

ATIVIDADE DA GUAIACOL PEROXIDASE DE *Macroptilium lathyroides* (L.) URB. NATURALMENTE INFECTADA POR OÍDIO

Allinny Luzia Alves Cavalcante¹
Anne Caroline Almeida Gonçalves²
Jéssica Nayara Costa e Silva³
Hailton da Silva Barboza⁴
Francisco Fábio Mesquita Oliveira⁵

INTRODUÇÃO

Muitas plantas passam por mudanças bioquímicas significativas em resposta ao ataque de estressores bióticos, e apresentam mecanismos de defesa que incluem a resposta de hipersensibilidade, produção de fitoalexinas e proteínas relacionadas à patogênese, fluxo de íons através da membrana plasmática, produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), lignificação e fortalecimento da parede celular através da deposição de proteínas e caloses (HILDEBRAND et al., 1986; ALMAGRO et al., 2009).

Os microrganismos, particularmente os fúngicos, afetam a sobrevivência dos seus hospedeiros vegetais e, por consequência, o tamanho e a estrutura genética das populações de plantas (BAGCHI et al., 2010). De modo geral, fungos fitopatogênicos abrangem extenso grupo de microrganismos, ocupando posições de grande importância nos sistemas agrícolas e em comunidades naturais de plantas e essa interação altera os diferentes atributos fisiológicos e bioquímicos das plantas, afetando todo o metabolismo vegetal (BURDON & SILK, 1997; BRETAG et al., 2006).

O oídio, causado por ascomicetos, é uma das doenças mais importantes tanto do ponto de vista econômico como do ponto de vista ecológico, em função de muitas espécies de oídio infectando diversas espécies de plantas hospedeiras (DELIERE et al., 2010; PINTYE et al., 2015). O termo “oídios” tem sido usado tanto para designar a doença como também o grupo de fungos Ascomycota, pertencentes, à ordem Erysiphales, família Erysiphaceae, parasitas biotróficos obrigatórios de plantas, formadores de colônias esbranquiçadas de aspecto pulverulento sobre as superfícies de partes aéreas de plantas (STADNIK & RIVERA, 2001). Devido à sua natureza obrigatória e biotrófica, o estudo da diversidade genética e da estrutura populacional deste patógeno fúngico tem sido difícil (STUMMER et al., 2000). O termo também descreve a forma imperfeita em que se encontram os esporos dos patógenos que provocam essa doença, forma esta também denominada de anamórfica (STADNIK & RIVERA, 2001). A doença é amplamente distribuída entre plantas cultivadas e silvestres que possuem a capacidade de atuar como hospedeiros alternativos. Além disso uma mesma espécie de *Oidium* pode infestar vários hospedeiros (SILVA et al., 2001). Esta flexibilidade adaptativa assegura a

¹ Mestranda do Curso de Fitotecnia da Universidade Federal Rural do Semi-árido - UFERSA, cavalcanteallinny@gmail.com;

² Graduada pelo Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte - UERN, annegoncalves.c.a@gmail.com;

³ Graduada pelo Curso de Licenciatura em Química da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte - UERN, jessica_nayara20@gmail.com;

⁴ Graduado pelo Curso de Agronomia da Universidade Federal Rural do Semi-árido - UFERSA, hsbarboza@hotmail.com;

⁵ Mestre pelo Curso de Ciências Naturais da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte - UERN, ffabiomesquita@gmail.com;

sua sobrevivência em ambientes cujos hospedeiros preferenciais estejam ausentes, sendo as plantas espontâneas muitas vezes o principal veículo de sobrevivência destes fungos nestas áreas.

A espécie *Macroptilium lathyroides* (L.) Urb., ocorre naturalmente no Bioma Caatinga, onde é vulgarmente conhecida como feijão-de-rola, pertencente à família Fabaceae (alt. Leguminosae), nativa da América Tropical. A referida espécie, apresenta potencial para ocupar áreas degradadas por saís onde outras plantas não teriam condições de crescimento, podendo ser considerada uma alternativa economicamente viável para a recuperação da capacidade produtiva dessas áreas em função da sua capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico, podendo ser utilizada ainda como adubo verde, como um banco de proteína e também ser conservada principalmente como feno, para ser fornecido aos animais na época de escassez de forragem (VASCONCELOS et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2013). Embora seja altamente adaptável a diversos ambientes, não está totalmente imune de contrair doenças, principalmente bióticas.

Diante disso, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito de *Oidium* sp. sobre *M. lathyroides*, com o intuito de aumentar a compreensão do impacto da infecção natural sobre a atividade da enzima oxidoreductora guaiacol peroxidase.

