

# IMPORTÂNCIA DA LUZ NA APLICAÇÃO DE INDUTOR DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS DE CEVADA CONTRA *Bipolaris sorokiniana*

Fernando Siqueira Martins\*  
Giancarlo Patricio\*\*  
Erna Elisabeth Bach\*\*\*

**RESUMO:** A cevada (*Hordeum vulgare*) tem sido utilizada como alimentos e na produção de malte para indústria cervejeira. A doença mais comum que ataca as plantas no campo tem sido a mancha foliar causada por *Bipolaris sorokiniana*, causando prejuízos ao agricultor. Para o controle destas doenças, o mais utilizado é o tratamento com fungicidas, podendo provocar riscos para o meio ambiente e para a saúde do homem. Visando eliminar estes inconvenientes, um dos métodos preconizados é o da utilização de indutores de resistência. A goma xantana foi demonstrada ser um indutor de resistência perante plantas de trigo, café e cevada. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o seu efeito em diferentes comprimentos de onda de luz sobre plantas de cevada. Isto porque, no campo, nem sempre existe a luz total sobre a planta, podendo haver dias nublados ou com pouca luz. Assim, foram preparados grupos de plantas submetidas à pulverização com conídios do fungo, outro grupo com goma xantana e conídios do fungo e outro grupo somente plantas sadias. Após 4 dias foi avaliada a proteção nas plantas e, as folhas submetidas a extração e análise de proteínas, fenóis e clorofila. Os resultados demonstraram proteção, variando de 93 a 99,5% e com aumento de proteínas e diminuição de fenóis nas plantas tratadas com GX-conídios. Ao correlacionar a proteção induzida com a clorofila total, foi possível observar que, em todos os comprimentos de onda de luz, a goma xantana demonstrou ação. Isto veio demonstrar que a goma xantana possui ação como indutor em qualquer comprimento de onda de luz.

---

\* Discente do Curso de Biologia e Bolsista de Iniciação Científica na Universidade Nove de Julho – UNINOVE.  
E-mail: fesmartins@gmail.com

\*\* Discente do Curso de Biomedicina da Universidade Nove de Julho – UNINOVE. E-mail: trombongian@hotmail.com

\*\*\* Docente Doutora e Pesquisadora do Núcleo de Biotecnologia na Universidade Nove de Julho – UNINOVE.  
E-mail: ebach@uninove.br

**PALAVRAS-CHAVE:** Cevada; *Bipolaris sorokiniana*; Comprimento de Luz; Goma Xantana.

## **THE IMPORTANCE OF LIGHT ON THE APPLICATION OF RESISTANCE INDUCTOR IN BARLEY AGAINST *Bipolaris sorokiniana***

**ABSTRACT:** Barley (*Hordeum vulgare*) has been used not only as food, but in the production of malt for the brewing industry. The most common disease that attacks the plants is the blight caused by *Bipolaris sorokiniana* with heavy losses for farmers. Fungicides have been used to control the disease although they damage the environment and human health. One of the suggested methods is the employment of resistance inducers to eliminate these drawbacks. Xanthan gum has proved to be a resistance inducer in plants such as wheat, barley and coffee shrubs. Current analysis evaluates the effect of different light wavelengths on barley plants, since total light is not always reflected on plants in the field, beside the occurrence of cloudy days. Fungus conidia were sprayed on groups of plants; another group was treated with xanthan gum and fungus conidia; yet another group was made up only of healthy plants. The percentage of protection was evaluated after 4 days and leaves underwent extraction and analysis for proteins, phenols and chlorophyll. Results demonstrated protection varying from 93 to 99.5%, with increased protein and decrease of phenols in plants treated with GX-conidia. Results revealed a 93 to 99.5% protection, coupled to an increase of protein and a decrease of phenols in GX-conidia-treated plants. When induced protection and total chlorophyll were correlated, xanthan gum demonstrated activity in all light wavelengths. Xanthan gum has an induction activity in any light wavelength.

**KEYWORDS:** Barley; *Bipolaris sorokiniana*; Light Wavelengths; Xanthan Gum.

### **INTRODUÇÃO**

A cevada (*Hordeum vulgare*) tem sido um dos cereais mais produzidos no mundo, graças à sua grande adaptabilidade ambiental, e é utilizada como alimentos

e na produção de malte para indústria cervejeira (TONON, 1992). No campo, existem várias doenças causadas por fungos, como *Puccinia hordei*, *Blumeria graminis hordei*, *Drechslera teres*, *Fusarium graminearum*, *Bipolaris sorokiniana* entre outros. De acordo com Minella (2001) o fungo *Bipolaris sorokiniana* é o causador de uma das mais sérias doenças da cultura de cevada, causando manchas foliares.

