

Padrão de esterase de diferentes populações do nematóide de cisto da soja

DAVI, J. de J. S.¹; GRABOWSKI, M. M. S.¹; COMERLATO, A. P.¹; FORMENTINI, H. M.¹, ANTES, V. A.¹; FURLANETTO, C.^{1*}.

¹Universidade Estadual do Oeste do Paraná/Centro de Ciências Agrárias – Marechal Cândido Rondon – PR, Brasil, 85.960-000. e-mail: cfurla@hotmail.com.

RESUMO

Objetivou-se com o presente estudo comparar o fenótipo para a isoenzima esterase em diferentes populações do Nematóide de cisto da Soja pertencentes às raças 1, 3, 6 e 14. Extratos protéicos de 1, 6 e 12 fêmeas maduras do NCS foram submetidos a eletroforese em gel de poliacrilamida 8%. Detectou-se presença de atividade para esterase a partir de extrato protéico de uma única fêmea. As diferentes raças testadas apresentaram fenótipo semelhante para esta enzima, não sendo possível a sua diferenciação por esta técnica.

Palavras-chave: *Heterodera glycines*, eletroforese de isoenzimas, esterase.

ABSTRACT

Esterase pattern in different populations of soybean cyst nematode

This study aimed at comparing the phenotype for the isoenzym esterase in different populations of soybean cyst nematode (SCN) belonging to the types 1, 3, 6 and 14. Protein extracts from 1, 6 and 12 SCN females was run on a polyacrylamide gel electrophoresis at 8%. Esterase pattern was detected even from a single female. The esterase phenotype for this enzyme was similar in all the populations tested, and so this technique was unable to differentiate the esterase pattern.

Keywords: *Heterodera glycines*, isoenzyme electrophoresis, esterase pattern.

INTRODUÇÃO

O nematóide do cisto da soja (NCS) *Heterodera glycines* Ichnohe é um dos mais sérios patógenos da cultura da soja no Brasil. No Paraná, o mesmo encontra-se disseminado em praticamente todas as regiões produtoras de soja, incluindo o Oeste do estado aonde já foi relatado em dez municípios (Franzener et al., 2005).

O estudo de variantes populacionais em nematóides formadores de cisto é particularmente importante para a adoção de medidas de controle, uma vez que parâmetros como patogenicidade e virulência são variáveis entre populações (Cares & Baldwin, 1995). Medidas de controle para este nematóide são enfocadas na resistência genética e rotação de culturas com gramíneas. A grande dificuldade do uso da resistência genética para o controle deste nematóide reside no aparecimento de novas raças fisiológicas (Yorinori, 1994).

Técnicas moleculares com base na análise de DNA e/ou proteínas vêm sendo utilizadas no estudo da variabilidade genética de populações de diferentes organismos (Carvalho et al., 2001). Objetivou-se com o presente trabalho estudar a variabilidade genética de populações do NCS pertencentes a diferentes raças, com base no fenótipo da isoenzima esterase.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção de populações do NCS

As populações do NCS utilizadas nesse estudo foram obtidas a partir de amostras de solo enviadas ao laboratório de Nematologia da UNIOESTE. Ovos e J2 extraídos de cistos individuais foram inoculados em vasos contendo plantas de soja e mantidos em casa de vegetação a temperatura de 25 a 28 °C. As determinações das raças das populações foi realizada mediante a reação em plantas hospedeiro-diferenciadoras de acordo com Riggs & Schmitt (1988).

Eletroforese de isoenzimas

Fêmeas maduras do NCS foram maceradas e homogeneizadas em tampão fosfato de sódio a 2%. Extrato protéico de uma, seis e doze fêmeas do NCS, pertencente a cada uma das 4 raças testadas, foi submetido a corrida eletroforética por 1 hora e 15 minutos em aparelho vertical modelo MGV-202 (Biosystems). Foram aplicados 20 µl de amostra por cavidade de gel de poliacrilamida a 8%. Após a corrida, o gel foi imerso em tampão fosfato de sódio pH 6,2 e mantido a 25 °C sob leve agitação (50 rpm) por 30 minutos, sendo então incubado em solução corante de α -naftil acetato e corante fast blue RR por 1 h a 30 °C. A solução corante foi removida e o gel colocado em solução descorante até obter-se uma nítida visualização das bandas. Após a descoloração, o gel foi imerso em solução secadora por 3 minutos, envolto em papel celofane e seco a temperatura ambiente, de acordo com Esbenshade & Triantaphyllou (1990).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostraram a presença de atividade para a isoenzima esterase para as diferentes populações do NCS testadas, mesmo com a utilização de extrato protéico de uma única fêmea (Figura 1). Porém, bandas mais intensas foram visíveis com extrato protéico obtido de 6 ou 12 fêmeas. Resultado similar foi relatado por Formentini (2006) a partir de extratos protéicos de *Meloidogyne* spp. A técnica eletroforese de isoenzimas pode ser utilizada para a diferenciação inter e intra-específica de organismos. No entanto, para as raças testadas, não houve diferença no padrão de esterase, havendo a formação de apenas uma banda com Mobilidade Relativa semelhante (MR= 0,2) (Fig. 1).

