



**EFEITO DO AUMENTO SIMULADO DA RADIAÇÃO UV-B NA EXPRESSÃO DA
PEROXIDASE NA INTERAÇÃO MORANGUEIRO X *Botrytis cinerea* X *Clonostachys rosea*
EM CAMPO***

**KÁTIA DE LIMA NECHET¹, ELKE SIMONI DIAS VILELA², BERNARDO DE ALMEIDA
HALFELD-VIEIRA³, WAGNER BETTIOL⁴**

¹ Pesquisador, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP, nechet@cnpmma.embrapa.br

² Analista, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP, elke@cnpmma.embrapa.br

³ Pesquisador, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP, halfeld@cnpmma.embrapa.br

⁴ Pesquisador, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP, bettiol@cnpmma.embrapa.br

RESUMO: Com a diminuição da camada de ozônio espera-se um aumento da radiação UV-B (290-315 nm). Os estudos sobre o efeito da radiação UV-B em patossistemas são limitados principalmente em condições de campo. O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito do aumento simulado da radiação UV-B na expressão da enzima peroxidase na interação morangueiro x *Clonostachys rosea* x *Botrytis cinerea* em condições de campo. O experimento foi conduzido durante 15 dias em parcelas subdivididas em três condições de radiação (1. Ambiente; 2. Ausência de radiação e 3. Aumento de radiação suplementada por lâmpadas) e quatro tratamentos (1. Testemunha, 2. Plantas inoculadas com *C. rosea*; 3. Plantas inoculadas com *B. cinerea* e 4. Plantas inoculadas com ambos microrganismos). A atividade da peroxidase foi determinada por espectrofotômetro a 470 nm. Os resultados expressos em unidades de PO. mg⁻¹ tecido.min⁻¹ demonstraram que a radiação UV-B natural e a suplementada por lâmpadas reduziram a atividade da peroxidase em plantas inoculadas com ambos microrganismos.

PALAVRAS-CHAVE: *Fragaria* x *ananassa*, fitopatôgeno, biocontrole, mudanças climáticas.

INTRODUÇÃO

Dentre a radiação ultravioleta que incide sobre a superfície terrestre, 95% é composta pela radiação UV-A (315-400 nm) e 5% pela radiação UV-B (290-315 nm). Parte da radiação UV-B é filtrada pela camada de ozônio e outros gases atmosféricos e com a diminuição da camada de ozônio espera-se o aumento da radiação UV-B (MADRONICH et al., 1995). Essa radiação tem um potencial de causar efeitos em moléculas biologicamente ativas, pois é absorvida diretamente por ácidos nucleicos, lipídios e proteínas, o que leva à formação de vários tipos de fotoprodutos que comprometem a estrutura e a função dessas macromoléculas (KUNZ et al., 2007).

Em plantas esse efeito está sendo relacionado a alterações na morfogênese (ROZEMA et al., 1999) e em fungos fitopatogênicos ao dano direto da radiação (PAUL, 2000). Para doenças de plantas ambos os fatores são importantes e podem alterar a importância econômica do patossistema em um cenário de mudança climática. Manning e Tiedemann (1995) relatam que o principal efeito do aumento do UV-B em doenças de plantas é via alterações do hospedeiro, como redução da fotossíntese, amadurecimento e senescência precoce o que resultaria em redução de doenças causadas por fungos biotróficos e aumento daquelas causadas por fungos necrotrofos. Entretanto, os estudos ainda são limitados a poucos patossistemas e as informações disponíveis são oriundas de estudos em condições controladas o que torna muitas vezes difícil de correlacionar com o cenário real (PAUL, 2000).

No Brasil, o mofo cinzento, causado pelo fungo *Botrytis cinerea* Pers.:Fr. é uma das mais importantes doenças do morangueiro (*Fragaria* x *ananassa* Duch.), ocasionando perdas tanto em condições de campo como em pós-colheita, chegando a destruir 70% dos frutos (TANAKA et al., 2005). O fungo tem capacidade de esporulação abundante em tecido vegetal morto ou senescente (HAUSBECK; MOORMAN, 1996) e como estratégia alternativa ao uso de fungicidas como método de controle, o fungo *Clonostachys rosea* (Link:Fr.) Schoers, Samuels, Siefert e W. Gams vem sendo

* Parte integrante de resumo apresentado no 45 Congresso Brasileiro de Fitopatologia

utilizado como um antagonista que controla *B. cinerea* eficientemente em condições de campo, reduzindo a esporulação do patógeno e consequentemente a infecção de flores e frutos (VALDEBENITO-SANHUEZA et al., 1997).