Para o combate das doenças da cevada, o uso de fungicidas tem sido uma medida bastante utilizada pelos agricultores, contudo os riscos de contaminação ambiental são bastante conhecidos e difundidos, tanto na literatura científica quanto na literatura de divulgação em geral. Uma das alternativas para o combate das doenças tem sido a indução de resistência, que pode ser definida como a habilidade da planta em prevenir ou restringir o desenvolvimento e a consequente multiplicação do patógeno mediante uso de elicitores (KUC, 1987; 2001).

A indução tem sido correlacionada com mudança no metabolismo da planta como aumento das proteínas relacionadas à resistência (beta-1,3-glucanase) ou enzima do tipo quitinase, além de outras proteínas e, outras macromoléculas (BACH, 1997; BACH; BARROS; KIMATI, 2003; CASTRO; BACH, 2004; MUTHUKRISHNAN et al., 2001). Segundo Castro e Bach (2004), a goma xantana comercial apresentou-se como indutor em plantas de cevada quando inoculadas com o fungo *Bipolaris sorokiniana*, sendo também observado que as plantas apresentavam-se mais verdes. No caso de plantas de trigo quando tratadas com goma xantana, foi observado presença de maior quantidade de clorofila em todos os comprimentos de onda de luz (BACH, 1997).

O objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito do indutor (goma xantana) após a interação planta – patógeno em relação ao conteúdo da clorofila quando as plantas de cevada são submetidas a diferentes exposições de luz com diversos comprimentos de onda.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Sementes de plantas de cevada (variedade Elis) recebidas da Fundação Guaparuava, PR., foram transferidas para vasos contendo terra estéril e adubada. Na composição do substrato foram utilizadas uma parte de solo vermelho, e uma parte de terra vegetal adubada com NPK (na formulação 10-10-10).

Após o início da germinação foram colocados celofanes nas plantas e mantidos até a planta apresentar o estágio 5 da escala de Feekes-Large (LARGE, 1954).

Os vasos foram separados em 15 tratamentos, contendo 5 vasos em cada, sendo: tratamento 1, 2, 3, 4, 5: grupo de plantas sadias colocadas à luz total da casa-de-vegetação, celofane vermelho, celofane azul, celofane amarelo, celofane

verde respectivamente; tratamento 6,7,8,9,10: grupo de plantas pulverizadas com suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana* e colocadas à luz total da casa-de-vegetação, celofane vermelho, celofane azul, celofane amarelo, celofane verde respectivamente; tratamento 11,12,13,14,15: grupo de plantas tratadas com goma xantana e após 72 horas pulverizadas com suspensão de conídios de *Bipolaris sorokiniana* (concentração de  $10^5$  conídios / mL de água com Tween 20 e aplicadas com o auxílio de um pulverizador) e colocadas à luz total da casa-de-vegetação, celofane vermelho, celofane azul, celofane amarelo, celofane verde respectivamente. Após os tratamentos, as plantas foram incubadas em câmara úmida (100% UR), em temperatura ambiente e no escuro por 24 horas. Em seguida, o material foi transferido para casa-de-vegetação e recolocadas nos celofanes correspondentes até o aparecimento de lesões. A proteção das plantas foi avaliada pela contagem de folhas infectadas sendo depois coletadas estas folhas e submetidas a extrações e testes.

Um grama das folhas foi triturada em tampão fosfato pH 7,0, 1M, mantido em geladeira por uma hora e filtrado. Com o filtrado foi realizado a quantificação de proteínas (LOWRY et al., 1951) e fenóis (SWAIN; HILLIS, 1959).

A extração e a determinação do conteúdo de clorofila foram baseadas no método descrito por Jeffrey e Humphrey (1975), onde 1 g de folha foi triturada em presença de 10mL de acetona e efetuando-se a medida imediatamente no espectrofotômetro Fenton em 652 nm, e o cálculo realizado como  $A_{652}/34,5 \times \text{volume/peso}$ , resultando na concentração de clorofila expressa como mg/mL/gPF como citado por Arnon, Allen e Whatley (1954).

