

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Soja
Ministério da Agricultura e Pecuária*

Eventos Técnicos & Científicos

3

Junho, 2024

RESUMOS EXPANDIDOS

39^a Reunião de Pesquisa de Soja

**26 e 27 de junho de 2024
Londrina, PR**

*Embrapa Soja
Londrina, PR
2024*

Embrapa Soja

Rodovia Carlos João Strass, acesso Orlando Amaral, Distrito de Warta
Caixa Postal 231, CEP 86001-970, Londrina, PR
Fone: (43) 3371 6000
Fax: (43) 3371 6100
www.embrapa.br/soja
https://www.embrapa.br/fale-conosco/sac/

Comitê de Publicações da Embrapa Soja

Presidente: *Adeney de Freitas Bueno*

Secretário-executivo: *Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite*

Membros: *Claudine Dinali Santos Seixas, Clara Beatriz Hoffmann-Campo, Fernando Augusto Henning, Ivani de Oliveira Negrão Lopes, Leandro Eugênio Cardamone Diniz, Maria Cristina Neves de Oliveira, Mônica Juliani Zavaglia Pereira e Norman Neumaier*

Edição executiva: *Vanessa Fuzinatto Dall'Agnol*

Normalização: *Valéria de Fátima Cardoso*

Diagramação: *Marisa Yuri Horikawa*

Organização da publicação: *Regina Maria Villas Bôas de Campos Leite, Claudine Dinali Santos Seixas*

1ª edição

Publicação digital: PDF

As opiniões emitidas nesta publicação são de exclusiva e de inteira responsabilidade dos autores, não exprimindo, necessariamente, o ponto de vista da Embrapa.

É de responsabilidade dos autores a declaração afirmando que seu trabalho encontra-se em conformidade com as exigências da Lei nº 13.123/2015, que trata do acesso ao Patrimônio Genético e ao Conhecimento Tradicional Associado.

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 Soja

Reunião de Pesquisa de Soja (39. : 2024 : Londrina, PR).

Resumos expandidos 39ª Reunião de Pesquisa de Soja, Londrina, PR, 26 e 27 de junho de 2024

-- Londrina : Embrapa Soja, 2024.

PDF (195 p.) -- (Eventos técnicos & científicos / Embrapa Soja, ISSN 0000-0000 ; 3).

1. Soja. 2. Pesquisa agrícola. I. Título. II. Série.

CDD (21. ed.) 633.34072

IDENTIFICAÇÃO DE METABÓLITOS EM GRÃOS DE SOJA COM SINTOMAS DE PODRIDÃO

PORTO, C.⁽¹⁾; ZANZARIN, D. M.⁽¹⁾; ALMEIDA, R. T. R.⁽¹⁾; AREAS, D. R.⁽¹⁾; MACRUZ, P. D.⁽²⁾; MORAES, L. A. C.⁽³⁾; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.⁽³⁾; GODOY, C. V.⁽³⁾; MEYER, M. C.⁽³⁾; PILAU, E. J.⁽²⁾

⁽¹⁾MS Bioscience, Maringá, PR; ⁽²⁾Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR;

⁽³⁾Embrapa Soja, Londrina, PR.

Introdução

Nos últimos anos, a incidência da podridão de grãos na cultura da soja aumentou, especialmente desde a safra 2018/2019 na região médio-norte de Mato Grosso e em Rondônia. Essa podridão surge durante o enchimento de grãos, manifestando-se através de sintomas de encharcamento e escurecimento das vagens e apodrecimento dos grãos. Os sintomas nas vagens e grãos surgem de maneira aleatória, não afetando necessariamente todos os grãos. A podridão dos grãos é favorecida por condições climáticas quentes e úmidas, especialmente em casos de chuvas frequentes antes da colheita (Meyer et al., 2024). Os sintomas de apodrecimento dos grãos relatados no Brasil são semelhantes aos causados pelo complexo de *Diaporthe* spp., identificado nos Estados Unidos em 1920 (Lehman, 1923). Os gêneros predominantes de fungos isolados a partir dos grãos e das vagens (com ou sem sintomas) incluem *Diaporthe*, *Fusarium* e *Colletotrichum*. Em algumas safras, também foi registrada uma alta incidência de mancha-púrpura nos grãos, causada por *Cercospora* spp. (Meyer et al., 2024).

