

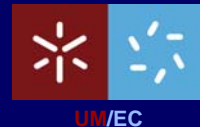
# Caracterização do sistema antioxidativo no estabelecimento da associação micorrízica *Castanea sativa* Mill. / *Amanita muscaria*



P. Baptista<sup>1</sup>; A. Martins<sup>1</sup>; T. Lino-Neto<sup>2</sup> e R. M. Tavares<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Escola Superior Agrária de Bragança, Campus de Sta. Apolónia, 5301-855 Bragança, Portugal. pbaptista@ipb.pt

<sup>2</sup> Departamento de Biologia/Centro de Biologia, Universidade do Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal



## Introdução e Objectivos

Durante o estabelecimento da associação micorrízica, ocorrem várias alterações morfológicas, fisiológicas e ecológicas em ambos os intervenientes, que têm sido objecto de estudo por diversos autores. Contudo, os mecanismos que controlam o processo de colonização e como este se inicia é completamente desconhecido. Os poucos trabalhos desenvolvidos nesta área, utilizando micorrizas arbusculares, sugerem que, durante as primeiras horas de invasão do fungo, ocorre uma indução de resposta de defesa por parte da planta hospedeira, semelhante à observada na interacção planta-patogénio. O presente trabalho pretende averiguar o efeito da inoculação de plantas de *Castanea sativa* Mill. com o fungo ectomicorrízico *Amanita muscaria*, na indução de resposta de defesa da planta hospedeira.

## Material e Métodos

O trabalho experimental decorreu num sistema "in vitro" (Fig. 1), estabelecido entre plantas de *Castanea sativa* Mill. e o fungo *Amanita muscaria* (Am).



Fig. 1 - Procedimento para a obtenção de plantas micorrizadas com *A. muscaria* em condições axénicas.

## Resultados

### Níveis de $H_2O_2$

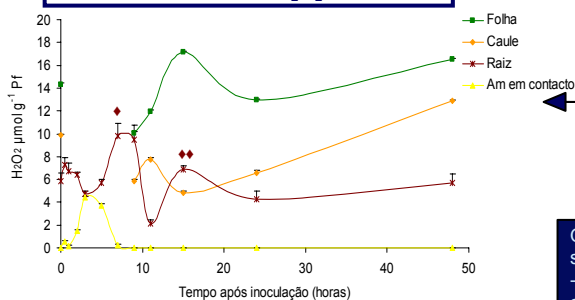


Fig. 2 – Níveis de  $H_2O_2$  ( $\bar{x} \pm se$ , n=9) nas folhas, caules e raízes de *C. sativa* inoculadas com *A. muscaria*, assim como no fungo que esteve em contacto com as raízes (Am em contacto). Determinações efectuadas de acordo com Loreto e Velikova (2001). A análise de variância, pelo teste ANOVA ( $p \leq 0,05$ ), revelou:  $\blacklozenge$  valores significativos em relação às 3 e 11h  $\blacklozenge$  valores significativos em relação às 11h.

Verificou-se três picos de produção de  $H_2O_2$  nas raízes inoculadas com *A. muscaria* (0,5; 7 e 15h após inoculação), sendo dois deles estatisticamente significativos (7, 15h). Observou-se igualmente a produção de  $O_2^-$ , especialmente ao fim de 1 h de contacto raiz-fungo, sobretudo nas raízes recém-formadas.

Quanto à actividade das enzimas de stress oxidativo, verificou-se que:  
- A variação da actividade da SOD e CAT apresentou três picos  
- Na primeira hora após o contacto, a variação da actividade da SOD e da CAT  
- Imediatamente antes do segundo pico de  $H_2O_2$ , ocorre um decréscimo nas actividades de SOD e CAT

### Produção e detecção *in situ* de $O_2^-$

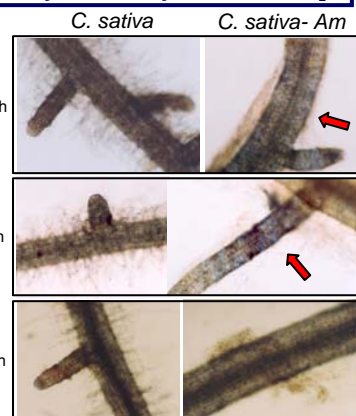


Fig. 3 – Detecção *in situ* da produção do anião superóxido (coloração azul) em raízes de *C. sativa* nas primeiras horas de contacto com o fungo *A. muscaria*. O método utilizado baseou-se na redução de NBT (Romero-Puertas *et al.*, 2004). Ampliação 100x.