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O isolado de *Bipolaris sorokiniana* do campo apresentou lesões nas folhas de plantas de cevada conhecidas como mancha marrom e estando de acordo com Picinini e Fernandes (2001) e Moura (1987).

Para a determinação da quantidade de luz, primeiramente o luxímetro foi padronizado com filtros especiais. O mesmo aparelho foi utilizado para medir a quantidade de luz que a planta recebia através dos celofanes de diferentes cores observando-se que a quantidade de luz só era maior quando a luz era totalmente incidida, isto é, com todos os comprimentos de luz (Tabela 1).

Para o controle de manchas foliares tem sido enfatizado o uso de indutores de resistência, ao invés de uso de fungicida, que vem contaminando o meio ambiente (KUC, 1987; 2001). No presente trabalho foi utilizada a goma xantana já avaliada como indutor de resistência e publicado por Castro e Bach (2004). O

efeito de proteção foi avaliado em torno de 99,4%.

**Tabela 1** Medida de luminosidade através dos celofanes em plantas mantidas em casa-de-vegetação incidida com luz solar ou luz total com fotoperíodo de 14 horas.

Cor dos celofanes / comprimento de onda	Quantidade de luz através dos celofanes *
Amarelo / 550nm	1718
Vermelho / 730nm	1345
Verde / 500nm	1441
Azul / 430nm	1248
Luz total	8346

\* lux/dia= média lux medido durante o período de 15 dias onde em todos apresentou dias ensolarados (mês de janeiro/ fevereiro).

A goma xantana tem sido extraída de cápsulas bacterianas do tipo *Xanthomonas*, apresentando alta concentração de açúcares e traços de proteínas sendo conhecidas como exopolissacarídeos (EPS). A goma xantana utilizada no trabalho foi a comercial (Keltrol F- Firma Kelco, USA) na concentração de 0,5 mg de pó/mL que consistiu em 120 mg/mL de glicose. A aplicação da goma xantana foi demonstrada por Guzzo e Bach (1993) onde na interação café- *Hemileia vastatrix* *Hemileia vastatrix* obtiveram 70% de proteção. O mesmo foi observado pelos autores utilizando a goma xantana comercial (Keltrol F) apresentando tanto efeito local quanto sistêmico. Bach (1997) e Bach, Barros e Kimati (2003) demonstraram que a goma xantana foi importante como indutor de resistência na interação de trigo-*Bipolaris bicolor*, *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera tritici-repentis* com proteção de 90%. Castro e Bach (2004) observaram 94% de proteção em plantas de cevada, no intervalo de tempo acima de 48horas utilizando *Bipolaris sorokiniana* como patógeno e goma xantana (Keltrol-F) como indutor. Assim, no presente trabalho foi utilizado o tratamento com intervalo de tempo de 72horas.

Assim, todas as plantas dos tratamentos com goma xantana e patógeno, grupos somente com patógeno e grupo de plantas sadias foram colocadas com celofane a fim de observar o efeito do comprimento de luz sobre as folhas submetidas aos diferentes tratamentos. Após o aparecimento das lesões, as lesões foram contadas e calculadas a porcentagem de proteção das plantas (Tabela 2). A porcentagem de proteção avaliada nos grupos de plantas demonstra que o indutor tem efeito protetivo dependente de faixa de luz incidida sobre as plantas (Tabela 1). A porcentagem de proteção variou de 93 a 97% confirmando o observado

por Castro e Bach (2004), além do trabalho em campo experimental descrito por Antoniazzi, Deschamps e Bach (2008).

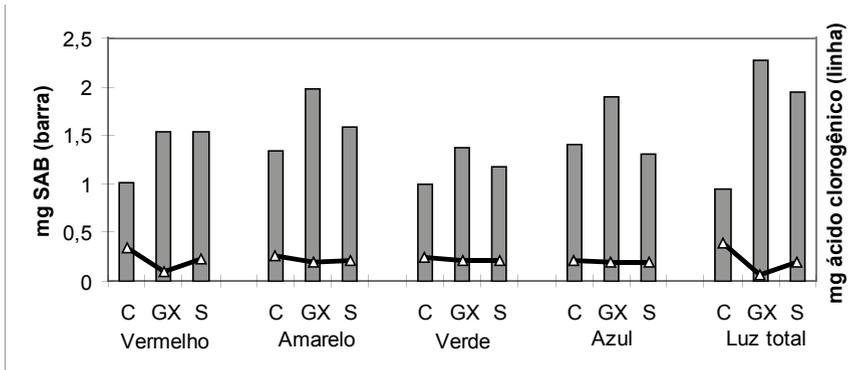
Nos resultados obtidos no presente trabalho foi interessante observar que a luz total apresentou a maior porcentagem de proteção com 99,5%, enquanto as faixas de luz do verde e azul apresentaram uma proteção de 95,8%, diminuindo apenas do vermelho para amarelo (Tabela 2).