Os metabólitos especializados (ou secundários) são produtos resultantes de reações enzimáticas provenientes da atividade celular sob uma determinada condição fisiológica. Portanto, são os melhores representantes da atividade bioquímica de um organismo. A metabolômica é uma abordagem que envolve a utilização de diferentes ferramentas para obtenção de informações sobre a composição metabólica de um determinado organismo ou grupo de organismos (Patti et al., 2012).

Nesse estudo, apresentamos a caracterização química de amostras com podridão de grãos através de abordagem metabolômica, utilizando cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (UHPLC-MS/MS) e ferramentas de bioinformática. O objetivo deste estudo foi investigar metabólitos diferenciadores e que possam auxiliar na compreensão do mecanismo desta doença.

Material e Métodos

Amostras de grãos com e sem sintomas da podridão foram coletadas de quatro cultivares de soja: Brasmax Coliseu i2x (BC), Brasmax Fibra IPRO (BF), Brasmax Nexus i2x (BN) e GH 6433 i2x (GH) em São Pedro do Ivaí/PR, em 31 de janeiro de 2024. Os grãos foram macerados com nitrogênio líquido até serem reduzidos a pó e cerca de 70 mg deste pó foi utilizado para a extração de metabólitos. A caracterização química dos extratos foi realizada usando UHPLC-MS/MS, com fonte de ionização por ESI e APCI. A separação cromatográfica foi realizada utilizando a coluna C18 e gradiente com sistema de solvente binário. Os dados foram adquiridos em triplicata de análise, no modo positivo e negativo de ionização e processados com o Software MetaboScape® (Bruker). A identificação dos biomarcadores diferenciadores foi realizada através de buscas em bibliotecas espectrais, análise dos espectros de fragmentação e inspeção manual dos resultados.

Resultados e Discussão

A partir das análises, foram observadas 1.282 entidades químicas, sendo 23,7% exclusivas dos grãos apodrecidos, 30,2% dos grãos sadios e 46,1% detectados em ambos. Dentre os compostos detectados exclusivamente nos grãos apodrecidos, 13 compostos foram caracterizados a partir da comparação com espectros disponíveis em bancos de dados (Figura 1).

