

INSTITUTO FEDERAL
GOIANO
Câmpus Rio Verde

BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Atividade de enzimas relacionadas à patogênese em plantas de
capim amargoso inoculado com *Pratylenchus brachyurus***

Gabriel Jesus da Silva

Rio Verde – GO

2021

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO
– CÂMPUS RIO VERDE

BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Atividade de enzimas relacionadas à patogênese em plantas de capim
amargoso inoculado com *Pratylenchus brachyurus***

Gabriel Jesus da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Federal de
Educação, Ciência e Tecnologia
Goiano – Campus Rio Verde, como
parte das exigências da disciplina
TCC-215 – Trabalho de Curso II, do
curso de graduação em Bacharelado
em Ciências Biológicas.

Orientador (a): Dr^a Renata Pereira Marques

Co-orientador: Dr Eugenio Miranda Sperandio

Rio Verde – GO

2021

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

d229a da Silva, Gabriel Jesus
Atividade de enzimas relacionadas à patogênese em plantas de capim amargoso inoculado com *Pratylenchus brachyurus* / Gabriel Jesus da Silva; orientadora Renata Pereira Marques; co-orientador Eugenio Miranda Sperandio. -- Rio Verde, 2021.
26 p.

TCC (Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas) -- Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2021.

1. Defesa vegetal. 2. Nematoides. 3. Hospedeiro..
I. Pereira Marques, Renata , orient. II. Miranda Sperandio, Eugenio , co-orient. III. Título.

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

- Tese Artigo Científico
 Dissertação Capítulo de Livro
 Monografia – Especialização Livro
 TCC - Graduação Trabalho Apresentado em Evento
 Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____

Nome Completo do Autor: Gabriel Jesus da Silva

Matrícula: 2017102230530398

Título do Trabalho: Atividade de enzimas relacionadas à patogênese em plantas de capim amargoso inoculadas com *Pratylenchus brachyurus*

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: Não Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 29/09/2021

O documento está sujeito a registro de patente? Sim Não
O documento pode vir a ser publicado como livro? Sim Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio verde, Goiás, 23 /09 /2021.
Local Data

Gabriel Jesus da Silva

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

Renata Pereira Marques
Assinatura da orientadora



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

Ata nº 52/2021 - UCPG-RV/CPG-RV/DPGPI-RV/CMPRV/IFGOIANO

ATA DE DEFESA DE PROJETO DE TRABALHO DE CURSO

Ao vigésimo primeiro dia do mês de setembro de 2021, às 14 horas, reuniu-se a banca examinadora composta pelos docentes: Dra. Renata Pereira Marques (orientadora/ IF Goiano), Dra. Priscila Ferreira Batista (membro) e Dr. Eugênio Miranda Sperandio (membro), para examinar o Trabalho de Curso intitulado: "Atividade de enzimas relacionadas à patogênese em plantas de capim amargoso inoculadas com *Pratylenchus brachyurus*" apresentado pelo estudante Gabriel Jesus da Silva, Matrícula nº 2017102230530398, do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas do IF Goiano – Campus Rio Verde. A palavra foi concedida ao estudante para a apresentação oral do Trabalho de Curso, e em seguida, houve arguição do candidato pelos membros da banca examinadora. Após tal etapa, a banca examinadora decidiu pela APROVAÇÃO do estudante. Ao final da sessão pública de defesa foi lavrada a presente ata que segue assinada pelos membros da banca.

(Assinado Eletronicamente)

Renata Pereira Marques

Orientador

(Assinado Eletronicamente)

Eugenio Miranda Sperandio

Membro da Banca Examinadora

(Assinado Eletronicamente)

Priscila Ferreira Batista

Membro da Banca Examinadora

Observação:

() O(a) estudante não compareceu à defesa do projeto.

Documento assinado eletronicamente por:

- Eugenio Miranda Sperandio, 2019102331540209 - Discente, em 21/09/2021 15:49:54.
- Priscila Ferreira Batista, 2021102310840182 - Discente, em 21/09/2021 15:42:59.
- Renata Pereira Marques, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 21/09/2021 15:39:16.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 21/09/2021. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 310774

Código de Autenticação: 6bc3817595



INSTITUTO FEDERAL GOIANO
Campus Rio Verde
Rodovia Sul Goiana, Km 01, Zona Rural, None, RIO VERDE / GO, CEP 75901-970
(64) 3620-5600

Não temas, porque eu sou contigo; não te assombres, porque eu sou teu Deus;
eu te fortaleço, e te ajudo, e te sustento com a destra da minha justiça.