**Tabela 2** Porcentagem de proteção em folhas de plantas de cevada variedade Elis contra o isolado *Bipolaris sorokiniana*, utilizando goma xantana como indutor.

Tratamentos*	Cor do celofane	% de proteção
C	vermelha	0 a
GX	vermelha	94,4 b
C	amarela	10,8 a
GX	amarela	93,7 b
C	verde	11,2 a
GX	verde	95,8 b
C	azul	12 a
GX	azul	95,8 b
C	luz total	3 a
GX	luz total	99,5 b

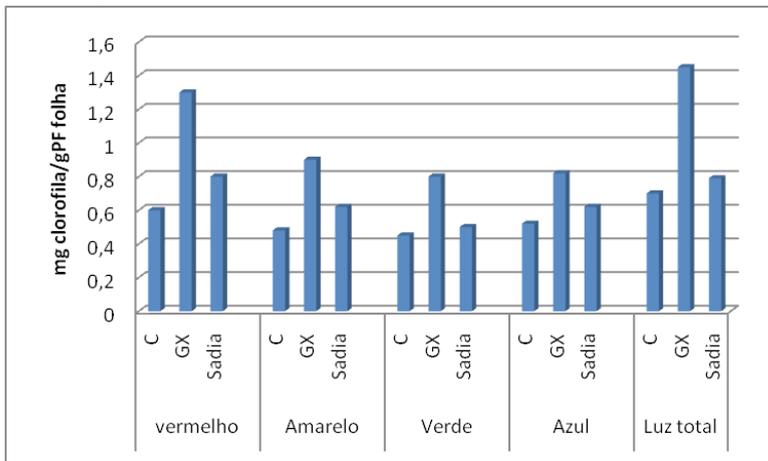
\*Tratamentos: C= grupo controle recebendo água e patógeno; GX= grupo de plantas recebendo goma xantana e após 72 horas pulverizado o patógeno. Resultados entre C e GX com diferença significativa, dentro de cada cor.

As folhas, após extração, foram submetidas à quantificação de proteínas e fenóis onde plantas tratadas com goma xantana apresentaram na luz total a maior quantidade de proteína, enquanto nos outros comprimentos de onda a concentração também foi superior quando comparadas com plantas controles (infectadas) e sadias. Já em relação aos fenóis, as plantas tratadas com goma xantana apresentaram menor concentração do que nos outros tratamentos (Figura 1).



**Figura 1** Quantidade de proteínas e fenóis das plantas de cevada submetidas aos tratamentos com goma xantana (GX), sádias (S) e pulverizadas com patógeno (C). As cores dos celofanes estão indicadas abaixo.

A quantificação de clorofila total vem ao encontro com o observado, pois plantas tratadas com goma xantana permaneceram mais verdes do que as infectadas e as sádias. Entretanto, pode-se observar que, em todos os comprimentos de onda, a quantidade de clorofila total foi maior na luz total do que nos outros comprimentos de onda de luz (Figura 2), indicando que na luz total a planta reage com mais clorofila e maior resistência contra o fungo, não desmerecendo os outros comprimentos de luz, que também reagem com resistência.



**Figura 2** Quantificação de clorofila total das plantas de cevada submetidas aos tratamentos com goma xantana (GX- plantas tratadas com goma e pulverizadas o fungo), sádias (com goma xantana) e pulverizadas com patógeno (C). As cores dos celofanes indicadas foram vermelho, amarelo, azul, verde e luz total.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Segundo Wilson (1982), o princípio básico da produção de plantas tem sido a transformação da energia solar em compostos orgânicos. Assim, os resultados do presente trabalho vieram demonstrar que a luminosidade no campo incidindo sobre a planta e esta tratada com o indutor (goma), demonstrou formação de compostos traduzindo em clorofila, mais proteínas e menos fenóis. Assim, a luz total foi importante para a maior transformação da energia solar em compostos orgânicos, promovendo maior energia nas plantas, mais compostos orgânicos e maior indução de proteção contra o fungo *Bipolaris sorokiniana*. Diante disto, conclui-se que a goma xantana pode ser aplicada no campo, sem prejudicar o meio ambiente e sob qualquer luminosidade traduzindo em resposta de resistência.