Outras técnicas têm sido utilizadas no estudo da variabilidade genética de populações de nematóides formadores de cisto como RAPD (Abdelnoor et al., 2001; Da Conceição et al., 2003) e Focalização Isoelétrica (ANDRÉS et al., 2001), as quais podem ser objeto de estudo futuro para as raças testadas neste estudo.

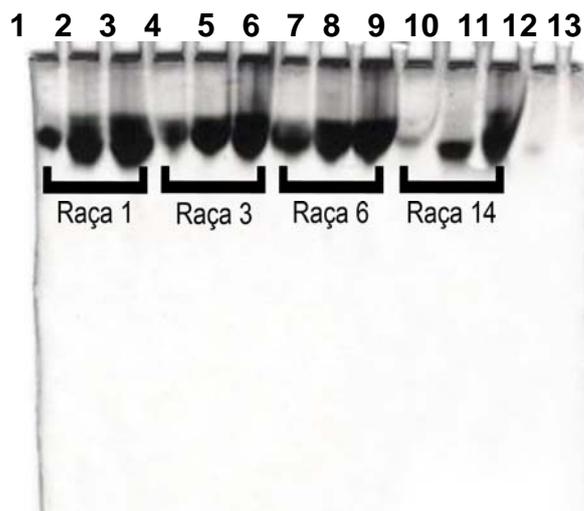


Figura 1. Padrão de esterase obtido para as raças 1, 3, 6 e 14 do NCS. Poços 1, 4, 7 e 10 – uma fêmea; poços 2, 5, 8 e 11 – seis fêmeas; poços 3, 6, 9 e 12 – doze fêmeas; *Contaminação com proteína no poço 13.

CONCLUSÕES

Detectou-se atividade para a isoenzima esterase em diferentes populações do NCS. No entanto, o perfil de esterase foi semelhante para as diferentes populações testadas, não permitindo a sua diferenciação.

REFERÊNCIAS

FRANZENER, G.; UNFRIED, J. R.; STANGARLIN, J. R.; FURLANETTO, C.. Nematóides formadores de galha e de cisto patogênicos à cultura da soja no Oeste do Paraná. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v. 29, n. 2, p. 261-265. 2005.

FORMENTINI, H. M.. **Fenótipo isoenzimático de fêmeas individuais, de formas juvenis de segundo estágio e de massa de ovos de *Meloidogyne javanica* e *M. incognita***. Trabalho de conclusão de curso, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2006.

CARES, J. E.; BALDWIN, J. G.. Nematóides formadores de cistos do gênero *Heterodera*. **Revisa Anual de Patologia de Plantas** v. 3, p. 29-84, 1995.

YORINORI, J. T.. Epidemiologia e controle do nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines* Ichinohe). **Informativo ABRATES**, v. 4, n. 2, p. 38-45. 1994.

ANDRÈS, M. F; ROMERO M. D; MONTES, M. J; DELIBES, A. Genetic relationships and isozyme variability in the *Heterodera avenae* complex determined by isoelectrofocusing. **Plant Pathology**, BSPP, v. 50, p. 270-279, 2001.

CARVALHO, O. S.; CALDEIRA, R. L.; SIMPSON, A. J. G.; VIDIGAL, T. H. D. A. P. R. Genetic Variability and molecular identification of Brazilian *Biomphalaria* species (Mollusca: Planorbidae). **Parasitology**, v. 123, p. 197-209, 2001.

ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, A. C.. Isozyme phenotypes for the identification of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, APS, 22:10-15. 1990.

ABDELNOOR, R. V.; DIAS, V. P.; VELOSO, J. F; MARIN, S. R. R., KIIHL, R.A. de S. Caracterização molecular de populações do nematóide-de-cisto-dasoja com diferentes índices de parasitismo na cultivar Hartwig. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 2, 1-11, 2001.

RIGGS, R. D.; SCHMITT, D. P.; NOEL, G. R. Variability in race tests with *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, St. Paul, MN, v.20, n.4, p.565-572, 1988.