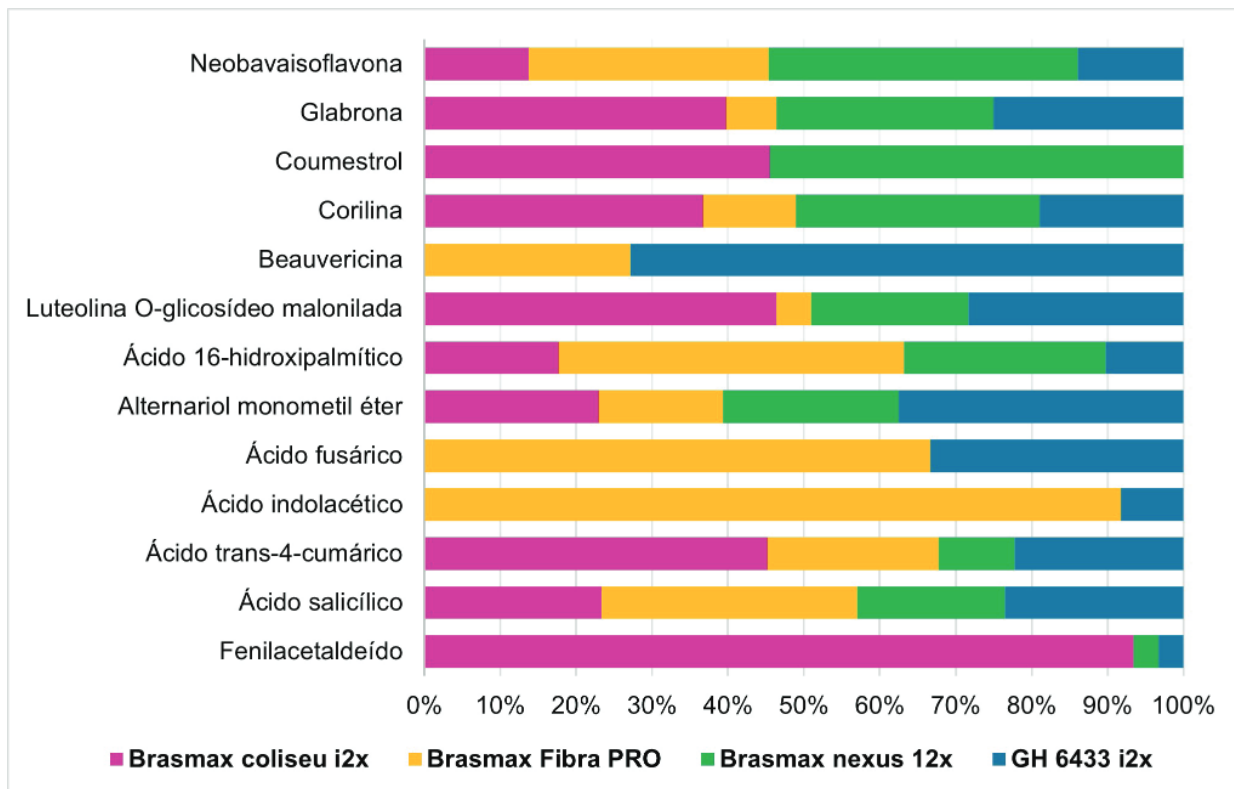


Figura 1. Intensidades dos compostos detectados exclusivamente em amostras de grãos com apodrecimento.

Os compostos beauvericina ($C_{45}H_{57}N_3O_9$) e o ácido fusárico ($C_{10}H_{13}NO_2$) foram detectadas nas cultivares BF e GH, são micotoxinas produzidas por fungos do gênero *Fusarium*, já relatadas em grãos e óleo de soja (Jestoi, 2008; Chen et al., 2017). Além disso, o metabólito fenilacetaldéido (C_8H_8O), um derivado de aminoácido, foi observado em grãos apodrecidos das cultivares BN e GH. Este metabólito tem sido associado em amostras de soja infectadas com *Phytophthora sojae*, fungo causador da doença chamada de “podridão radicular”, e pode estar associado com mecanismos de resposta de defesa da planta (Zhu et al., 2018).

O ácido salicílico ($C_7H_6O_3$), presente nas quatro cultivares analisadas, é um importante sinalizador endógeno na defesa das plantas contra patógenos, ao mesmo tempo em que influencia em seu crescimento e desenvolvimento (Rivas-San Vicente; Plasencia, 2011). Por outro lado, o ácido indolacético (AIA; $C_{10}H_9NO_2$), um importante fitohormônio detectado nas cultivares BF e GH, regula o desenvolvimento vegetal e pode ser produzido tanto por espécies vegetais como microrganismos. Estudos mostram que a infecção do trigo por *Fusarium graminearum* resulta em um aumento dos níveis de AIA nos tecidos no estágio inicial de infecção, indicando uma provável origem fúngica desse fitohormônio (Luo et al., 2016).

Os flavonoides são compostos comumente encontrados em amostras de soja, conhecidos por suas atividades antioxidantes e antimicrobianas. As isoflavonas preniladas neobavaisoflavona (derivada da daidzeína; $C_{20}H_{18}O_4$), corilina ($C_{20}H_{16}O_4$) e glabrona ($C_{20}H_{16}O_5$) foram observadas nas amostras de grãos apodrecidos de todas as cultivares. Estes compostos exibem maior lipofilicidade em comparação com suas formas não preniladas, levando a alta afinidade com membranas celulares e aumento de atividades biológicas, como potentes efeitos antimicrobianos (Ateba et al., 2019). Adicionalmente, o coumestrol ($C_{15}H_8O_5$), derivado da daidzeína, um derivado glicosilado da luteolina e o ácido cumárico ($C_9H_8O_3$), um intermediário metabólico nas vias de biossíntese de flavonóides, foram detectados em grãos apodrecidos de todas as cultivares avaliadas. Estes dados sugerem que a presença de flavonoides, especialmente formas preniladas de isoflavonoides, podem estar associados a uma resposta defensiva da soja frente à infecção, corroborando com estudos anteriormente relatados.

A presença do ácido 16-hidroxipalmítico ($C_{16}H_{32}O_3$) nos grãos apodrecidos das quatro cultivares sugere a ativação das vias metabólicas de biossíntese de cutina, suberina e cera como

resposta defensiva da soja frente à infecção. Esses compostos são formados por ácidos graxos ômega-hidróxi, incluindo o ácido 16-hidroxipalmítico, atuam como importantes interfaces planta-ambiente que protegem as plantas contra patógenos (Shi et al., 2021).