A radiação UV-B produz estresse oxidativo em plantas pelo aumento de espécies de oxigênio ativas como o peróxido de hidrogênio que é uma molécula sinalizadora na resposta das plantas ao estresse biótico e abiótico (NEILL et al., 2002). Peroxidases são enzimas que catalizam o peróxido de hidrogênio e estão relacionadas à resposta de hipersensibilidade (HR) da planta à infecção por patógenos (MARTINEZ et al., 1998). Estudos sobre as modificações no patossistema são fundamentais para prever adoção de medidas mitigadoras em futuros cenários de mudanças climáticas.

O objetivo desse trabalho foi estudar o efeito do aumento simulado da radiação UV-B na expressão da enzima peroxidase na interação morangueiro x *Clonostachys rosea* x *Botrytis cinerea* em condições de campo.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em área da Embrapa Meio Ambiente em parcelas subdivididas no delineamento experimental em blocos casualizados. Cada parcela foi representada por uma estrutura de aço galvanizado (2,62x1,71x1,30m) com base para oito lâmpadas distanciadas 26 cm. O fator principal foi a radiação distribuídas nos tratamentos: A. com irradiação UV-B e UV-A proveniente de lâmpadas e do sol (UV-B+); B. com irradiação UV-B e UV-A apenas solar (Ambiente); C. sem nenhuma radiação ultravioleta (UV-B-) obtido pelo uso de Filme de Poliéster Cristal tipo OD 125 micra da DuPont que bloqueia a radiação UV-B e UV-A.

No tratamento com suplementação de radiação UV-B utilizaram-se lâmpadas fluorescentes (Modelo UV, marca Q-Lab Corporation) protegidas com filme Acetato de Celulose tipo cristal 0,10 mm para prevenção da exposição à radiação UV-C, proveniente das lâmpadas (Figura 1A). A potência das lâmpadas de UV-B juntamente com a radiação UV-B solar do meio ambiente foram medidas usando o espectrofotômetro da Ocean Optics[□]. O ajuste das lâmpadas permitiu simular o aumento da radiação UV-B em relação ao ambiente conforme o gráfico da Figura 1B através do uso de temporizadores programáveis instalado em painéis elétricos. As lâmpadas foram acesas das 09:00 às 17:00 hs e forneceram 255 mW m⁻² em média de radiação.

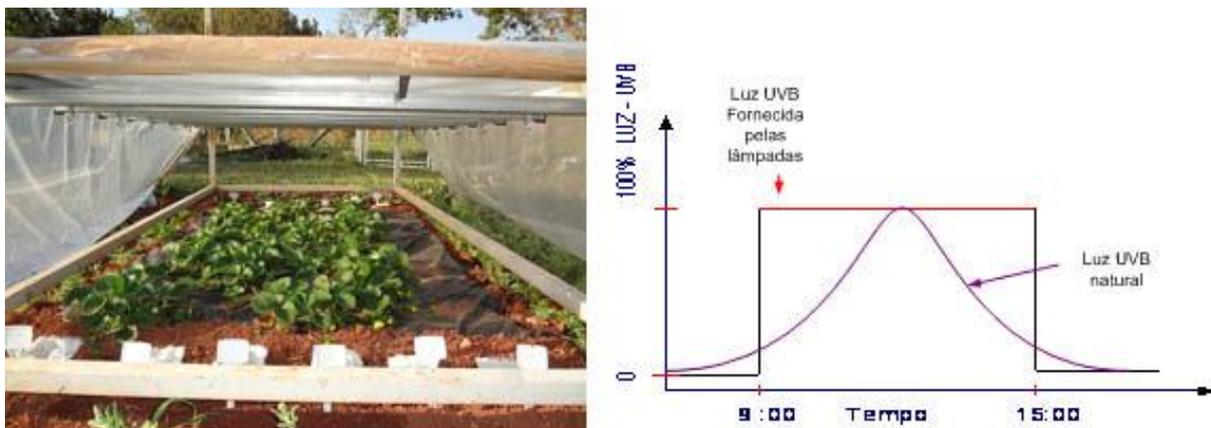


FIGURA 1. A. Parcela em estrutura de aço galvanizado com base para lâmpadas fluorescentes para suplementação da radiação UV-B em condições de campo. B. Comparativo da curva de exposição de luz UV-B proveniente das lâmpadas e da radiação solar.

Na área abaixo de cada estrutura foram transplantadas 20 plantas de morangueiro cv. Oso Grande e no estágio de florescimento foram instalados os tratamentos das subparcelas: 1. Plantas pulverizadas com água; 2. Plantas inoculadas com uma suspensão de 10^7 conídios de *C. rosea*/ml; 3. Plantas inoculadas com uma suspensão de 10^7 conídios de *B. cinerea*/ml, 4. Plantas inoculadas com *C. rosea* e após 24 hs com *B. cinerea* nas mesmas concentrações indicadas nos tratamentos 2 e 3. Após a inoculação do patógeno as lâmpadas foram acesas e o experimento foi conduzido durante 15 dias.

