

AUMENTO NA CONCENTRAÇÃO DE CO₂ AFETA O ACÚMULO DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM ARROZ CONTRA O *Bipolaris oryzae*

Keilor da Rosa Dorneles¹; Giovana Paula Zandoná²; Fabio Clasen Chaves³; Paulo Cesar Pazdiora⁴; Leandro José Dallagnol⁵

Palavras-chave: [*Oryza sativa*, *Cochliobolus miyabeanus*, metabólitos secundários, mancha parda, mudanças climáticas]

INTRODUÇÃO

A concentração de dióxido de carbono (CO₂) tem aumentando gradativamente nos últimos tempos e é amplamente aceito que as principais causas deste aumento estão associadas às atividades antrópicas, além dos eventos naturais (IPCC, 2014).

O Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas-IPCC estima que até o fim do século XXI as alterações climáticas globais, causadas pela constante emissão de gases de efeito estufa, levarão a um aumento da concentração do CO₂ atmosférico para mais de 700 ppm (IPCC, 2014).

Do ponto de vista fisiológico, para inúmeras culturas agrícolas incluindo o arroz, a elevação da concentração de CO₂ atmosférico promove benefícios através de alterações no metabolismo, crescimento e processos fisiológicos (LIU et al., 2017). No entanto estas alterações podem modificar o equilíbrio biológico na ocorrência de doenças por interferir na relação patógeno-hospedeiro, podendo deixar as plantas mais suscetíveis ao ataque de patógenos (CHAKRABORTY et al., 2008).

Dentre as doenças que acometem o arroz, a mancha parda causada pelo fungo *Bipolaris oryzae* Breda de Haan, é considerada uma das principais, devido aos danos causados no rendimento e na qualidade dos grãos (SUNDER et al., 2014). Diante disso, um dos pilares do manejo integrado da mancha parda é baseado na utilização de cultivares que apresentam resistência parcial ao patógeno. Essa resistência é fundamentada principalmente da produção e acúmulo de compostos oriundos do metabolismo primário e secundário da planta como os compostos fenólicos (SUNDER et al., 2014).

Com base no exposto, o objetivo com esse trabalho foi avaliar a concentração de compostos fenólicos específicos como resposta de defesa da planta de arroz contra *B. oryzae* em ambiente com 700 ppm de CO₂.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Interação Planta Patógeno (LIPP) pertencente ao Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” da Universidade Federal de Pelotas.

O experimento foi organizado em esquema fatorial 2 × 2, consistindo de uma cultivar de arroz sob duas concentrações de CO₂ atmosférico (400 e 700 ppm), com ou sem inoculação de *B. oryzae*, com quatro repetições cada uma consistindo de uma planta. Os tratamentos foram organizados em delineamento inteiramente casualizado.

Para avaliar o efeito da mudança na concentração do CO₂ sobre plantas de arroz, foram

¹ Doutor, Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Fitossanidade, Capão do Leão, RS. E-mail: keilor.rd@hotmail.com.

² Doutoranda, Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Ciências e Tecnologias Agroindustrial, Capão do Leão, RS.

³ Prof. Dr., Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Ciências e Tecnologias Agroindustrial, Capão do Leão, RS.

⁴ Doutorando, Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Fitossanidade, Capão do Leão, RS.

⁵ Prof. Dr., Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Fitossanidade, Capão do Leão, RS. E-mail: leandro.dallagnol@ufpel.edu.br

utilizadas estufas de topo aberto (“open-top chambers”, OTC). Com formato quadrangular e estrutura de madeira (4 m² e 2 m de altura) que contavam com as laterais protegidas por um filme plástico transparente de polietileno, equipadas com um redutor de abertura do topo para deflexionar o ar e, assim, prevenir a diluição da concentração desejada de CO₂ dentro da estufa. A transferência do CO₂ puro contido no cilindro para os OTCs, ocorreu através de uma tubulação até atingir o controlador de fluxo, que faz a regulação a quantidade de CO₂ distribuído em cada OTC. As concentrações foram divididas em: 400 ppm CO₂, pois é considerada como atual no ambiente (teste controle) e em 700 ppm CO₂, já que a mesma é prevista para no ano de 2050 (IPCC, 2014). As OTCs estão situadas na área experimental da Universidade Federal de Pelotas, localizada na cidade de Capão do Leão/RS (latitude 31° 81’ sul, longitude 52° 41’ W. Gr.) (Figura 1).

