

**Severidade da queima das folhas
e quantificação de fenóis solúveis
totais e lignina solúvel em
cultivares de cenoura**



Foto: Ricardo B. Pereira

ISSN 1677-2229

Dezembro, 2011

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Hortaliças
Ministério da Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 80

Severidade da queima das folhas e quantificação de fenóis solúveis totais e lignina solúvel em cultivares de cenoura

Ricardo Borges Pereira

Agnaldo Donizete Ferreira de Carvalho

Jadir Borges Pinheiro

Embrapa Hortaliças

Brasília, DF

2011

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Hortaliças

Endereço: Rodovia BR-060, trecho Brasília-Anápolis, km 9
Caixa Postal 218
Brasília-DF
CEP 70.351-970
Fone: (61) 3385.9110
Fax: (61) 3556.5744
Home page: www.cnph.embrapa.br
E-mail: sac@cnph.embrapa.br

Comitê Local de Publicações da Embrapa Hortaliças

Presidente: Warley Marcos Nascimento
Editor Técnico: Fabio Akyoshi Suinaga
Supervisor Editorial: George James
Secretária: Gislaine Costa Neves
Membros: Agnaldo Donizete Ferreira de Carvalho
Carlos Alberto Lopes
Ítalo Morais Rocha Guedes
Jadir Borges Pinheiro
José Lindorico de Mendonça
Mariane Carvalho Vidal
Neide Botrel
Rita de Fátima Alves Luengo

Normalização bibliográfica: Antonia Veras
Edição eletrônica: Aline Rodrigues Barros
1ª edição
1ª impressão (2012): 1.000 exemplares

Todos os direitos reservados

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610)

**Dados internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Hortaliças**

PEREIRA, R. B.

Severidade da queima das folhas e quantificação de fenóis solúveis totais e lignina solúvel em cultivares de cenoura / Ricardo Borges Pereira [et al...]. – Brasília, DF : Embrapa Hortaliças, 2011.

17 p. - (Boletim Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Hortaliças, ISSN 1677-2229 ; 80).

1. Cenoura. 2. Doença de planta. 3. Fenol. 4. Lignina. I. Pinheiro, Jadir Borges. II. Carvalho, Agnaldo Donizete Ferrera de. III. Título. IV. Série.

CDD 635.13

©Embrapa, 2011

Sumário

Resumo	5
Abstract.....	7
Introdução	8
Material e Métodos.....	9
Resultados e Discussão.....	11
Conclusões.....	14
Referências	15

Severidade da queima das folhas e quantificação de fenóis solúveis totais e lignina solúvel em cultivares de cenoura

*Ricardo Borges Pereira*¹

*Agnaldo Donizete Ferreira de Carvalho*²

*Jadir Borges Pinheiro*³

Resumo

A queima das folhas causa severa desfolha em cenoura e reduz a produtividade. A doença pode ser causada por dois fungos (*Alternaria dauci* e *Cercospora carotae*) e uma bactéria (*Xanthomonas hortorum* pv. *carotae*), os quais podem ser encontrados em infecções múltiplas ou não, no mesmo plantio, planta, ou lesão. O objetivo deste trabalho foi avaliar a severidade da doença em cultivares tradicionais de cenoura (Brasília, BRS Planalto, Juliana, BRS Esplanada, Branca Lunar, Amarela Solar e Londrina) em campo, bem como quantificar as concentrações

¹Eng. Agr., D. Sc. – Embrapa Hortaliças, C.P. 218, Brasília-DF. 70.351-970 – ricardo@cnph.embrapa.br

²Eng. Agr., D. Sc. – Embrapa Hortaliças, C.P. 218, Brasília-DF. 70.351-970 – agnaldo@cnph.embrapa.br

³Eng. Agr., D. Sc. – Embrapa Hortaliças, C.P. 218, Brasília-DF. 70.351-970 – jadir@cnph.embrapa.br

de fenóis solúveis totais e lignina solúvel nas folhas. O delineamento de blocos casualizados foi utilizado no experimento, com três repetições e parcela composta por 1,5 m². A doença ocorreu de forma natural no campo e foi avaliada a cada cinco dias, a partir dos 72 dias após a semeadura. Aos 93 dias após o plantio, folhas assintomáticas do terço médio das plantas foram coletadas para a quantificação de fenóis solúveis totais e lignina solúvel. As cultivares BRS Planalto, Londrina, BRS Esplanada e Brasília apresentaram maior resistência à doença. As cultivares BRS Planalto, BRS Esplanada, Londrina e Juliana apresentaram concentrações superiores de fenóis e lignina nas folhas, seguidas de Branca Lunar e Brasília.

