

DESENVOLVIMENTO DE *Cercospora kikuchii* E PRODUÇÃO DE CERCOSPORINA EM SOJA

Marcos Dhein¹; Chrislaine Yonara Schoenhals Ritter¹; Emanuele Carolina Barichello¹;
Fabiana Raquel Mühl²; Neuri Antonio Feldmann³

Palavras-chave: fitotoxinas, patogenicidade, fungos, metabólitos secundários.

INTRODUÇÃO

A *Cercospora kikuchii* apresenta ampla distribuição global, no entanto, é considerada recente nas Américas, a qual já apresenta algumas mudanças morfofisiológicas e vem sendo razão de perdas significativas de rendimento em lavouras de soja na época de enchimento de grãos, principalmente, em grandes áreas produtoras que incluem EUA, Argentina e Brasil, países de maior destaque na produção no cenário mundial. O fungo atua em todo o território nacional, sendo mais severo em regiões quentes e chuvosas e pode causar reduções de produtividade na ordem de 30% (SOARES et al., 2015; GODOY et al. 2016).

C. kikuchii está relacionada como causadora de três tipos de problemas em soja: o crestamento foliar, que causa maiores perdas, morte de plântulas e a mancha púrpura da semente. O patógeno apresenta alta variabilidade, conferindo certa dificuldade em obter métodos de controle, principalmente o controle genético. Ainda que o controle genético seja considerado o mais eficiente, são muito limitados os conhecimentos de técnicas para o melhoramento genético a doença (KUDO, 2009).

O agente etiológico causador da doença é o fungo *C. kikuchii* que ataca todas as partes da planta, exceto raízes. Nas folhas, os sintomas caracterizam-se por pontuações escuras, castanho-avermelhadas, com bordas difusas as quais coalescem e formam grandes manchas escuras, que resultam em severo crestamento e desfolha prematura. Os tecidos vasculares da folha podem apresentar necroses. Nas hastes, as lesões são vermelho-arroxeadas, levemente

¹Acadêmicos do curso de Agronomia do Centro Universitário FAI. Itapiranga/SC. E-mail: marcos.dhein@hotmail.com.

²Bióloga, Doutora, Professora do curso de Agronomia do Centro Universitário FAI.

³Engenheiro Agrônomo, Mestre em Fitotecnia, Coordenador e Professor do curso de Agronomia do Centro Universitário FAI.

deprimidas, geralmente superficiais, limitadas ao córtex. As lesões nos pecíolos podem aumentar a desfolha, ficando os pecíolos aderidos à planta (GODOY et al., 2016).

O molhamento foliar por cerca de 18 horas de forma contínua tem favorecido a infecção do patógeno em folhas e vagens da planta. Somado a esse fator, a umidade relativa do ar e temperaturas entre 22 a 30°C, otimizam o surgimento do crestamento foliar (KUDO, 2009).

Em tecidos infectados ocorre grande esporulação associado a temperaturas entre 23 a 27°C, principalmente e, aliado a isso, alta umidade relativa do ar. No entanto, a introdução do fungo na lavoura ocorre principalmente pelo uso de sementes contaminadas e sua reincidência pode decorrer da sua atividade saprofítica, nos restos culturais (GODOY et al., 2016).

Notavelmente os sintomas da doença se apresentam nas folhas superiores, relacionado a incidência luminosa e no terço inferior das plantas, geralmente não ocorrem as infecções. Quando a planta inicia a formação e o enchimento do grão, concomitantemente se intensificam os sintomas, preliminarmente na forma de um leve bronzeamento nos espaços entre as nervuras do folíolo, análoga a manchas decorrentes da aplicação de adjuvantes. Com o desenvolvimento da cultura e fatores como molhamento do limbo favorecendo aos conídios, há o progresso da infecção com aparecimento de clorose e posterior necrose do tecido, o que acarreta no aspecto retorcido da borda do folíolo. A progressão da doença pode acarretar no arroxamento de nervuras, hastes e os legumes, tendo o grão como último estágio (MADALOSA, 2017).