No final do experimento amostras do tecido vegetal de três plantas de cada tratamento secundário foram coletadas aleatoriamente e utilizadas para o preparo do extrato vegetal seguindo a metodologia de Baracat-Pereira et al. (2001) com modificações. A atividade de peroxidase (PO) foi determinada pelo método espectrofotométrico em comprimento de onda de 470 nm (Hammerschmidt et al., 1982) e os resultados foram expressos em unidades de PO. mg^{-1} tecido. min^{-1} , admitindo-se que uma unidade de PO equivale ao incremento de absorbância de 0,01. min^{-1} .

Os dados obtidos foram analisados pelo programa SAS versão 9.1 utilizando o proc GLM e teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Plantas mantidas na condição de ausência de radiações UV-A e UV-B (UV-B-) e inoculadas com *C. rosea* e 24 hs após com *B. cinerea* (C+B) apresentaram atividade de PO significativamente superior às plantas inoculadas apenas com os microrganismos isoladamente (CR e BC) seguido das plantas testemunhas (Figura 2) correspondendo a uma resposta típica de indução de resistência pelo agente de biocontrole associado ao patógeno. Nas demais condições, radiação do ambiente (Ambiente) e radiação suplementada por lâmpadas (UV-B+) a atividade de PO foi a mesma para todas as plantas independente do tratamento a que foram submetidas.

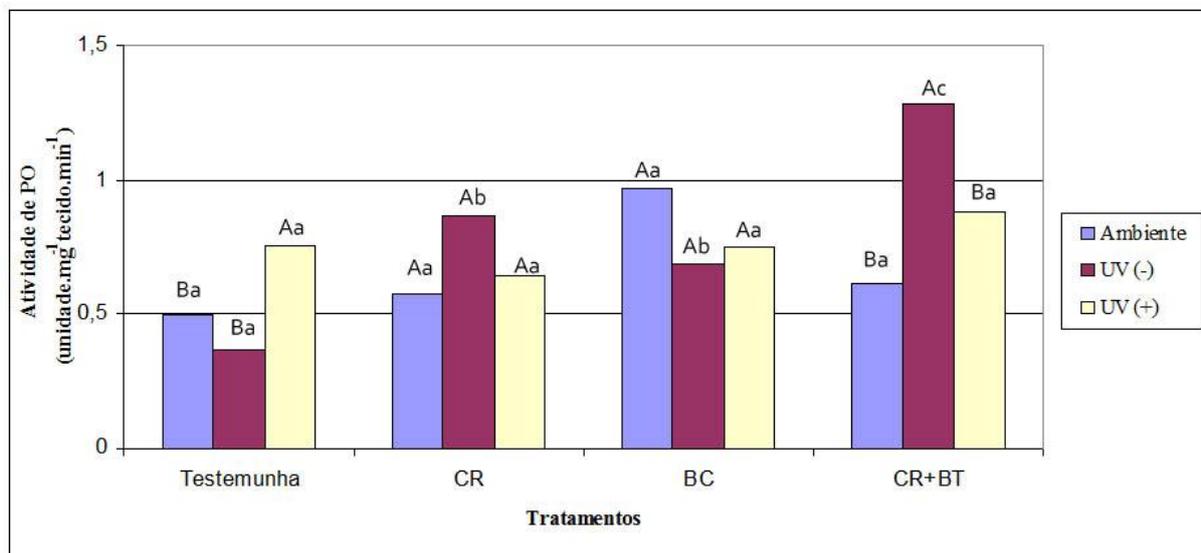


FIGURA 2. Atividade de peroxidases (PO) determinada em amostras de plantas de morangueiro pulverizadas com água (Testemunha), inoculadas com *Clonostachys rosea* (CR), inoculadas com *Botrytis cinerea* (BC) e inoculadas com ambos microrganismos (C+B) e mantidas nas condições de radiação ambiente (Ambiente), ausência de radiação UV-B e UV-A (UV-B-) e aumento de radiação UV-B suplementada por lâmpadas (UV-B+). Médias seguidas pela mesma letra minúscula entre tratamentos dentro da condição de radiação e pela mesma letra maiúscula entre condições de radiação dentro do mesmo tratamento não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os valores representam a média de três repetições. CV=24%.