Isaías 41:10

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ser tão maravilhoso em minha vida. Toda honra e glória é para ti Senhor.

Á minha família, em especial minha mãe Lazineha Benta de Jesus e minha irmã Aniele de Freitas Martins, sou grato por tudo que fizeram por mim, amo vocês.

Á meus amigos de longa data: Gabriel Castoldi, Hellane Costa, Jefte Figueiredo, Lucas Freitas, Pâmela Ribeiro, Rodrigo Hilário e Stéfany Oliveira.

Áos meus colegas de laboratório, fica aqui meu agradecimento por todos esses anos juntos.

Áos meus colegas de curso (II Turma) , sou grato pelo companherismo e pela amizade que construímos durante esses anos.

Áos meus orientadores: Dra. Renata, Dr. Eugênio e Dr. Alaerson. Sou grato pelos ensinamentos adquiridos durante esse periodo que passamos juntos e pela amizade que construímos, pretendo leva-la por toda vida.

Á banca avaliadora desse trabalho, gratidão pelas considerações.

Á Iara Guimarães, Sr. Antônio e Sra. Ivalda, fica aqui minha gratidão.

Á todos que participaram, direta ou indiretamente do desenvolvimento deste trabalho de pesquisa.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Campus Rio Verde, seus docentes e servidores.

RESUMO

SILVA, GABRIEL JESUS. Avaliação de proteínas relacionadas à patogênese de *Digitaria insularis* infestadas com *Pratylenchus brachyurus*. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Bacharelado em Ciências Biológicas. Instituto Federal Goiano- campus Rio Verde, Goiás. Rio Verde, Goiás, 2021.

Os prejuízos provocados pela presença de *Digitaria insularis* (capim amargoso) no campo não são atribuídos somente a competição de água, luz e nutrientes. Ela pode atuar como hospedeira de nematoides, sendo, uma fonte de inóculo na área, possibilitando o ataque de nematoides nas plantas cultivadas dificultando o seu controle. Pouco se sabe sobre a interação entre capim amargoso e nematoides. Objetivou-se avaliar respostas de defesa de capim amargoso inoculado com *Pratylenchus brachyurus*. Cinquenta dias após a inoculação os nematoides foram extraídos seguindo o método de Coolen e D’Herde (1972) e realizado o cálculo do fator de reprodução (FR). A fim de detectar respostas de defesa as plantas foram coletadas em 1, 3, 9 e 17 dias após a inoculação (DAI). Foi realizada a extração de proteínas totais e avaliado a atividade de quatro enzimas específicas. O capim amargoso é suscetível ao *P. brachyurus* com FR de 2,44. A planta apresentou atividades da Fenilalanina amônialiase, Lipoxigenase e β -1,3-glucanase e Quitinase na presença de *P. brachyurus*

Palavras-chave: Defesa vegetal; nematoides; hospedeiro.

ABSTRACT

SILVA, GABRIEL JESUS. Evaluation of proteins related to the pathogenesis of *Digitaria insularis* infested with *Pratylenchus brachyurus*. Course Conclusion Paper (Undergraduate) - Bachelor of Biological Sciences. Goiás Federal Institute - Campus Rio Verde, Goiás. Rio Verde Goiás, 2021.

The damage caused by the presence of *Digitaria insularis* (sourgrass) in the field is not only attributed to competition from water, light and nutrients. It can act as a host for nematodes, being a source of inoculum in the area, enabling the attack of nematodes on cultivated plants, making its control difficult. Little is known about the interaction between bitter grass and nematodes. The objective of this study was to evaluate the defense responses of bitter grass inoculated with *Pratylenchus brachyurus*. Fifty days after inoculation, the nematodes were extracted following the method of Coolen and D'Herde (1972) and the calculation of the reproduction factor (FR) was performed. In order to detect defense responses, plants were collected at 1, 3, 9 and 17 days after inoculation (DAI). Total protein extraction was performed and the activity of four specific enzymes evaluated. *D. Insularis* is susceptible to *P. brachyurus* with a FR of 2.44. The plant showed activities of Phenylalanine ammonia lyase, Lipoxygenase and β -1,3-glucanase and Chitinase in the presence of *P. Brachyurus*.