O gênero cosmopolita *Cercospora*, abriga algumas das espécies de maior poder degenerativo em plantas, cerca de 3.000 espécies já foram descritas e destas, mais de 650 são reconhecidas, as quais apresentam características estritamente específicas aos hospedeiros. Conforme relatos literários, existem duas espécies de *Cercospora* que acometem a soja, uma delas é a *C. sojina*, que não é capaz de produzir a toxina cercosporina, e a outra espécie *C. kikuchii*, a qual produz e tem na toxina o elemento de patogenicidade nos órgãos da cultura (SOARES et al., 2015).

Godoy et al. (2016) relatando a etiologia de *C. kikuchii*, cita que a espécie apresenta conídios de coloração hialina que se apresentam de forma aciculada, tanto retos quanto curvos. O tamanho pode ser variado, algo entre 3-6 x 70-300 µm e multisseptados, conferindo ampla diferença morfológica e, inclusive, isoenzimáticas e patogênicas.

O relato pioneiro referente a biossíntese da cercosporina remete ao Japão na década de 1970, em que pesquisadores marcaram o fungo *Cercospora kikuchii* com radioisótopo. A conclusão da síntese da cercosporina remete a rota policetídica dos fungos, inicialmente originada pela condensação do acetato e malato (DAUB; CHUNG, 2007).

A cercosporina caracteriza-se por ser um pigmento vermelho e desta forma podem ser notados, em placas de ágar, os indivíduos que produzem essa toxina (DAUB; CHUNG, 2007).

A cercosporina é uma toxina que necessita de luz para ser ativada, a molécula absorve comprimentos de onda que variam de 400nm a 600nm, correspondendo do roxo ao amarelo do espectro visível e em período de escuro sua síntese é suprimida, bem como em temperaturas superiores a 30°C em especial para a espécie de fungo *Cercospora kikuchii*. Fatores que incluem a temperatura, condições de nutrientes, pH, fontes de carbono e nitrogênio, relação carbono: nitrogênio interferem na produção de cercosporina (DAUB; CHUNG, 2007; MADALOSSO, 2017).

Ainda Daub e Chung (2007), juntamente com Madalosso (2017), citam que a molécula de cercosporina que é produzida e ativada pela luz, assume uma forma tripleta, denominada Cerc*, o que lhe confere a característica de transferência de energia a vários aceptores. No entanto, a forma Cerc*, transfere energia para a clorofila tornando-a tripleta (Chl*), e esta, transfere energia para o oxigênio, o qual é o acceptor mais havido por elétrons. Neste elemento, os elétrons ficam despareados e se inicia a produção de espécies reativas de oxigênio, como o oxigênio singlete (1O_2), radical superóxido ($^-O_2$), radical peroxila (HO_2), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxila (OH^\cdot). Estes elementos induzem a peroxidação lipídica da célula, ou seja, a toxicidade da cercosporina se dá na membrana plasmática, destruindo-a e induzindo ao extravasamento do conteúdo celular, o que causa a morte da célula. A esse extravasamento, dos nutrientes do citoplasma para os espaços intercelulares, é que promove o crescimento e esporulação do fungo.

Chen et al. (2007) conferem a cercosporina às espécies de *Cercosporas* fitopatogênicas como inteiramente necessária para a ocorrência da virulência bem-sucedida nas plantas. Citam ainda, a interação danosa a outros componentes da célula, como o DNA e proteínas, além de observarem o efeito da toxicidade em bactérias, outros fungos e camundongos, conferindo a molécula fitotoxicidade não seletiva, que varia conforme o hospedeiro característico da espécie de *Cercospora*.

A capacidade de virulência de *Cercospora kikuchii* está intrinsecamente relacionada a produção de cercosporina para auxiliar a infecção da planta. Algumas observações de indivíduos mutantes que não produziam esta toxina, demonstrou a incapacidade dos mesmos em causar contaminações no limbo foliar de soja, e quanto mais capacidade de produzir cercosporina, maior causa e incidência de danos, relacionados ainda, que isolados em meio de cultura com formação de halos de coloração roxa a vermelho, foram os mais aptos a causar

danos, somando-se a isso, nos indivíduos com menor tendência à produção da fitotoxina, as lesões e o progresso da doença se deu de maneira apática (MADALOSSO, 2017).

Mattio et al. (2008), avaliaram 24 espécies de bactérias com a finalidade de observar a viabilidade de degradação da cercosporina *in vitro*, e destas, uma cepa de *Pseudomonas aeruginosa*, entre quatro cepas avaliadas e, uma cepa de *Stenotrophomonas maltophilia*, entre duas cepas avaliadas, demonstraram capacidade de degradar a toxina.

