

TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS E CRESCIMENTO RADICULAR EM SOJA (*Glycine max* (L.) Merr.) INOCULADA COM AS BACTÉRIAS ENDOFÍTICA E EPIFÍTICA E SUA EXPOSIÇÃO À FERRUGEM

ULI Q. MELLO¹; ROSA T.S. FRIGHETTO²; PEDRO J. VALARINI³

Nº0902019

Resumo

Os compostos fenólicos são formados no metabolismo secundário dos vegetais e estão envolvidos no mecanismo de defesa. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito dos isolados 0G e EN78 na produção de fenólicos totais na soja, frente à exposição à ferrugem da soja (*Phakospora pachyrhizi*), e no crescimento radicular. O isolado EN78 induziu um aumento no teor de fenólicos totais quando exposto à ferrugem, mesmo antes da manifestação do sintoma. Esse mesmo isolado apresentou eficiência simbiótica com o Biorhizo 10 (*Bradyrhizobium elkanii* e *japonicum*), promovendo o desenvolvimento radicular, enquanto que o isolado 0G não influiu no teor de fenólicos totais, mas induziu aumento da biomassa radicular.

Abstract

Phenolics are formed in secondary metabolism of plants and are involved in defense mechanism. The objective of this work was to evaluate the effect of inoculation of isolates 0G and EN78 on total phenolics in soybean plant, exposed to *Phakospora pachyrhizi*, and root grows. The isolate EN78 promoted increasing in total phenolics content in soybean plant when exposed to the pathogen, at the early stage of plant development. The same isolate presents symbiotic efficiency with Biorhizo 10 (*Bradyrhizobium elkanii* e *japonicum*), promoting root development, while the isolate 0G did not affected the total phenolics content, but it increased the root biomass.

¹ Bolsista Embrapa: Graduação em Ciências Biológicas, PUC, Campinas-SP, uliquirino@yahoo.com.br

² Orientadora: Pesquisadora, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP

³ Colaborador: Pesquisador, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP

Introdução

Os compostos fenólicos são formados no metabolismo secundário dos vegetais e possuem funções de autodefesa contra agentes infecciosos provocados por pragas e doenças. Já em animais e humanos, tem-se observado que são capazes de combater radicais livres, formando radicais estáveis. Esse poder de neutralização apresentado pelos compostos fenólicos é devido à sua estrutura química formada por pelo menos um anel aromático com grupamentos hidroxilas (GIADA & MANCINI-FILHO, 2006).

Sobral (2003) isolou de dois cultivares de soja, Foscarin (ciclo precoce) e Cristalina (ciclo tardio), bactérias endofíticas e epifíticas, em materiais coletados nos estádios: vegetativo (V6), florescimento (R2) e maturação (R6) do ciclo vegetativo. Várias destas bactérias endofíticas e epifíticas demonstraram capacidade de fixar nitrogênio e, ao mesmo tempo, solubilizar fosfato em meio artificial, entre as quais foram identificadas as linhagens *Bacillus subtilis* (0G) e *Enterobacter agglomerans* (EN78), que demonstraram eficiência tanto na promoção da emergência quanto nas atividades enzimáticas, quando testadas com a soja IAC-23 (LOTTO & VALARINI, 2005).

Estudos têm mostrado que a linhagem *Rhizobium leguminosarum* Frank bv. *viceae* é eficiente na redução da incidência de tombamento por *Pythium* na produção de ervilha e beterraba (Bardin et al., 2004). Porém, os estudos não determinaram os efeitos do tratamento das sementes no crescimento das plantas e produção de compostos envolvidos no mecanismo da defesa. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito dos isolados 0G e EN78 na produção de fenólicos totais na soja, frente à exposição à ferrugem da soja (*Phakospora pachyrhizi*), e no crescimento radicular.

Material e Métodos

O experimento de soja foi conduzido em casa-de-vegetação da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna - SP, Brasil. Envolveu o crescimento da soja cultivar Conquista (5 por vaso), em 3 repetições por tratamento, com e sem exposição às plantas infectadas com o agente causal da ferrugem asiática crescendo no mesmo local, com os seguintes tratamentos: H₂O (testemunha); H₂O mais o inoculante comercial Biorhizo 10 (*Bradyrhizobium elkanii* e *japonicum*); bactéria 0G; bactéria 0G mais Biorhizo; bactéria EN78 e bactéria EN78 mais Biorhizo. As bactérias foram crescidas em meio BD por 48 horas. As sementes foram desinfestadas com álcool 70% por 30 segundos,