Keywords: plant defense; nematodes; host.

LISTA DE ABREVIÇÕES E SÍMBOLOS

CBB	comoassie brilliant blue
CHI	quitinase
DAI	dias após inoculação
DNS	ácido dinitrosalicílico
GLU	glucanase
JA	ácido jasmônico
LOX	lipoxigenase
PAL	fenilalanina amônia-liase
PRP	proteínas relacionadas a patogênese
RPM	rotação por minute
SA	ácido salicílico

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Inoculação de *P. brachyurus* em capim amargoso.....10
- Figura 2.** Coleta da parte aérea.....11
- Figura 3.** Representação gráfica da atividade das proteínas relacionadas à patogênese...14

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Área comercial escolhida para coletar as sementes de *D. insularis*.....9
- Tabela 2.** Número total de e fator de reprodução (FR) de *Pratylenchus brachyurus* em plantas de capim amargoso, inoculados com 700 espécimes em plantas resistentes ao glifosato.....12
- Tabela 3.** Atividade das proteínas relacionadas à patogênese.....13

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	15
2. OBJETIVOS	17
3. MATERIAL E MÉTODOS	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	21
5. CONCLUSÃO.....	25
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A busca por altas produtividades é o principal objetivo do produtor, porém, existem alguns fatores que dificultam esse objetivo, como por exemplo as plantas daninhas. O capim-amargoso (*Digitaria insularis* (L.) Fedde), pertence à família Poaceae, é uma espécie nativa de regiões tropicais sendo encontrada na maioria de áreas agricultáveis do Brasil (HEAP, 2016; MONDO et al., 2010). Ele destaca-se entre as plantas resistentes ao glyphosate, e seu manejo inadequado pode ocasionar perdas significativas na agricultura (KASHIWAQUI, 2016). Outro ponto importante é que essa gramínea possui um rápida capacidade de dispersão, o que pode levar a entrada de biótipos em áreas do cerrado dificultando a propagação e germinação de sementes de espécies exóticas (ALVES, 2018). Além dos prejuízos como planta daninha, algumas podem atuar como hospedeira de nematoides, sendo uma fonte de inóculo na área, multiplicando-os, fato que favorece o ataque desses parasitas nas plantas cultivadas (CARVALHO, 2013; DIAS-ARIEIRA, 2017).

Os nematoides são organismos pseudocelomados, não segmentados, de simetria bilateral, com sistema digestivo e reprodutivo completo. Muitos são parasitas de plantas e podem causar perdas significativas na produção de diversas culturas (MAINARDI AND ASMUS, 2015). Entre os principais nematoides causadores de perdas na produção de grãos, destaca-se o gênero *Pratylenchus* que possui 70 espécies associadas a diferentes culturas (GONZAGA, 2006; JONES; FOSU-NYARKO, 2014). O gênero *Pratylenchus* é conhecido por nematoide das lesões radiculares devido lesões necróticas que provoca nas raízes do hospedeiro possibilitando entrada de outros patógenos, como fungos e bactérias (MACEDO et al., 2011). Dentre as principais espécies destaca-se *Pratylenchus brachyurus*, uma espécie polífaga que se multiplica em várias culturas como no próprio capim amargoso (BRAZ et al., 2016).

As plantas possuem alguns mecanismos para minimizar os danos causados por nematoides e outros agentes fitopatogênicos. As proteínas relacionadas a patogênese (PRPs) podem ter sua atividade aumentada na presença de patógenos e podem deter o seu crescimento (BRAGA, 2008). Algumas proteínas induzem a formação de barreiras contra o ataque de patógenos. A fenilalanina amônia-liase (PAL) participa da biossíntese de lignina o que confere maior resistência da parede celular (NAKAZAWA, 2001; GUZOO, 2003; THIPYAPONG et al., 2004). A lipoxigenase (LOX) participa da produção de Ácido Jasmônico que é indutor de proteinases em resposta à ação de agentes fitopatogênicos (BAYSAL & DEMIRDOVEN, 2007; BELL & MULLET, 1993; CAO et al., 2011). Existem também proteínas que atuam

diretamente no patógeno, como exemplo β -1,3-glucanase (GLU) e quitinase (CHI) que degradam polissacarídeos estruturais da parede celular de fungos e impedem seu desenvolvimento (ZAREIE et al., 2002).

