

Produção diferencial de compostos voláteis em caules de *Pinus pinaster* inoculados com o nemátode da madeira do pinheiro (*Bursaphelenchus xylophilus*)



CATÓLICA

UNIVERSIDADE CATÓLICA PORTUGUESA | PORTO



Ministério da
Agricultura,
do Desenvolvimento
Rural e das Pescas



Marta R. M. Lima, António C. Silva Ferreira e Marta W. Vasconcelos

CBQF/ESB, Universidade Católica Portuguesa, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 4200-072 Porto, Portugal. mvasconcelos@esb.ucp.pt

INTRODUÇÃO

O nemátode da madeira do pinheiro (NMP), *Bursaphelenchus xylophilus*, é o principal agente causal da doença da murchidão do pinheiro. Esta é uma enfermidade grave que afecta florestas de coníferas com uma elevada taxa de mortalidade. O NMP foi introduzido recentemente na Europa, tendo sido detectado pela primeira vez em Portugal em 1999. Apesar das medidas específicas implementadas para conter a doença, não foi possível evitar a dispersão do nemátode.

Presentemente não são conhecidos meios eficazes de combate à doença da murchidão do pinheiro, apesar da enfermidade ser conhecida e ser alvo de investigação há várias décadas. A complexidade desta doença, na qual vários mecanismos de patogénese parecem agir em simultâneo, contribui em grande parte para a inexistência de um tratamento eficaz, pelo que o aprofundamento do conhecimento da doença é fundamental.

Neste trabalho apresentam-se resultados preliminares do estudo da modificação da componente volátil de caules de *Pinus pinaster*, 7 dias após inoculação com NMP.

MÉTODOS

Cultura de nemátodes: *B. xylophilus* virulento (BxHF) foi cultivado em *Botrytis cinerea* crescido em grãos de cevada. Os nemátodes foram extraídos usando a técnica do funil de Baermann.

Inoculação e amostragem: 5 *P. pinaster* com 1 ano de idade foram inoculados com 300 nemátodes (5 árvores controlo foram inoculadas com água estéril), e foram mantidos com fotoperíodo e temperatura de 16h luz, 25°C/8h escuro, 20°C, com 80% de humidade relativa (Fig. 1). Sete dias após a inoculação, os caules foram recolhidos e imediatamente congelados em azoto líquido.

Análise: Após maceração dos caules, preparou-se um extracto aquoso ao qual foi adicionado 3-octanol como padrão interno. O extracto foi colocado num banho a 40°C e o *headspace* foi extraído por micro extração em fase sólida (SPME, Fig. 2), seguindo-se uma análise por cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS). Identificações foram feitas por comparação com padrões. Os resultados foram analisados estatisticamente testando diferenças entre inoculação e controlo com o teste de Mann-Whitney, e por análise estatística multivariada usando análise de componentes principais.



Fig. 1 - *P. pinaster*: caules inoculados com *B. xylophilus*.



Fig. 2 - Extração por SPME.

RESULTADOS

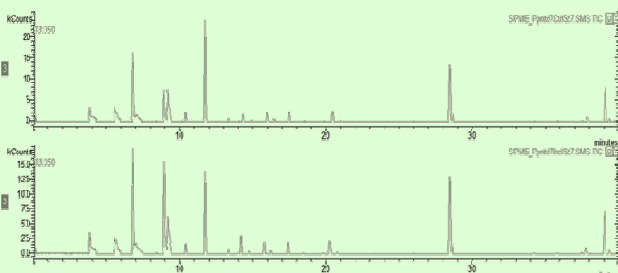


Fig. 3 - Cromatogramas típicos da fracção volátil de caules de *P. pinaster* controlo (em cima) e 7 dias após inoculação com *B. xylophilus* (em baixo).

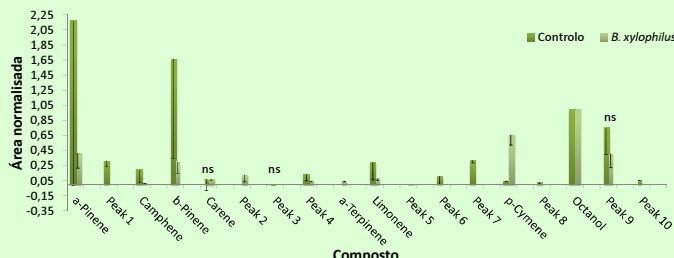


Fig. 5 - Componentes da fracção volátil de caules de *P. pinaster* controlo e 7 dias após a inoculação com *B. xylophilus*. Todas as diferenças são significativas ($p < 0.05$) excepto os compostos identificados com ns.

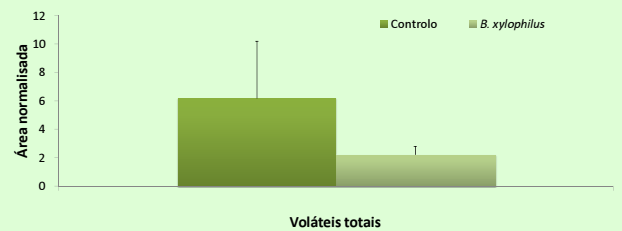


Fig. 4 - Componente volátil total de caules de *P. pinaster* controlo e 7 dias após a inoculação com *B. xylophilus*. A diferença é estatisticamente significativa ($p < 0.05$).

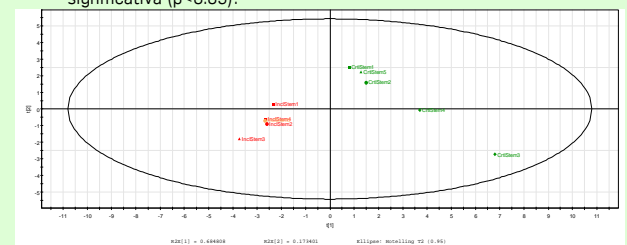


Fig. 6 - Análise se componentes principais mostrando completa separação de caules de *P. pinaster* controlo (verde) e caules 7 dias após inoculação com *B. xylophilus* (vermelho).

CONCLUSÕES

- A componente volátil de caules inoculados mostrou ser diferente de caules controlo (Fig. 3).
- Em termos totais a produção volátil de caules inoculados é significativamente menor (Fig. 4); no entanto, verifica-se uma produção diferencial de voláteis, com alguns compostos a serem produzidos *de novo* ou em maior quantidade nos caules inoculados (Fig. 5).
- Cerca de metade dos picos detectados por GC-MS já foram identificados.
- A análise de componentes principais demonstrou uma completa separação dos 2 grupos (Fig. 6).

Agradecimentos

Ao Dr. Manuel Mota (Universidade de Évora, Portugal) pela cedência do isolado de *B. xylophilus*. À AFN pelo financiamento.