hipoclorito 1% por 3 minutos e 3 vezes em água destilada. As sementes foram imersas por 40 minutos no meio fermentado contendo as respectivas bactérias. O inoculante Biorhizo foi utilizado como testemunha, segundo a indicação do fornecedor, ou seja, 300 mL para 5 Kg de semente. Para análise de fenólicos totais (FT), as folhas localizadas no primeiro terço das plantas foram coletadas aos 30 dias após o plantio (DAP) e 45 DAP, e as raízes aos 60 DAP. As amostras foram maceradas em nitrogênio líquido assim que foram coletadas. Pesou-se $0,200 \pm 0,001$ g de cada amostra, misturou-se com 5 mL da solução metanol-água (80:20 v/v), em vórtex por 30 segundos, e separou-se o sobrenadante para um tubo de ensaio (3x5 mL). Filtrou-se 1 mL do extrato em membrana de $0,45 \mu\text{m}$. Tomou-se uma alíquota de 100 μL do extrato, acrescentou-se 7,9 mL de água destilada, seguida de 500 μL de solução Folin Ciocautau e homogeneizada em vórtex por 25 segundos e, após 1 minuto, acrescentou-se 1,5 mL de solução aquosa de carbonato de sódio 20%, mantendo-se por 2 horas em repouso. Procedeu-se a leitura no espectrofotômetro a 765 nm. Como padrão, utilizou-se uma solução aquosa de ácido gálico nas concentrações de 1, 3, 5, 10 e 20 $\mu\text{g/mL}$. O resultado é expresso em equivalência de ácido gálico.

Resultados e Discussão

Os isolados EN78, que produz auxina, solubiliza fosfato e fixa nitrogênio (SOBRAL, 2003), bem como o 0G promoveram aumento no peso dos tecidos radiculares, contudo não promoveram aumento da parte aérea das plântulas analisadas. Em conjunto com o inoculante Biorhizo, ambos os isolados promoveram aumento da biomassa radicular (eficiência simbiótica) (Figura 1), fato que pode contribuir na eficiência da absorção de nutrientes pelas plantas.

Na avaliação aos 30 DAP, foi possível verificar o efeito da bactéria EN78 no teor de FT quando expostos à ferrugem (*P. pachyrhizi*), antes mesmo da manifestação do sintoma da ferrugem nas folhas. Os mesmos tratamentos, sem exposição à ferrugem, produziram fenólicos totais em concentração menor (Figura 2). O isolado EN78 induziu a produção de fenólicos totais de forma precoce quando a planta foi exposta à presença de ferrugem.



FIGURA 1. Raízes da soja nos tratamentos H₂O (testemunha 1); H₂O+ Biorhizo (testemunha 2); 0G; 0G+Biorhizo; EN78 e EN78+Biorhizo.

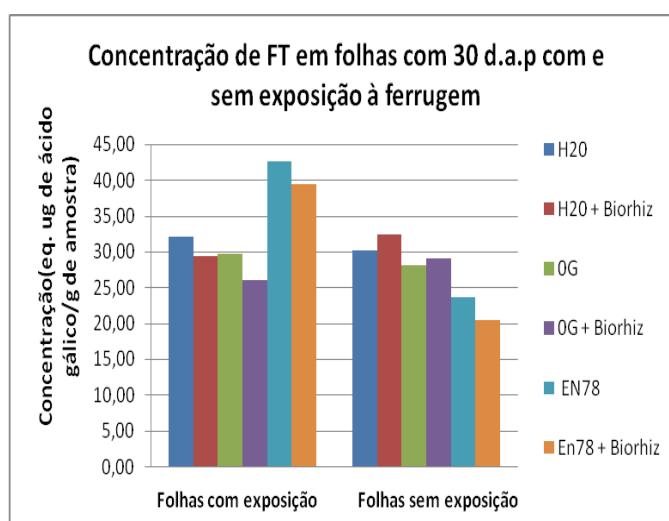


FIGURA. 2. Avaliação de FT (fenólicos totais) nas folhas da soja, com e sem exposição à ferrugem, aos 30 DAP (dias após plantio).

Aos 45 DAP, o teor de fenólicos totais nos tratamentos com o isolado EN78, com ou sem exposição à ferrugem, manteve-se constante, ao passo que nas testemunhas e no tratamento com o isolado 0G os teores foram maiores (Figura 3). Essa avaliação coincidiu com o estágio de florescimento da planta, período considerado de maior suscetibilidade ao estabelecimento da ferrugem.