Ter conhecimentos sobre a interação entre patógeno e hospedeiro é essencial para entender como a planta responde ao ataque de pragas e doenças além de auxiliar na adoção de controles alternativos que não transgridem o meio ambiente e minimizam a dispersão de sementes em áreas preservadas. Nesse sentido, há poucos relatos da interação entre *D. insularis* e *P. brachyurus*.

2. OBJETIVOS

2.1.1. Objetivo geral

Avaliar respostas de defesa de capim amargoso inoculado com *Pratylenchus brachyurus*.

2.1.2. Objetivos específicos

- Determinar o fator de reprodução de *P. brachyurus* no capim amargoso
- Avaliar a atividade de lipoxigenase, fenilalanina amônia-liase, β -1,3 glucanase e quitinase de capim amargoso inoculado com *Pratylenchus brachyurus*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi realizado nos Laboratório de Fitopatologia e de Plantas Daninhas e na Casa de Vegetação do Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde.

Coleta das sementes e plantio

As sementes de capim- amargoso foram coletadas em uma área comercial de soja e milho com histórico de aplicação de herbicida (Tabela 1). As sementes foram semeadas em bandejas plástica com substrato BIOPLANT para emergência das plântulas. Sete dias após a emergência, as plântulas foram transplantadas para vasos de 5 L e mantidas sobre casa-de-vegetação. Para assegurar que não haja a presença de outros nematoides no solo utilizado no experimento, foi realizado a esterilização deste material por meio de autoclavagem. Após 14 dias de plantio em solo foi realizado a inoculação de 700 nematoides em quatro repetições (Figura 1)

Tabela 1. Área comercial escolhida para coletar as sementes de *D. insularis*.

Local	Coordenadas	Biótipo
Rio Verde	17°40'40.0"S 50°56'06.5"W	Resistente



Figura 1. Inoculação de *P. brachyurus* em capim amargoso.

Extração e Quantificação de P. Brachyurus

Cinquenta dias após a inoculação, as plantas foram coletadas e os nematoides foram

extraídos seguindo o método de Coolen e D’Herde (1972) e Jenkins (1964). Dez gramas de raízes foram trituradas no liquidificador com água por 30 segundos. 100 gramas de solo foram homogeneizados em um litro de água. Verteu-se a mistura sobre as peneiras de 100 e 400 Mesh sobrepostas, recolheu amostra retida na peneira de 400 Mesh em um tubo da centrífuga. Em seguida os tubos foram calibrados com água e colocados na centrífuga, por 5 minutos a 1800 rpm. Depois de retirados os tubos da centrífuga e descartado o sobrenadante, foi adicionado sacarose até que cubra a amostra, realizando a calibração dos mesmos com sacarose e centrifugados por 1 minuto a 1800 rpm. O sobrenadante de cada tubo foi recolhido em peneira de 400 Mesh e adicionada amostra aos potes com identificação correta de cada amostra.

A população final foi quantificada sob microscópio ótico como o auxílio de uma câmera de Peters, e posteriormente realizado o cálculo do fator de reprodução (FR= População Final/População inicial).

Analises Enzimáticas

A fim de detectar respostas de defesa de *D. insularis* infestada com *P. brachyurus*. As coletas foram feitas em 1, 3, 9 e 17 dias após a inoculação (DAI). Toda parte aérea da planta foi coletada (Figura 2), e então acondicionadas em caixas de gelo e congeladas (-80 °C) para uso posterior.



Figura 2. Coleta da parte aérea

Extração de proteínas

As amostras da parte aérea das plantas de *D. insularis* foram maceradas em nitrogênio líquido e em cada amostra foi adicionado solução-tampão (Tris-HCl 10 mM; NaCl [150 mM]; EDTA [2 mM]; DTT [2 mM]; PMFS [1 mM]; Leptina [10 µg.mL⁻¹]; Aprotinina [10 µg.mL⁻¹]). Em seguida, as amostras foram agitadas num vortex durante 1 minuto e centrifugadas por

5 minutos a 10.000 rpm a 4°C. O sobrenadante foi utilizado para quantificar as proteínas solúveis totais e nos ensaios de determinação de atividade enzimática. Cinquenta µL de cada amostra foram transferidos para tubos do tipo Eppendorf acrescentando 1000 µL de CBB (comoassie brilliant blue). As amostras foram homogeneizadas e colocadas em repouso durante 15 minutos. Após, transferiu-se 100 µL para placas de Elisa as quais foram colocadas em espectrofotômetro (λ 597 nm). O conteúdo de proteínas solúveis totais no extrato bruto foi medido de acordo com o método de Bradford (1976), com albumina sérica bovina (BSA) como padrão.