Severity of burning leaves and quantification of total phenols and soluble lignin in carrot cultivars

Abstract

Leaf blight causes severe defoliation on carrot and reduces the yield. The disease can be caused by two fungi (*Alternaria carotae* and *Cercospora dauci*) and one bacteria (*Xanthomonas hortorum* pv. *carotae*), which can be found in multiple infections or not, in the same cultivation, plant, or lesion. This study aimed to evaluate the severity of disease in traditional carrot cultivars (Brasília, BRS Planalto, Juliana, BRS Esplanada, Branca Lunar, Amarela Solar and Londrina) on field and quantifying the concentrations of total soluble phenols and lignin into the leaves. The randomized block design was used in the experiment with three replications and plots of 1.5 m². The disease occurred naturally on the field and was evaluated each five days, from 72 days after planting. Ninety three days after planting, leaves without symptoms from the middle third of the plants were collected for quantification of total soluble phenolics and lignin. The cultivars BRS Planalto, Londrina, BRS Esplanada and Brasília showed greater resistance to disease. BRS Planalto, BRS Esplanada, Londrina and Juliana presented higher concentrations of phenolics and lignin into the leaves, followed by Branca Lunar and Brasília.

Introdução

A cenoura (*Daucus carota* L.) é cultivada principalmente nos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Bahia e no Rio Grande do Sul (SHIBATA, 2008). Conforme estimativas da Embrapa Hortaliças, obtidas junto a representantes do agronegócio, a safra de 2008 alcançou 784 mil toneladas em 26 mil hectares cultivados (Anuários, 2011).

A cultura é acometida por diferentes patógenos que muitas vezes inviabilizam a produção durante o verão, fato atribuído à maior ocorrência da queima das folhas, a qual provoca acentuada desfolha das plantas, com reflexos negativos sobre a produção e a qualidade das raízes (HENZ; LOPES, 2000). Existem relatos de sua ocorrência em grande número de áreas de produção, sendo atualmente considerada uma doença importante em todo o mundo (PRYOR et al., 2002). Trata-se de um complexo causado por dois fungos (*Alternaria dauci* (Kuhn) Groves & Skolko e *Cercospora carotae* (Pass.) Solheim) e uma bactéria (*Xanthomonas hortorum* pv. *carotae* (Kendr.) Dows), os quais podem ser encontrados em infecções múltiplas ou não no mesmo plantio, planta, ou lesão (TOFOLI, 2006).

As lesões foliares causadas por *Alternaria dauci* são geralmente pequenas, de formato irregular, de coloração marrom escura ou preta que podem ser circundadas por halos cloróticos e localizar-se nas margens e extremidades dos folíolos. Na queima causada por *C. carotae*, as lesões são inicialmente pequenas, marrom-escuras, com o centro claro e margens definidas. Estas são circulares no interior das folhas e mais alongadas nas margens (MASSOLA JÚNIOR et al., 2005). Os sintomas das queimas causadas pelos três patógenos são muito similares (GAUBE et al., 2004), o que pode dificultar a identificação e a definição de estratégias de controle.

Os compostos fenólicos exercem uma série de funções importantes na defesa das plantas contra pragas e doenças (GRASSMANN et al., 2002).

Outra importante molécula é a lignina, constituída de um polímero de grupos fenilpropanóides, altamente ramificado. Além de proporcionar suporte mecânico, a lignina desempenha funções protetoras importantes nos vegetais. A lignificação bloqueia o desenvolvimento de patógenos e representa uma resposta frequente à infecção e à lesão (TAIZ; ZEIGER, 2004). A lignina, juntamente com a celulose e outros polissacarídeos que ocorrem na parede celular das plantas superiores, funciona como barreira física à penetração de fungos (VANCE et al., 1980). A lignificação pode impedir o desenvolvimento do fungo nos tecidos vegetais de várias maneiras: estabelecimento de barreira mecânica ao avanço e desenvolvimento do patógeno; modificação da parede celular, tornando-a mais resistente ao ataque de enzimas hidrolíticas; aumento da resistência das paredes à difusão de toxinas produzidas pelos patógenos, que impedem que os nutrientes do hospedeiro sejam utilizados pelo invasor (CAVALCANTI et al., 2005).