Esse resultado indica que a radiação UV-B interferiu na indução da produção de peroxidase que constitui um dos primeiros eventos na interação planta-patógeno (COOK et al., 1995). Resultados variados têm sido demonstrados em relação à atividade da peroxidase em condições de suplementação de radiação UV-B. Costa et al., (2002) verificaram o efeito deletério da radiação UV-B no sistema de enzimas antioxidantes em girassol enquanto outros trabalhos evidenciam o estímulo da peroxidase nessas condições (REN et al., 2006; TEGELBERG et al., 2008). Esses resultados contraditórios estão relacionados às condições experimentais e genótipo e espécie da planta estudada. Em nosso estudo as plantas testemunhas mantidas em condições de suplementação de radiação (UV-B+) apresentaram atividade de peroxidase maior que as testemunhas dos tratamentos Ambiente e UV-B-. Entretanto,

essa atividade não aumentou em função da inoculação com patógeno e agente de biocontrole como esperado.

Pelos resultados obtidos apenas a radiação UV-B solar do meio ambiente já foi suficiente para interferir na resposta de reação de defesa das plantas.

CONCLUSÕES

A radiação UV-B solar e a suplementada por lâmpadas reduziram a atividade de peroxidase de plantas de morangueiro.

REFERÊNCIAS

BARACAT-PEREIRA, M.C.; OLIVEIRA, M.G.A.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A.; SANTORO, M.M. Biochemical properties of soybean leaf lipoxygenases: presence of soluble and membrane-bound forms. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.39, n.2, p. 91-98, 2001.

COOK, D.; DREYER, D.; BONNETI, D.; HOWELL, M.; NONY, E.; VAN DEN BOSCH, K. Transient induction of a peroxidase gene in *Medicago truncatula* precedes infection by *Rhizobium meliloti*. **The Plant Cell**, v.7, p.43-55, 1995.

COSTA, H.; GALLEGO, S.M.; TOMARO, M.L. Effect of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. **Plant Science**, v. 162, 939-945, 2002.

HAMMERSCHMIDT, R.; NUCKLES, E.; KUC, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**, v.20, p. 73-80, 1982.

HAUSBECK, M.K.; MOORMAN, G.W. Managing *Botrytis* in green-house-grown flower crops. **Plant Disease**, v.80, p.1212-1219, 1996.

KUNZ, B. A.; CAHILL, D. M.; MOHR, P. G.; OSMOND, M. J. ; VONARX, E. J. Plant responses to UV radiation and links to pathogen resistance. **International Rev Cytol**, v. 255, p. 1-40, 2007.

MADRONICH, S.; MCKENZIE, R.L.; CALDWELL, M.M.; BJORN, L.O. Changes in ultraviolet radiation reaching the earth's surface. **Ambio**, v. 24, p.143-152, 1995.

MANNING, W.J.; TIEDMANN, A. V. Climate change: potential effects of increased atmospheric carbon dioxide (CO₂), ozone (O₃), and ultraviolet-B (UV-B) radiation on plant diseases. **Environmental Pollution**, v.88, p. 219-245, 1995.

MARTINEZ, C.; MONTILLET, J.L.; BRESSON, E.; AGNEL, J.P.; DAI, G.H.; DANIEL, J.F.; GEIGER, J.P.; NICOLE, M. Apoplastic peroxidase generates superoxide anions in cells of cotton cotyledons undergoing the hypersensitive reaction to *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* race 18. **Molecular Plant Microbe Interactions**, v.11, p. 1038-1047, 1998.

NEILL, S.; DESIKAN, R.; HANCOCK, J. Hydrogen peroxide signaling. **Currents Opinions in Plant Biology**, v. 5, p. 388-395, 2002.

REN, J.; YAO, Y.; YANG, Y.; KORPELAINEN, H.; JUNTILA, O.; LI, C. Growth and physiological responses to supplemental UV-B radiation of two contrasting poplar species. **Tree Physiology**, v. 26, p. 665-672, 2006.

ROZEMA, J. TERAMURA, A.; CALDWELL, M. Atmospheric CO₂ Enrichment and enhanced solar ultraviolet-B radiation: gene to ecosystem responses. In: LUO Y, MOONEY HA (Eds). **Carbon dioxide and environmental stress**. Academic Press, New York, 1999. pp 169–191.

TANAKA, M.A.S.; BETTI, J.A.; KIMATI, H. Doenças do morangueiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia**, v.2. Doenças de plantas cultivadas. São Paulo: Agronomica Ceres, 2005. p.489-500.

TEGELBERG, R.; JULKUNEN-TIITTO, R.; VARTIAINEN, M.; PAUNONEN, R.; ROUSI, M.; KELLOMAKI, S. Exposures to elevated CO₂, elevated temperature and enhanced UV-B radiation modify activities of polyphenol oxidase and guaiacol peroxidase and concentrations of chlorophylls, polyamines and soluble proteins in the leaves of *Betula pendula* seedlings. **Environmental and Experimental Botany**, v. 62, p. 308–315, 2008.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R.M.; SUTTON, J.C.; PERAZZOLO, I.; CZERMAINSKI, A.B.C. Controle biológico de *Botrytis cinerea* em morangueiros cultivados em estufa. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, p.69-73, 1997.