### Enzimas de stress oxidativo

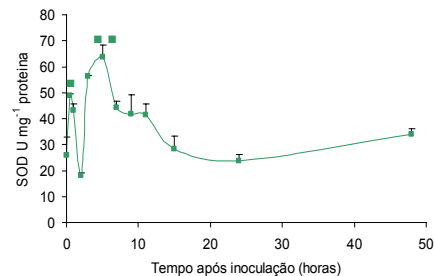


Fig. 4 – Actividade da SOD ( $\bar{x} \pm se$ , n=3) em raízes de *C. sativa* após inoculação com *A. muscaria*. Determinações efectuadas de acordo com o método NBT (Beyer & Fridovich, 1987). A análise de variância, pelo teste ANOVA ( $p \leq 0,05$ ), revelou:  $\blacksquare$  valores significativos em relação às 0h  $\blacksquare$  valores significativos em relação às 2h.

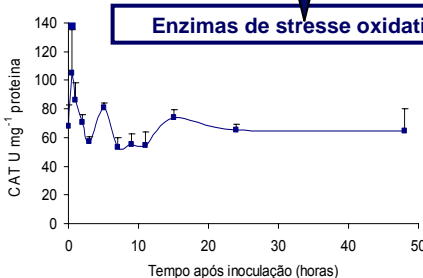


Fig. 5 – Actividade da CAT ( $\bar{x} \pm se$ , n=9) em raízes de *C. sativa* após inoculação com *A. muscaria*. Determinações efectuadas de acordo com o método de Aebi (1983). A análise de variância, pelo teste ANOVA ( $p \leq 0,05$ ), revelou:  $\blacksquare$  valores significativos em relação às 3h.

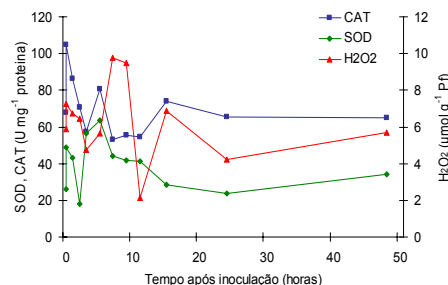


Fig. 6 – Comparação da actividade da SOD, CAT e níveis de  $H_2O_2$  nas raízes de *C. sativa* após inoculação com *A. muscaria*.

## Conclusões

- O aumento dos níveis de  $H_2O_2$  e de  $O_2^-$  nas raízes de *C. sativa* após contacto com o fungo ectomicorrízico *A. muscaria* reflecte uma condição de stress oxidativo similar ao observado na interacção incompatível planta-patogénio.
- Nas primeiras horas de contacto, a produção de espécies reactivas de oxigénio na raiz parece corresponder aos locais de infecção com o fungo *A. muscaria*.
- O aumento da actividade da SOD, observado na primeira hora de contacto raiz/fungo, pode ser responsável pela degradação do  $O_2^-$  e pela produção de  $H_2O_2$ .
- A redução de actividade da CAT que precede o segundo pico de produção de  $H_2O_2$  poderá promover o aumento dos níveis de  $H_2O_2$ .

### Referências

- Aebi H., 1983. Catalase. In: *Enzymes 1: Oxidoreductases, Transferases*. (H. U. Bergmeyer, ed.), 273-286 pp. Verlag Chemie, New York.
- Beyer W. F. & Fridovich I., 1987. *Anal. Biochem.*, 161, 559-566.
- Loreto F. & Velikova V., 2001. *Plant Physiology*, 127, 1781-1787 pp.
- Romero-Puertas MC, Rodríguez-Serrano M, Corpas FJ, Gómez M, Del Río LA, Sandalio LM. 2004. *Plant, Cell and Environment* 27: 1122-1134.