A diferença entre os níveis de resistência das cultivares de cenoura aos patógenos do complexo da queima das folhas também pode estar relacionada aos mecanismos bioquímicos de resistência, como a maior produção de enzimas relacionadas à patogênese (peroxidase, quitinase e β -1,3-glucanase, entre outras) (PUNJA, 2006) e acúmulo de compostos fenólicos (lignina e fenóis). Segundo Moerschbacher et al. (1988), a deposição de compostos fenólicos e lignina está relacionada com componentes estruturais das reações de defesa de plantas à patógenos.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a severidade da queima das folhas em cultivares tradicionais de cenoura em campo, bem como quantificar as concentrações de fenóis solúveis totais e lignina solúvel presentes nas folhas.

Material e Métodos

O presente trabalho foi realizado no Campo Experimental da Embrapa Hortaliças e no Laboratório de Fisiologia do Parasitismo do

Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, no período de novembro de 2010 a abril de 2011.

Para o plantio da cenoura, o solo foi convencionalmente preparado com aração e gradagem. Em seguida foram suspensos canteiros de 1,0 metros de largura e 20 cm de altura. No dia 17 de novembro de 2010 realizou-se a semeadura de diferentes cultivares de cenoura, (Brasília, BRS Planalto, Juliana, BRS Esplanada, Branca Lunar, Amarela Solar e Londrina). Trinta e cinco dias após a semeadura realizou-se o desbaste das plantas. Estas foram adubadas conforme a recomendação para a cultura e irrigadas por aspersão conforme a necessidade durante todo o período experimental.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com três repetições, e parcela composta por 1,5 m² (10 cm entre linhas e 5 cm entre plantas).

A infecção por queima das folhas ocorreu de forma natural no campo. Ao constatar os primeiros sintomas da doença, que ocorreram 72 dias após a semeadura (DAS), iniciou-se as avaliações. Foram realizadas cinco avaliações, em intervalos de cinco dias, nas quais foram atribuídas notas de 1 a 5 para as parcelas, sendo 1 = mais de 90% de severidade, 2 = de 50 a 90% de severidade, 3 = de 12,5 a 50% de severidade, 4 = de 3,8 a 12,5% de severidade e 5 = menos de 3,8% de severidade.

Aos 93 DAS, foram coletadas folhas assintomáticas de forma aleatória no terço médio das plantas, em todas as parcelas avaliadas, para a quantificação de fenóis solúveis totais e lignina solúvel. Em seguida, estas foram identificadas, imediatamente congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas a -20°C. Os tecidos vegetais foliares foram triturados em nitrogênio líquido, com almofariz e pistilo até a obtenção de um pó fino. Posteriormente, as amostras foram liofilizadas por 12 horas. Uma alíquota de 30 mg do material liofilizado foi transferida para microtubo de 2,0 mL, homogeneizada com 1,5 mL de metanol a 80%, protegido da luz à temperatura ambiente. A suspensão foi centrifugada a 12.000 rpm por 10 minutos.

O sobrenadante (extrato metanólico) foi transferido para um novo micro tubo de 1,5 mL, com o qual se realizou a determinação de fenóis solúveis totais de acordo com a metodologia de Spanos & Wrolstad (1990), enquanto o resíduo sólido foi utilizado para determinação de lignina solúvel, conforme a metodologia de Doster & Bostock (1988).

A análise estatística dos dados foi realizada em software estatístico Sisvar (v.4.5) e as médias agrupadas pelo testes de Scott-Knott ($p \leq 0,05$).

Resultados e Discussão

O experimento apresentou boa precisão, tanto para a avaliação de doenças, CV de 7,27%, como para a avaliação de fenóis solúveis totais e lignina solúvel, CV de 6,89% e 5,95%, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1. Quadro resumo da análise de variância das cultivares para área abaixo da curva de progresso da severidade da doença (AACPSD), fenóis solúveis totais e lignina solúvel. Embrapa Hortaliças, Brasília - DF.

	GL	SQ	QM	F	CV(%)
AACPSD	6	6689980,58	1114996,76	879,21*	7,27
Fenóis solúveis totais	6	5,36	0,89	11,12	6,89
Lignina solúvel	6	708,78	118,13	10,64*	5,95

* Teste F, significativo a 5% de probabilidade.

As cultivares BRS Planalto e Londrina apresentaram as menores áreas abaixo da curva de progresso da severidade da queima das folhas (AACPSD) dentre as cultivares avaliadas, seguidas das cultivares BRS Esplanada, Brasília e Juliana (Figura 1). As cultivares Branca Lunar e Amarela Solar apresentaram as maiores AACPSD da doença.