β -1,3-Glucanase (EC 3.2.1.39) (GLU) e Quitinase (EC 3.2.1.14) (CHI)

Utilizou-se a metodologia descrita por Pan et al., (1991) com algumas modificações. Atividade de GLU em extrato proteico de folhas de *D. insularis* de diferentes tratamentos foram avaliados pela medição da taxa de redução de açúcar utilizando laminarina como substrato. Para CHI, o substrato utilizado foi quitina coloidal. O reagente DNS (ácido dinitrosalicílico) foi usado como agente colorimétrico. A atividade foi expressa em unidades por miligrama de proteína (U.mg-1). Uma unidade de atividade enzimática foi definida como atividade enzimática catalisando a formação de açúcares redutores que aumenta a absorbância de uma unidade por hora.

Fenilalanina Amônia-liase (EC 4.3.1.24) (PAL)

A atividade de fenilalanina amônia-liase foi determinada, utilizando 2 ml de solução de fenilalanina 10 mM, em solução tampão borato 0,1 M, pH 9,0 e 50 µl de cada amostra, em triplicata. A mistura foi homogeneizada e submetida à quantificação em espectrofotômetro, em comprimento de onda 290 nm (ultravioleta) (CÔRTEZ et al., 2008).

Lipoxigenase (EC:1.13.11.12) (LOX)

A atividade de LOX foi determinada de acordo com Axelrod et al. (1981) usando ácido linoléico como substrato. 50 µl do extrados da parte aérea de *D. insularis* foi adicionado em 2 mL de solução de ácido linoléico (10 mM) em tampão fosfato (50 mM, pH 6.0) (0,1% v/v), em temperatura ambiente. A atividade de LOX foi quantificada em espectrofotômetro ($\lambda=234$ nm)

Análise de dados

Todos os dados obtidos foram submetidos à ANOVA, teste de Tukey ($p=0,05$) e Teste de T para comparação entre planta inoculada e não inoculada.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A suscetibilidade do capim amargoso a *P. brachyurus* foi verificada com $FR > 1$ (Tabela 2), comprovando que *D. insularis* pode multiplicar *P. brachyurus* e, portanto, ser fonte de inoculo em áreas cultivadas, já que plantas com FR igual ou maior que 1,0 são classificadas suscetíveis (Oostendrink, 1966). Essa afirmação é de extrema importância para agricultura já que o capim amargoso possui biótipos resistentes a herbicidas, o que dificulta o controle da espécie no campo. Plantas daninhas resistentes a herbicidas podem garantir a reprodução de parasitas, algumas vezes semelhante ao FR observada em milho e soja (DIAS-ARIEIRA, 2017; MATIAS, 2018).

Tabela 2. Número total de e fator de reprodução (FR) de *Pratylenchus brachyurus* em plantas de capim amargoso, inoculados com 700 espécimes em plantas resistentes ao glifosato.

Tratamento	PF	FR	Reação
Controle	-	-	-
<i>D.insularis</i>	1710	2,44	S

PF= População final (10 grama de raiz e 100 cm³ de solo). FR = população final / população inicial. ; S = Suscetível (FR > 1)

