantas que receberam 100 μ M de MeJA e 100mg/L de ASM. A quantidade de nitrogênio total nas plantas tratadas com indutores foi alterada, houve um aumento nas plantas tratadas com MeJA e de ASM. A raiz das plantas tratadas com MeJA apresentaram redução da massa seca e do volume radicular. A raiz do feijoeiro apresentou redução em função das diferentes concentrações do metil jasmonato. A produção de flores e vagens não foi alterada, contudo o número de sementes por vagem foi menor nas plantas tratadas que receberam MeJA nas concentrações 50 e 100 μ M. As plantas tratadas com o ASM

apresentaram reduzido número de sementes por vagem e da massa das sementes. A germinação das sementes geradas de plantas tratadas com MeJA não foi afetada, contudo para as sementes oriundas de plantas tratadas com o indutor ASM a porcentagem de germinação das sementes apresentou pequena redução.

4. Conclusões

Na busca de alternativa para o combate à doença o regulador MeJA pode auxiliar a compreensão dos mecanismos de defesa do feijoeiro contra o mofo branco. Os dados sugerem que o fitormônio vegetal pode induzir resistência em feijoeiro ao mofo branco, além disto, a aplicação exógena em baixa concentração, não afeta a reprodução da leguminosa.

5. Referências Bibliográficas

Bianchini, A. *et al* (2005) Doenças do feijoeiro In: Kimati, H. *et al* (Ed) *Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas*. São Paulo: Editora Agronômica Ceres v5 p 333-349.

Borém, A. e Carneiro, J.E.S. (2006) A cultura. In: Vieira,C., Paula Júnior, T.J., Borém, A. *Feijão Viçosa/MG* editora UFV p13-18.

Devoto A, Turner JG (2003) Regulation of jasmonate-mediated plant response in *Arabidopsis*. *Annals Bot* 92: 329–337.

Durrant, W.E. and Dong, X. 2004. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42:185–209

Gomez-Vasquez, G. Day, R. Buschmann, H. Randles, S. Beeching, J. R. and Cooper, R. M. (2004) Phenylpropanoids, Phenylalanine Ammonia Lyase and Peroxidases in Elicitor-Challenged Cassava (*Manihot Esculenta*) Suspension Cells and Leaves. *Annals of Botany* 94: 87- 97.

Thomma BPHJ *et al* (1998) Separate jasmonate-dependent and salicylate-dependent defense-response pathways in *Arabidopsis* are essential for resistance to distinct microbial pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 15107-15111

Ulhoa CJ & Peberdy JF (1993) Effect of carbon sources on chitobiose production by *Trichoderma harzianum*. *Mycology Res.* 97: 45–48.

Van Loon LC, Rep M, Pieterse CMJ. 2006. Significance of inducible defence-related proteins in infected plants. *Annual Review of Phytopathology* 44, 135–162.