As cultivares de cenoura desenvolvidas pela Embrapa Hortaliças, na sequência, Brasília, BRS Esplanada e BRS Planalto, apresentaram níveis

de resistência crescentes e superiores à cultivar híbrida Juliana e às cultivares Branca Lunar e Amarela Solar.

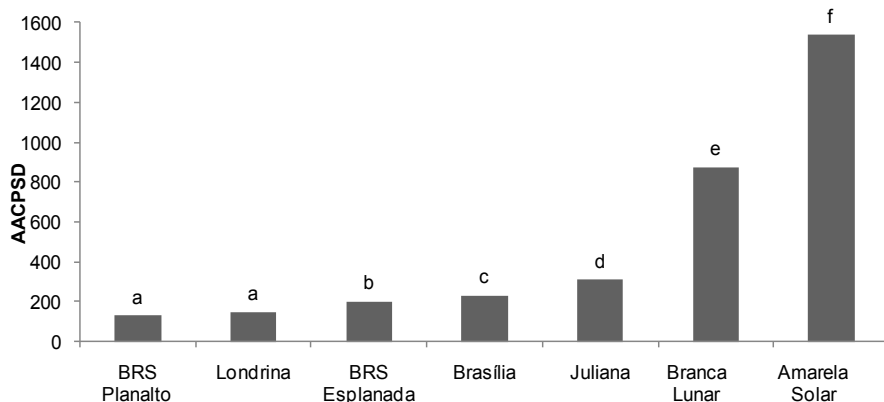


Figura 1. Área abaixo da curva de progresso da severidade da queima das folhas (AACPSD) em cultivares tradicionais de cenoura aos 92 dias após a semeadura. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Embrapa Hortaliças, Brasília - DF.

A cultivar Londrina se destacou das demais apresentando a maior concentração de fenóis nas folhas.

Com relação à concentração de lignina solúvel nas folhas, verificou-se que a cultivar Amarela Solar apresentou o menor teor de lignina solúvel dentre as cultivares, seguida de Brasília (Figura 2). As cultivares Branca Lunar, Juliana, BRS Planalto, BRS Esplanada e Londrina apresentaram concentrações de lignina superiores, sem diferirem entre si. Londrina, por ser um material indicado para plantio no verão, floresceu durante a condução do experimento, o que não era esperado (Figura 3). Tal florescimento provavelmente proporcionou um maior enrijecimento das células da plantas, levando a uma maior concentração de fenóis e lignina.

As cultivares BRS Planalto e BRS Esplanada, indicadas para plantio de verão, apresentaram concentrações de compostos fenólicos (fenóis e lignina) superiores às demais cultivares, o que provavelmente resultou na maior resistência destas cultivares à queima das folhas.

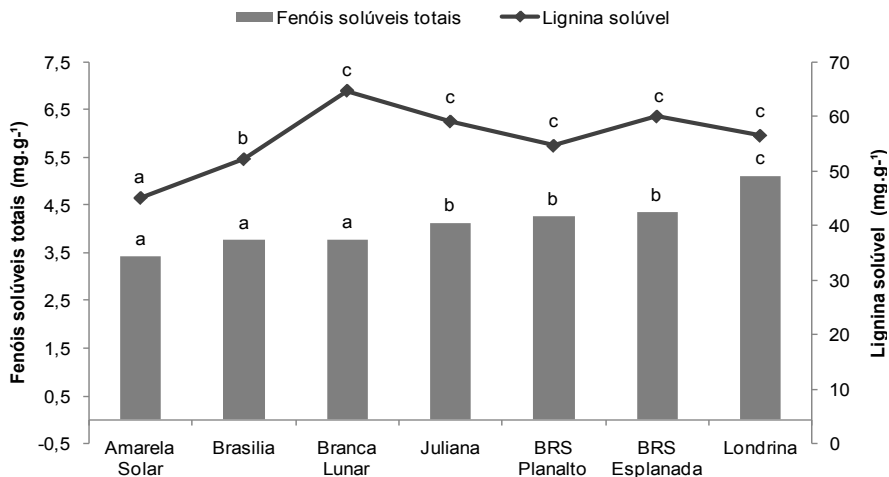


Figura 2. Concentração de fenóis e lignina solúvel totais em miligramas por gramas de matéria seca (mg.g MS^{-1}) em folhas de cenoura aos 93 dias após a semeadura. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). Embrapa Hortaliças, Brasília - DF.