METODOLOGIA

As amostras foliares da espécie *M. lathyroides* infectadas por *Oidium* sp. foram coletadas em ambiente natural nas dependências da Universidade do Estado do Rio Grande do Norte – UERN, no município de Mossoró a qual está situada nas coordenadas geográficas de 5° 12' 18,25" Sul, 37° 18' 53,10" Oeste, com temperaturas médias em torno dos 27 °C, mínimas de 18 °C e máximas chegando aos 39 °C, e precipitação pluviométrica bastante irregular, no espaço e no tempo, sendo a média pluviométrica anual de 667,4 mm/ano, com ocorrência de precipitação mínima registrada de 145,2 mm/ano, variando até uma máxima de 2.065,7 mm/ano (JALES, 2009).

Após colhidas, as amostras foram acondicionadas em saco plástico tipo *zip lock*, refrigeradas e levadas ao laboratório para a realização das análises. Para a avaliação da atividade da guaiacol peroxidase (GPOX), utilizou-se a metodologia descrita por Teisseire & Guy (2000), onde foi misturado diretamente na cubeta de leitura 400 µL de guaiacol a 1%, 400 µL de peróxido de hidrogênio 10 mM, 1000 µL de tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 6,5) e 25 µL do extrato enzimático previamente obtido por extração em tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7,8) + EDTA (\cong 0,2 g de tecido foliar utilizado). O acompanhamento da atividade da GPOX foi realizado através do acompanhamento do aumento da absorbância das amostras a 470 nm a cada 30 segundos, durante 1 minuto. Fez-se necessário determinar as proteínas, através da metodologia proposta por Bradford (1976), para realizar os cálculos da atividade enzimática avaliada. Os resultados foram expressos em unidade de atividade por miligrama de proteínas totais solúveis por grama de matéria fresca (U mg⁻¹ PTS g⁻¹ MF).

As plantas utilizadas no experimento foram selecionadas inteiramente ao acaso, onde foram coletadas 10 amostras (folhas) de plantas naturalmente infectadas e 10 amostras de plantas não infectadas. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk, seguido da análise de variância, com aplicação do teste F a 1% de probabilidade, mediante utilização do *software* ASSISTAT®, versão 7.7 beta (SILVA, 2015).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As peroxidases (POX) são uma classe de enzimas presentes em tecidos de animais, plantas e microrganismos, que catalisam a oxidoredução entre H₂O₂ e vários redutores, participando de uma ampla variedade de processos fisiológicos nas plantas, tais como a

lignificação, suberização, formação e reticulação de componentes da parede celular, catabolismo de auxinas, senescência, proteção contra ataque de patógenos, insetos e estressores abióticos (BEZERRA, 2016).

Os resultados mostram que houve um aumento acentuado da GPOX em decorrência da infecção por oídio ($0,088 \text{ U mg}^{-1} \text{ PTS g}^{-1} \text{ MF}$ no tecido sadio e $0,188 \text{ U mg}^{-1} \text{ PTS g}^{-1} \text{ MF}$ no tecido infectado), com influência significativa ($F_{1,18} = 66,3533$; $p \leq 0,001$) da interação planta-patógeno. Aumento da peroxidase solúvel em folhas de *Lycopersicon chmielewskii* C. M. Rick, Kesicki, Fobes & M. Holle infectadas pelo *Oidium neolycopersici* L. Kiss., assemelham-se aos resultados obtidos (MLÍCKOVÁ et al., 2004). Resultados semelhantes também foram encontrados em plantas de pepino, onde houveram picos da atividade de peroxidases aos 9 dias após a infecção por *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler e aos 12 dias após a infecção por *Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Ellis & Halst (DI PIERO & PASCHOLATI, 2004). Na análise das respostas bioquímicas de plântulas de colza após inoculação de esporos de *Phoma lingam* (Tode ex Schw.) Desm. (*Leptosphaeria maculans* (Sowerby) P. Karst.), foi observado que somente 72 horas após a inoculação houve aumento na atividade de peroxidase em decorrência da alta produção de H_2O_2 que ativou o sistema de defesa da planta (IVANOVA et al., 1991). O aumento da produção de H_2O_2 está correlacionado com o aumento da atividade de peroxidases, incluindo a GPOX (TOMANKOVÁ et al., 2006).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados, é razoável concluir que a infecção afetou negativamente o aparato bioquímico da planta, resultando na liberação de EROs, em função do aumento ocorrido na guaiacol peroxidase. Estes resultados podem contribuir para pesquisas adicionais envolvendo os mecanismos de interação *M. lathyroides*-oidio, uma vez que, dados morfológicos detalhados, bem como os mecanismos de infecção do oídio e resistência na espécie vegetal em questão são desconhecidos.

Palavras-chave: Enzimas oxidorrredutoras, Fungos fitopatogênicos, Hospedeiros alternativos, Oídio, Respostas de defesa.