#### REFERÊNCIAS

ANTONIAZZI, N.; DESCHAMPS, C.; BACH, E. E. Effect of xanthan gum and allicin as elicitors against *Bipolaris sorokiniana* on barley in field Experiments. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 115, n. 3, p. 104–107, 2008.

ARNON, D. I.; ALLEN, M. B.; WHATLEY, F. R. Photosynthesis by isolated chloroplasts. **Nature**, v. 174, p. 394-396, 1954.

BACH, E. E. **Distinção morfológica e isoenzimática de *Bipolaris* spp. e *Drechslera tritici-repentis* do trigo; aspectos bioquímicos nas interações e indução de resistência.** 1997. 150f. Tese (Doutorado em agronomia) - Escola de Agronomia “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1997.

BACH, E. E.; BARROS, B. C.; KIMATI, H. Induced resistance against *Bipolaris bicolor*, *Bipolaris sorokiniana* and *Drechslera tritici-repentis* in wheat leaves by xanthan gum and heat-inactivate conidia suspension. **Journal of Phytopathology**, v. 151, p. 411-418, 2003.

CASTRO, O.; BACH, E. E. Increased production of b-1,3 glucanase and proteins in *Bipolaris sorokiniana* pathosystems treated using commercial xanthan gum. **Plant physiology and biochemistry**, França, v. 42, p. 165-169, 2004.

GUZZO, S. D.; BACH, E. E. Crude exopolysaccharids (EPS) from *Xanthomonas*

*campestris* pv. *campestris*, *Xanthomonas campestris* pv. *manihotis* and commercial xanthan gum as inducers of protection in coffee plants against *Hemileia vastatrix*. **J. Phytopathol.**, v. 139, p. 119-128, 1993.

JEFFREY, S. W.; HUPHREY, G. F. New spectrophometric equations for determining chlorophylls a,b,c in higher plants, algae and natural phytoplankton. **Biochemistry and Physiology Pflanzen**, Berlin, v. 167, p. 271-283, 1975.

KUC, J. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, p. 7-12, 2001.

\_\_\_\_\_. Plant immunization and its applicability for disease control. In: CHET, K. (Ed.). **Innovative approaches to plant disease control**. New York: John Wiley & Sonns, 1987. p. 255-274.

LARGE, E. C. Growth stages in cereal: Illustration of the Feekes scale. **Plant Pathology**, New York, v. 3, p. 129, 1954.

LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-275, 1951.

MINELLA, E. Desafios e potencialidades do melhoramento genético de cevada no Brasil. In: REUNIÃO ANUAL DA PESQUISA DE CEVADA, 21, 2001, Guarapuava. **Anais...** Guarapuava, PR: EMBRAPA, 2001. p. 31-40.

MOURA, J. A. B. O controle das principais doenças no trigo. **Correio Agrícola**, v. 2, p. 712-715, 1987.

MUTHUKRISHNAN, S. et al. Pathogenesis-related proteins genes in cereals. **Plant Cell. Tissue and Organ Culture**, v. 64, n. 2/2, p. 93-114, 2001.

PICININI, E. C.; FERNANDES, J. M. C. Avaliação de fungicidas no controle de doenças da parte aérea da cultura de cevada cervejeira – ensaio dos anos de 1999 e 2000. In: REUNIÃO ANUAL DE PESQUISA DE CEVADA, 21, 2001, Guarapuava. **Anais...** Passo Fundo, RS: EMBRAPA-Trigo, 2001. p. 521-530.

SWAIN, R.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 10, p. 63-68, 1959.

TONON, J. Cevada: As principais doenças fúngicas. **Correio Agrícola Bayer**, v. 2, p. 12-15, 1992.

WILSON, J. R. Effects of water stress on herbage quality. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 14, 1982, Lexington. **Proceedings...** Lexington: [S. n.], 1982. p. 470-472.

*Recebido em: 28 Março 2010*

*Aceito em: 29 Junho 2010*