Conclusão

A análise química dos grãos de soja por meio da metabolômica revelou uma grande diversidade de compostos detectados, incluindo 13 compostos identificados de forma exclusiva nos grãos apodrecidos, como beauvericina e ácido fusárico, micotoxinas associadas ao gênero *Fusarium* spp., destacando a relevância da microbiota envolvida na patologia. A presença desses compostos nas cultivares BF e GH indica uma possível susceptibilidade comum a micotoxinas produzidas por esse gênero.

A detecção de fenilacetaldéido sugere estratégias potenciais de resistência da planta. A presença de ácido salicílico e ácido indolacético amplia nossa compreensão das vias metabólicas ativadas durante a infecção, fornecendo novas evidências sobre a presença de *Fusarium* spp. Além disso, a identificação de vários flavonoides, isoflavonas preniladas e o ácido 16-hidroxipalmítico, nas quatro cultivares avaliadas, aponta para uma resposta defensiva da soja, ativando vias metabólicas para proteção contra patógenos.

Essas descobertas não apenas ampliam nosso entendimento dos metabólitos associados à podridão de grãos, mas também destacam a necessidade de compreender o mecanismo bioquímico da doença para o desenvolvimento de estratégias agrícolas mais eficazes e ambientalmente sustentáveis.

Referências

- ATEBA, S. B.; MVONDO, M. A.; DJIOGUE, S.; ZINGUÉ, S.; KRENN, L.; NJAMEN, D. A pharmacological overview of alpinumisoflavone, a natural prenylated isoflavonoid. **Frontiers in Pharmacology**, v. 10, 00952, 2019. DOI: 10.3389/fphar.2019.00952.
- CHEN, Z.; LUO, Q.; WANG, M.; CHEN, B. A rapid method with UPLC for the determination of fusaric acid in *Fusarium* strains and commercial food and feed products. **Indian Journal of Microbiology**, v. 57, p. 68-74, 2017. DOI: 10.1007/s12088-016-0617-1.
- JESTOI, M. Emerging *Fusarium*-mycotoxins fusaproliferin, beauvericin, enniatins, and moniliformin - a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, p. 21-49, 2008. DOI: 10.1080/10408390601062021.
- LEHMAN, S. G. Pod and stem blight of soybean. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 10, n. 2, p. 111-179, 1923.
- LUO, K.; ROCHELEAU, H.; QI, P.; ZHENG, Y.; ZHAO, H. Y.; OUELLET, T. Indole-3-acetic acid in *Fusarium graminearum*: Identification of biosynthetic pathways and characterization of physiological effects. **Fungal Biology**, v. 120, n. 9, p. 1135-1145, 2016.
- MEYER, M. C.; GODOY, C. V.; MARCELINO-GUIMARÃES, F. C.; SEIXAS, C. D. S.; SOARES, R. M.; RAMOS JUNIOR, E. U.; FRANÇA NETO, J. B.; KRZYZANOWSKI, F. C.; WRUCK, D. M. S.; FARIAS NETO, A. L. de. **Quebramento de haste e podridão de grãos da soja**. Brasília, DF: Embrapa, 2024. (Embrapa. Nota técnica, s/n). Disponível em: https://www.embrapa.br/documents/1355202/1529289/Nota+Tecnica+jan2024_quebramento+e+podridao.pdf/df22bcb3-a1b9-794a-39df-bcdff0e3a0e0. Acesso em: 26 abr. 2024.
- PATTI, G. J.; YANES, O.; SIUZDAK, G. Metabolomics: the apogee of the omic trilogy. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 13, n. 4, p. 263-269, 2012. DOI: 10.1038/nrm3314.
- RIVAS-SAN VICENTE, M.; PLASENCIA, J. Salicylic acid beyond defence: its role in plant growth and development. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n. 10, p. 3321-3338, 2011. DOI: 10.1093/jxb/err031.
- SHI, X.; CHEN, Q.; LIU, S.; WANG, J.; PENG, D.; KONG, L. Combining targeted metabolite analyses and transcriptomics to reveal the specific chemical composition and associated genes in the incompatible soybean variety PI437654 infected with soybean cyst nematode HG1.2.3.5.7. **BMC Plant Biology**, v. 21, article 217, 2021. DOI: 10.1186/s12870-021-02998-4.
- ZHU, L.; ZHOU, Y.; LI, X.; ZHAO, J.; GUO, N.; XING, H. Metabolomics analysis of soybean hypocotyls in response to *Phytophthora sojae* infection. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, 1530, 2018. DOI: 10.3389/fpls.2018.01530.