REFERÊNCIAS

- ALMAGRO, L.; GÓMEZ-ROS, L. V.; BELCHI-NAVARRO, S.; BRU, R.; ROSBARCELO, A. & PEDREÑO, M. A. Class III peroxidases in plant defence reactions. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 377-390, 2009.
- BAGCHI, R., SWIFIELD, T., GALLERY, R. E., LEWIS, O. T., GRIPENBERG, S., NARAYAN, L. & FRECKLETON, R. P. Testing the Janzen-Connell mechanism: pathogens cause over compensating density dependence in a tropical tree. **Ecol. Lett.** v. 13, p. 1262-1269, 2010.
- BEZERRA, E. A. **Respostas bioquímicas comparativas de genótipos suscetíveis e resistentes de feijão-de-corda [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] desafiados com o vírus do mosaico severo do caupi (CPSMV)**. 2016. 91 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.
- BRADFORD, M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRETAG, T. W., KEANE, P. J. & PRICE, T. V. The epidemiology and control of ascochyta blight in field peas: a review. **Aust. J. Agric. Res.** v. 57, p. 883-902, 2006.

BURDON, J. J. & SILK, J. Sources and patterns of diversity in plant pathogenic fungi. **Phytopathology**, v. 87, p. 664-669, 1997.

DELIERE, L., MICLOT, A. S., SAURIS, P., REY, P. & CALONNEC, A. Efficacy of fungicides with various modes of action in controlling the early stages of an *Erysiphe necator*-induced epidemic. **Pest Manag. Sci.** v. 66, p. 1367-1373, 2010.

DI PIERO, R. M. & PASCHOLATI, S. F. Indução de resistência em plantas de pepino contra *Colletotrichum lagenarium* pela aplicação de extratos de basidiocarpos de *Lentinula edodes* e de *Agaricus blazei*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 30, p. 243-250, 2004.

HILDEBRAND, D. F.; RODRIGUEZ, J. G.; BROWN, G. C.; LUU, K. T. & VOLDEN, C. S. Peroxidative responses of leaves in two soybean genotypes injured by twospotted spider mites (Acari: Tetranychidae). **Journal Economic Entomology**, v. 79, p. 1459-1465, 1986.

IVANOVA, D. G.; GUGHOVA, N. V.; MERZLYAK, M. N. & RASSADINA, G. V. Effect of *Phytophthora infestans* infection on superoxide dismutase dependent cytochrome c - reducing activities of leaves as related to resistance of potato plants to late blight. **Physiology and Biochemistry**, Moscow, v. 78, p. 151-156, 1991.

JALES, A. G. de O. **Cultivo da alface em sistemas hidropônicos utilizando rejeito da dessalinização da água**. 2009. 64 f. Dissertação (Mestrado em Irrigação e Drenagem) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró.

MLÍCKOVÁ, K.; LUHOVÁ, L.; LEBEDA, A.; MIESLEROVÁ, B. & PEC, P. Plant Reactive oxygen species generation and peroxidase activity during *Oidium neolycopersici* infection on *Lycopersicon* species. **Plant Physiology and Biochemistry**, New Delhi, v. 42, p. 753-761, 2004.

NASCIMENTO, M. A. do; ABREU, W. C. & BONILLA, O. H. Análise comparativa das taxas de crescimento absoluto e relativo da halófito *Macroptilium lathyroides* (Fabaceae) testada para o uso em fitorremediação. In: Congresso Nacional de Botânica, 64., 2013, Belo Horizonte. **Anais**. 2013.

PINTYE, A., ROPARS, J., HARVEY, N., SHIN, H-D., LEYRONAS, C. & NICOT, P. C. Host Phenology and Geography as Drivers of Differentiation in Generalist Fungal Mycoparasites. **PLoS One**, v. 10, n. 3, 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120703>.

SILVA, F. A. S. ASSISTAT version 7.7 beta: Assistance Statistics. 2015. Department of Agricultural Engineering CTRN – Federal University of Campina Grande, Campina Grande. Disponível em: <<http://www.assistat.com/index.html>>. Acesso em: 01 mar. 2017.

SILVA, M. D. D.; ALFENAS, A. C.; MAFFIA, L. A. & ZAUZA, E. A. V. Etiologia do oídio do eucalipto. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 201-205, 2001.

STADNIK, M. J. & RIVERA, M. C. **Oídios**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente. 484 p. 2001.

STUMMER, B. E.; ZANKER, T.; SCOTT, E. S. & WHISSON, D. L. Genetic diversity in populations of *Uncinula necator*: comparison of RFLP- and PCR-based approaches. **Mycological Research**, v. 104, p. 44-52, 2000.

TEISSEIRE, H. & GUY, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes' activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*). **Plant Science**, v. 153, p. 65-72, 2000.

TOMANKOVÁ, K.; LUHOVÁ, L.; PETRIVALSKÝA, M.; PECA, P. & LEBEDAB, A. Biochemical aspects of reactive oxygen species formation in the interaction between *Lycopersicon* spp. and *Oidium neolycopersici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 68, p. 22-32, 2006.

VASCONCELOS, W. A.; SANTOS, E. M.; ANDRADE, A. P.; BRUNO, R. L. A. & EDVAN, R. L. Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de figo de pombo (*Macrotidium lathyroides*). **Revista Trópica**, v. 5, n. 1, p. 3-11, 2011.