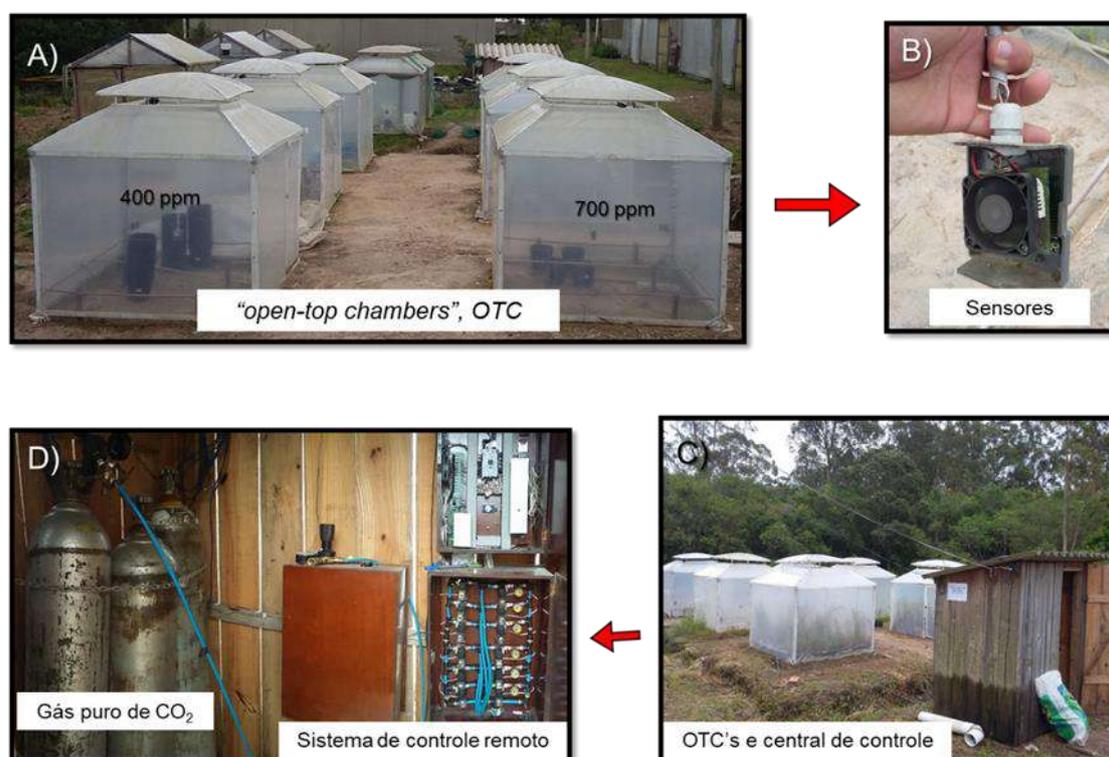


Figura 1. Área experimental com estufas de topo aberto (“open-top chambers”, OTC) (A), sensores de monitoramento da concentração da CO₂ (B) e a central de controle e armazenamento dos cilindros de CO₂ (C e D).

Sementes de arroz da cultivar BRS Querência (Embrapa) foram semeadas em vasos plásticos com capacidade 2 litros, contendo solo, que teve sua fertilidade química corrigida conforme as indicações técnicas para a cultura do arroz (SOSBAI, 2016), sendo na sequência, alocados em suas respectivas OTCs.

A inoculação das plantas de arroz com *B. oryzae* foi realizada no estágio fenológico V₇-V₈, segundo escala de Counce et al. (2000), por meio da pulverização da suspensão de 1×10^4 conídios por mL⁻¹ com auxílio de atomizador manual. As plantas controle, não inoculadas, foram pulverizadas com água destilada. As plantas permaneceram dentro das respectivas OTCs durante as 48 horas de câmara úmida.

A coleta do material para análise foi realizada as 48 horas após a inoculação (hai), utilizando as folhas do colmo principal, imediatamente após a coleta, as folhas foram congeladas usando nitrogênio líquido e armazenadas a -70°C até a realização da extração.