Foto: Ricardo B. Pereira

Figura 3. Cultivar Londrina com inflorescências aos 92 dias após a semeadura. Embrapa Hortaliças, Brasília - DF.

Já a cultivar Brasília apresentou menor acúmulo de fenóis solúveis e concentração intermediária de lignina nas folhas em relação às demais cultivares, o que pode ter resultado em uma resistência parcial à doença dentre as cultivares avaliadas, visto que o maior acúmulo de compostos fenólicos proporciona uma maior resistência a infecção por patógenos (NICHOLSON; HAMMERSCHMIDT, 1992; AGRIOS, 2005). Provavelmente, a resistência de cultivares de cenoura à queima das folhas atribui-se, principalmente, à maior produção e acúmulo de compostos fenólicos na planta, fato observado neste trabalho.

Conclusões

As cultivares de cenoura BRS Planalto e BRS Esplanada apresentaram maiores concentrações de fenóis solúveis totais e lignina solúvel nas folhas, o que sugere a maior resistência destas à queima das folhas.

Referências

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. Boston: Elsevier, 2005. 921 p.
- ANUÁRIOS. **Estimativas de produção**. Disponível em: <<http://www.anuarios.com.br/upload/publicacaoCapitulo/pdfpt/pdf522.pdf>>. Acesso em: 31 mar. 2011.
- CAVALCANTI, L. S.; BRUNELLI, K. R.; STANGARLIN, J. R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 81-124.
- DOSTER, M. A.; BOSTOCK, R. M. Quantification of lignin formation in almond bark in response to wounding and infection by *Phytophthora* species. **Phytopathology**, St. Paul, v. 78, n. 4, p. 473-477, Apr. 1988.
- GAUBE, C.; DUBOURG, C.; PAWELEC, A.; CHAMONT, S.; BLANCARD, D.; BRIARD, M. Brûlures foliaires parasitaires de la carotte: *Alternaria dauci* sous surveillance. **PHM. Revue horticole**. n. 1, p. 15-18, 2004.
- GRASSMANN, J.; HIPPELI, H.; ELSTNER, E. F. Plant's defense and its benefits for animals and medicine: role of phenolics and terpenoids in avoiding oxygen stress. **Plant Physiology and Biochemistry**. v. 40, p. 471-478, 2002.
- HENZ, G. P.; LOPES, C. A. Doenças das apiáceas. In: ZAMBOLIN, L.; VALE, F. X. R.; COSTA, H. (Ed.). **Controle de doenças de plantas: hortaliças**. Viçosa: UFV, 2000. p. 445-522. v. 2.

MASSOLA JÚNIOR, N. S.; MARTINS, M. C.; GIORIA, R.; JESUS JÚNIOR, W. C. Doenças da cenoura (*Daucus carota*). In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p. 223-230.

MOERSCHBACHER, B. M.; NOLI, U. M.; FLOTT, B. U.; REISENER, H. J. Lignin biosynthesis enzymes in stem rust infected, resistant and susceptible near-isogenic wheat lines. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 33, n. 1, p. 33-46, 1988.

NICHOLSON, R.L.; HAMMERSCHMIDT, R. Phenolic compounds and their role in disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 30, p. 369-389, 1992.

PRYOR, B. M.; STRANDBERG, J. O.; DAVIS, R. M.; NUNEZ, J. J.; GILBERTSON, R. L. Survival and persistence of *Alternaria dauci* in carrot cropping systems. **Plant Disease**, v. 86, p.1115–22, 2002.

PUNJA, Z. K. Recent developments toward achieving fungal disease resistance in transgenic plants. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 28, p. 298-308, 2006.

SHIBATA, E. T. **Reação de cultivares de cenoura à queima das folhas, prevalência de patógenos, diversidade genética e sensibilidade de *Alternaria dauci* a fungicidas**. Brasília, Universidade Federal de Brasília, 2008, 98 p. Dissertação de Mestrado.

SPANOS, G. A.; WROLSTAD, R. E. Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. **Journal of Agricultural & Food Chemistry**, Washington, v. 38, n. 7, p. 1565-1571, July 1990.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J. Sintoma, etiologia e manejo da queima das folhas (*Alternaria dauci*; *Cercospora carotae*) na cultura da cenoura. **Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 1, p. 47-50, jan./jun., 2010.

VANCE, C. P.; KIRK, T. K.; SHERWOOD, R. T. Lignification as a mechanism of disease resistance. **Annual Review of Plant Pathology**, Palo Alto, v. 18, p. 259-288, 1980.