Daub e Chung (2007) citam que a resistência a cercosporina é observada apenas em espécies de cercospora e fungos capazes de produzirem toxinas de perilenolequinonas, como no caso de *Alternaria* e *Cladosporium*, neste contexto, a pesquisa objetivou o conhecimento dos mecanismos de controle de cercosporina por estes fungos, com a finalidade de encontrar genes que possam ser usados para promover resistência a fungos em plantas transgênicas.

Algumas cepas de *Xanthomonas campestris* pv. *zinniae* degradaram a cercosporina para um composto não tóxico, o ácido xanospórico, através da ação de genes de oxidoreductase putativa. No entanto, estes genes não foram capazes de degradar a cercosporina por si próprios. Já em *Cercospora nicotianae* foram identificados três genes com capacidade de promover resistência a cercosporina, sendo dois desses responsáveis pela síntese de enzimas na via da vitamina B6 e o outro gene, atua no processo de transcrição do cluster de zinco. A vitamina B6 atua como antioxidante, controlando os óxidos (EHRENSHAFT, 1999; DENSLOW; WALLS; DAUB, 2005 apud DAUB; CHUNG, 2007).

Trabalhos realizados em tabaco com a incorporação de genes que expressem a síntese de compostos de vitamina B6 foram bem-sucedidos, no entanto, a produção consistiu em níveis insuficientes para que o controle de cercosporina fosse eficiente. Técnicas que possibilitem aumentar os níveis de vitamina B6 nas plantas são conhecidas, porém, níveis maiores proporcionaram efeitos debilitantes, correspondendo a germinação tardia e crescimento lento de plântulas, o que é prejudicial. Estudos com leveduras que expressem a síntese de vitamina B6 também apresentaram problemas, o que demonstra que níveis maiores de Vitamina B6 são eficientes no combate à cercosporina, no entanto, a planta não suportaria os efeitos colaterais (DAUB; CHUNG, 2007).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante da dificuldade de desenvolvimento de cultivares resistentes e também em certo ponto, a falta de investimentos em pesquisas relacionadas na área, principalmente em nível

nacional, o controle de cercospora está basicamente fixado nas técnicas de manejo das lavouras e tratamento de sementes. Neste sentido, o conhecimento das relações do patógeno hospedeiro é fundamental para projetar estratégias que possibilitem as reduções de infestações e sobrevivência do fungo, evitando ou diminuindo sua incidência nos cultivos posteriores.

REFERÊNCIAS

CHEN, H. et al. Molecular analysis of the cercosporin biosynthetic gene cluster in *Cercospora nicotianae*. **Molecular Microbiologie**. v. 64, e. 3, p. 755 – 770, 2007.

DAUB, M. E.; CHUNG, K. **Cercosporin: A photoactivated toxin in plant disease**. American Phytopathological Society: St. Paul, 2007.

DAUB, M. E.; HERRERO, S.; CHUNG, K. Photoactivated perylenequinone toxins in fungal pathogenesis of plants. **FEMS Microbiol Lett**. vol. 252. 2. ed. Oxford, 2005.

GODOY, C. V. et al. Doenças da soja. In: AMORIM, L. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 5. ed. vol. 2. Ouro Fino: Agronômica Ceres, 2016. Cap. 67. p. 657-676.

KOSHIKUMO, É. S. M. **Identificação molecular e morfológica, métodos de esporulação, indução e detecção de cercosporina das espécies de cercospora do milho**. 2011. 109 f. Tese (Doutorado) – Curso de Agronomia/Fitopatologia, Programa de Pós-Graduação, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

KUDO, A. S. **Aerobiologia de conídios e manejo das cercosporioses da soja (*Glycine max*)**. 2009. 86 f. Tese (Doutorado) – Curso de Fitopatologia, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Brasília, Brasília, 2009.

MATTIO, M. C. et al. *Cercospora* patógenas de soja: influência de factores ambientais sobre su desarrollo. Degradación biológica de cercosporina. **FABICIB**. Santa Fé, v. 12, p. 25-32, jul. 2008.

SOARES, A. P. G. et al. More *Cercospora* Species Infect Soybeans across the Americas than Meets the Eye. **Plos One**. University of Innsbruck, 2015.