A extração dos compostos fenólicos solúveis totais, para posterior quantificação dos

específicos, foi realizado conforme descrito por Dallagnol et al. (2015), utilizando 0,1 g de amostra foliar. Quanto a separação e quantificação dos compostos fenólicos específicos foi de acordo com a metodologia descrita por Dorneles et al. (2018) utilizando o equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência (UFLC, Shimadzu, Japão) acoplada a espectrômetro de massas de alta resolução do tipo quadrupolo-tempo de voo (Maxis Impact, BrukerDaltonics, Bremen, Alemanha).

O ácido gálico, ácido 4-hidroxibenzóico, luteolina e rutina foram caracterizados pelo espectro de UV/Vis (210-800 nm) e a massa exata, caracterizada por padrões de fragmentação MSn em comparação com os dados da biblioteca do equipamento e em comparação com padrão isotópico. Quanto a quantificação dos compostos, foi realizada através da curva de calibração externa com os padrões de cada composto (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) e os resultados expressos em mg g^{-1} de massa fresca.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Student (teste-t). As análises foram realizadas no software SAS (SAS Institute, 1989, Cary, NC).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As plantas de arroz não inoculadas à 700 ppm de CO_2 apresentaram acréscimo de 10, 11, 67 e 25%, respectivamente, para o ácido gálico, ácido 4-hidroxibenzóico, luteolina e rutina, quando comparado a plantas cultivadas à 400 ppm. Na presença do patógeno, nas plantas à 700 ppm de CO_2 , a concentração do ácido gálico, ácido 4-hidroxibenzóico e rutina aumentaram, respectivamente em 23, 21 e 39% comparado a plantas cultivadas à 400 ppm de CO_2 .

Em relação a resposta da planta pela presença do patógeno, as plantas cultivadas à 400 ppm apresentaram um aumento de 8 e 53%, respectivamente, para o ácido gálico e luteolina. Nas plantas cultivadas à 700 ppm ocorreu redução na concentração da luteolina de 20% e aumento na do ácido gálico e da rutina em 20% e 9%, respectivamente (Figura 2).

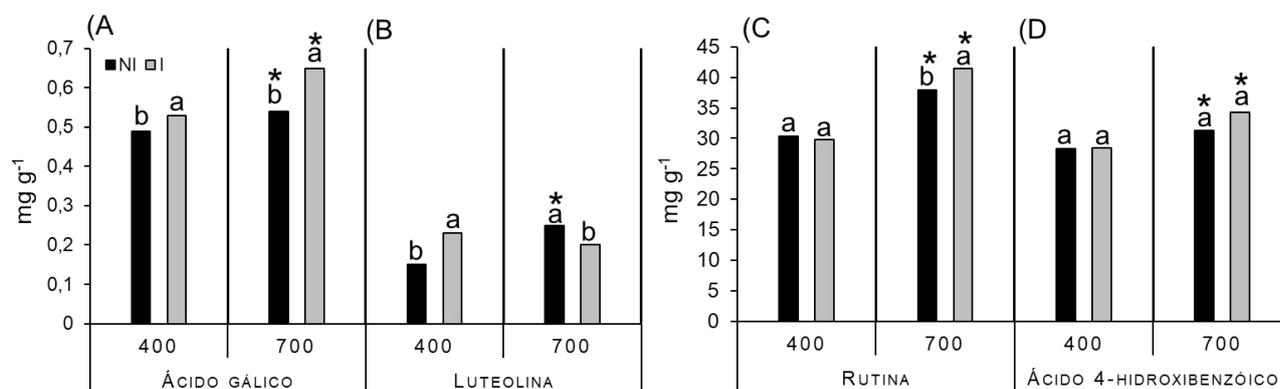


Figura 2. Concentração do ácido gálico (A), luteolina (B), rutina (C) e ácido 4-hidroxibenzóico (D) no tecido foliar de plantas de arroz da cultivar BRS Querência cultivada em ambiente sem elevação (400 ppm) ou com elevação do CO_2 atmosférico (700 ppm) e submetidas (I) ou não (NI) a inoculação com *Bipolaris oryzae*. Médias seguidas pela mesma letra minúscula não diferem entre si pelo teste - t ($P \leq 0,05$) comparando plantas não inoculadas e inoculadas, dentro de cada concentração de CO_2 . Asterisco (*) representa diferença significativa ($P \leq 0,05$) pelo teste - t entre as concentrações de CO_2 tanto para plantas inoculadas ou não. Capão do Leão, 2018.