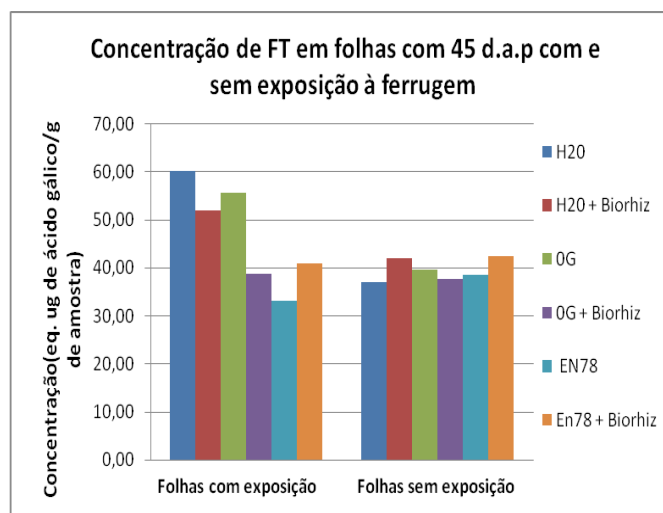


FIGURA 3. Avaliação de FT (fenólicos totais) nas folhas da soja, com e sem exposição à ferrugem, aos 45 DAP (dias após plantio).

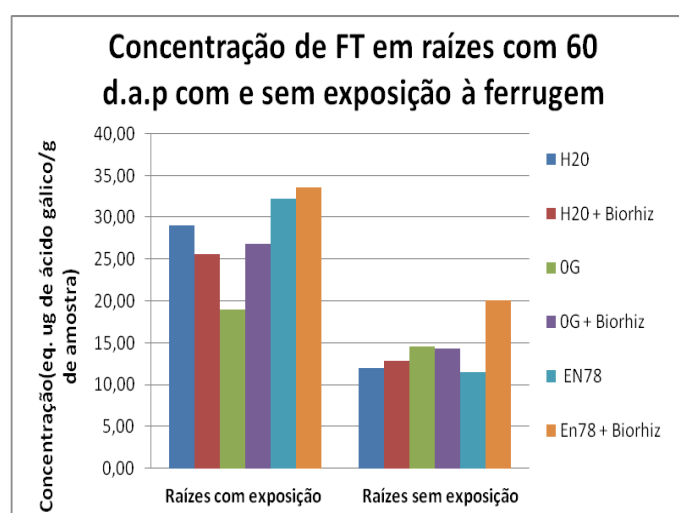


FIGURA 4. Avaliação de FT (fenólicos totais) nas raízes da soja, com e sem exposição à ferrugem, aos 60 DAP (dias após plantio)

Nas raízes (60 DAP), em plantas expostas à ferrugem, o efeito da bactéria EN78 também foi evidente pelo aumento da biomassa radicular e no teor de fenólicos totais (Figura 4).

Conclusão

O isolado EN78 induziu um aumento no teor de fenólicos totais nas folhas quando o cultivar de soja Conquista foi exposto à ferrugem, mesmo antes da manifestação do sintoma. Esse mesmo isolado apresentou eficiência simbiótica com o Biorhizo 10 (*B. elkanii* e *japonicum*), promovendo o desenvolvimento radicular, enquanto que o isolado 0G não influenciou no teor de fenólicos totais, porém promoveu o desenvolvimento radicular.

Agradecimentos

Projeto foi executado com o apoio financeiro do MP-2 da Embrapa; Mello, U.Q. agradece a Embrapa Meio Ambiente pela bolsa de IC.

Referências Bibliográficas

BALDIN, S.D.; HUANG, H.C.; PINTO, J.; AMUNDSEN, E.J.; ERICKSON, R.S. Biological control of *Pythium* damping-off of pea and sugar beet by *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae*. **Canadian Journal of Botany** v.82, p. 291-296, 2004.

GIADA, M. L. R.; MANCINI FILHO, J. Importância dos compostos fenólicos da dieta na promoção da saúde humana. **Publicatio UEPG Ciencias Biologicas e da Saude**, v. 12, n. 4, p. 7-15, 2006.

LOTTO, M. C.; VALARINI, P. J. Potencial de bactérias endofíticas na produção de enzimas hidrolíticas e promotoras de emergência de plântulas de soja. In: XXXIV semana de Estudos da Faculdade de Ciências Biológicas-Centro de Ciências da Vida-PUC-Campinas, 2005; Campinas, 2005.

SOBRAL, J. K. A comunidade bacteriana endofítica e epifítica de soja (*Glycine max*) e estudo da interação endófitos-planta. Tese de doutorado apresentado na Esalq, USP, 2003, 174p.