Os compostos fenólicos são originados do metabolismo secundário das plantas, via que já demonstrou ser potencializada pela elevação na concentração do CO₂ tanto em *Arabidopsis* sp., quanto no arroz (GOUFO et al., 2014; NOCTOR; MHAMDI, 2017). A forma, como o CO₂ atua nas vias de defesa da planta está relacionada a sua influência positiva no metabolismo primário, que consequentemente origina o acúmulo de substâncias ricas em energias, como carboidratos e aminoácidos, que são utilizados nos mais variados processos celulares da planta, incluindo a síntese de compostos oriundos do metabolismo secundário, que apresentam ação direta ou indireta contra patógenos (NOCTOR; MHAMDI, 2017; WILLIAMS et al., 2018).

O ácido gálico, ácido 4-hidroxibenzoico, luteolina e rutina são considerados antifúngicos e estão envolvidos no reforço da parede celular quando acumulados de forma rápida em sítios de infecção, o que é de suma importância para restringir a infecção pelo patógeno (DORNELES et al., 2018). Além disso, vale ressaltar que além da ação isolada de cada um deles, vários desses compostos geralmente se acumulam simultaneamente no tecido infectado, e é possível que seu efeito tóxico combinado, ao invés do impacto fungitóxico de cada um separadamente, seja responsável pela inibição da infecção em cultivares resistentes.]

CONCLUSÃO

[Conclui-se que a elevação do CO₂ atmosférico à 700 ppm causa incremento na concentração ácido gálico, ácido 4-hidroxibenzoico, luteolina e rutina em plantas de arroz contra o *B. oryzae*.]

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [CHAKRABORTY, S. et al. Impacts of global change on diseases of agricultural crops and forest trees. *CAB Reviews. Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, v. 3, p. 1-15, 2008.
- COUNCE, P.A. et al. A uniform, objective, and adaptative system for expressing rice development. *Crop Science*, v.40, n.2, p.436-443, 2000.
- DALLAGNOL, L.J.; MARTINS, S.C.V.; DAMATTA, F.M.; RODRIGUES, F.Á. Brown spot negatively affects gas exchange and chlorophyll a fluorescence in rice leaves. *Tropical Plant Pathology*, v. 40, p. 275-278, 2015.
- DORNELES, K.R.; DALLAGNOL, L.J.; PAZDIORA, P.C.; HOFFMANN, J.F.; CHAVES, F.C.; MONTE, L.G.; RODRIGUES, F.A. Wheat leaf resistance to *Pyrenophora tritici-repentis* induced by silicon activation of phenylpropanoid metabolism. *Plant Pathology*, v. 67, n. 8, p. 1713-1724, 2018.
- GOUFO, P. et al. Rice (*Oryza sativa* L.) phenolic compounds under elevated carbon dioxide (CO₂) concentration. *Environmental and Experimental Botany*, v. 99, p. 28-37, 2014.
- INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE-IPCC. **Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change** [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 2014, p.151.
- LIU, S. et al. Effects of increased levels of atmospheric CO₂ and high temperatures on rice growth and quality. *PLoS ONE*, v. 12, p. 11, 2017.
- NOCTOR, G.; MHAMDI, A. Climate change, CO₂, and defense: The Metabolic, redox, and signaling perspectives. *Trends in Plant Science*, v. 22, n. 10, p. 857-870, 2017.
- SOSBAI. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Pelotas: SOSBAI, 2016. 200 p.
- SUNDER, S. et al. Brown spot of rice: an overview. *Indian Phytopathology*, v. 67, n.3, p. 201-215, 2014.
- WILLIAMS, A.; PÉTRIACQ, P.; SCHWARZENBACHER, R. E.; BEERLING, D. J.; TON, J. Mechanisms of glacial-to-future atmospheric CO₂ effects on plant immunity. *New Phytologist*, v.2, p. 752-761, 2018.]