O reconhecimento de moléculas eliciadoras do patógeno pela membrana plasmática da célula vegetal é um importante sinal para desencadear diversas respostas contra o ataque. Quando as plantas são submetidas a danos, como a penetração de nematoides, processos relacionados a defesa são ativados, resultando na liberação de alguns compostos voláteis. As plantas inoculadas apresentaram atividades crescentes de PAL nos primeiros dias avaliados diferenciando estatisticamente do controle (Tabela 3) possivelmente devido o ataque inicial do nematoide na raiz, já que essa proteína está relacionada a produção de lignina e a parede celular é a primeira barreira que o nematoide encontra ao tentar parasitar as plantas. Essa é uma importante resposta de defesa, pois a PAL participa ativamente na produção de compostos fenólicos em plantas expostas a estresses bióticos e abióticos. Um desses compostos é o ácido salicílico (SA) que está fortemente ligado ao aumento de celulose na parede celular (NAPOLEÃO, 2015). O SA participa da ativação de genes de defesa vegetal, porém, outros hormônios como o Ácido Jasmônico (JA) também atuam como sinalizadores. Uma vez que o JA é ativado, os níveis endógenos de SA diminuem (TAMAOKI et al., 2013), o que pode responder o porquê PAL e LOX apresentaram comportamentos opostos aos primeiros dias de

avaliação (Figura 2B) já que a LOX está associada a produção de JA. Embora, o JA e SA tem respostas antagonistas, ambos são importantes para defesa vegetal pois ambos controlam coordenadamente as respostas de defesa vegetal (PINTO-ZEVALLOS et al., 2013). A LOX está relacionada a resposta a ferimentos causados por patógenos e pragas fortificando a parede celular (CARLI, 1999), fato que pode atestar a crescente atividade da enzima nos primeiros dias avaliados.

Tabela 3. Atividade das proteínas relacionadas à patogênese .

Tratamento	Dias	Atividade PAL		Atividade LOX		Atividade GLU		Atividade CHI					
Controle	1	3,49E-05	BCa	1,00E-06	8,61E-05	Aa	5,00E-06	253,52	Aa	19,9	43,23	Aa	8,8
Controle	3	2,51E-05	Cb	3,70E-06	8,93E-05	Aa	3,60E-05	241,16	Aa	28,1	56,95	Aa	5,5
Controle	9	4,19E-05	Ba	6,20E-06	3,61E-04	Ba	9,00E-05	220,93	Aa	70,2	0,97	Bb	13,6
Controle	17	6,77E-05	Aa	1,40E-05	2,76E-04	Ba	6,90E-05	291,21	Aa	18,3	30,58	ABa	11,3
Inoculadas	1	3,85E-05	Aa	3,00E-06	1,44E-04	Aa	4,00E-06	217,51	Ba	20,3	22,65	ABa	10,2
Inoculadas	3	4,17E-05	Aa	5,10E-06	1,22E-04	Aa	2,20E-05	217,89	Ba	16,8	0,75	Bb	3,6
Inoculadas	9	3,15E-05	Aa	4,40E-06	7,79E-05	Ab	4,30E-05	269,33	Aa	17,4	51,38	Aa	29,3
Inoculadas	17	2,64E-05	Ab	2,40E-06	1,23E-04	Ab	5,40E-05	200,93	Ba	15,9	26,27	ABa	24,6

Comparação das variáveis avaliadas entre tratamentos dentro do mesmo dia: médias seguidas por letras minúsculas (colunas) iguais não diferem estatisticamente de acordo com o teste de T ($p=0,05$). Comparação das variáveis avaliadas dentro do mesmo tratamento (com ou sem *P. brachyurus*): médias seguidas por letras maiúsculas iguais na coluna não diferem estatisticamente de acordo com o teste de Tukey ($p=0,05$).

A atividade da GLU e CHI decresceu comparada com as plantas controle, exceto ao 9 DAI. Collinge et al. (1993) afirmam que a indução da quitinase é coordenada pela indução da β -1,3-glucanase, o que pode explicar a expressão de ambas aos 9DAI.

A GLU apresentou diferença significativa entre as plantas inoculadas ao 9DAI e a CHI diferiu da planta controle ao 9DAI (Tabela 3). O JA é um elicitor de proteínas como as glucanases e quitinases, e o SA induz a síntese de enzimas que degradam polissacarídeos estruturais da parede celular de patógenos (CAMPOS, 2009), provavelmente a expressão enzimática de PAL e LOX nos dois primeiros dias de avaliação pode ter induzido a expressão dessas proteínas no terceiro dia avaliado. As CHIs e GLUs possuem papel importante na defesa vegetal, elas degradam componentes estruturais presentes nas paredes celulares de fungos, como também estão presentes nas cascas dos ovos dos fitonematoides (CASTRO et al., 2011).

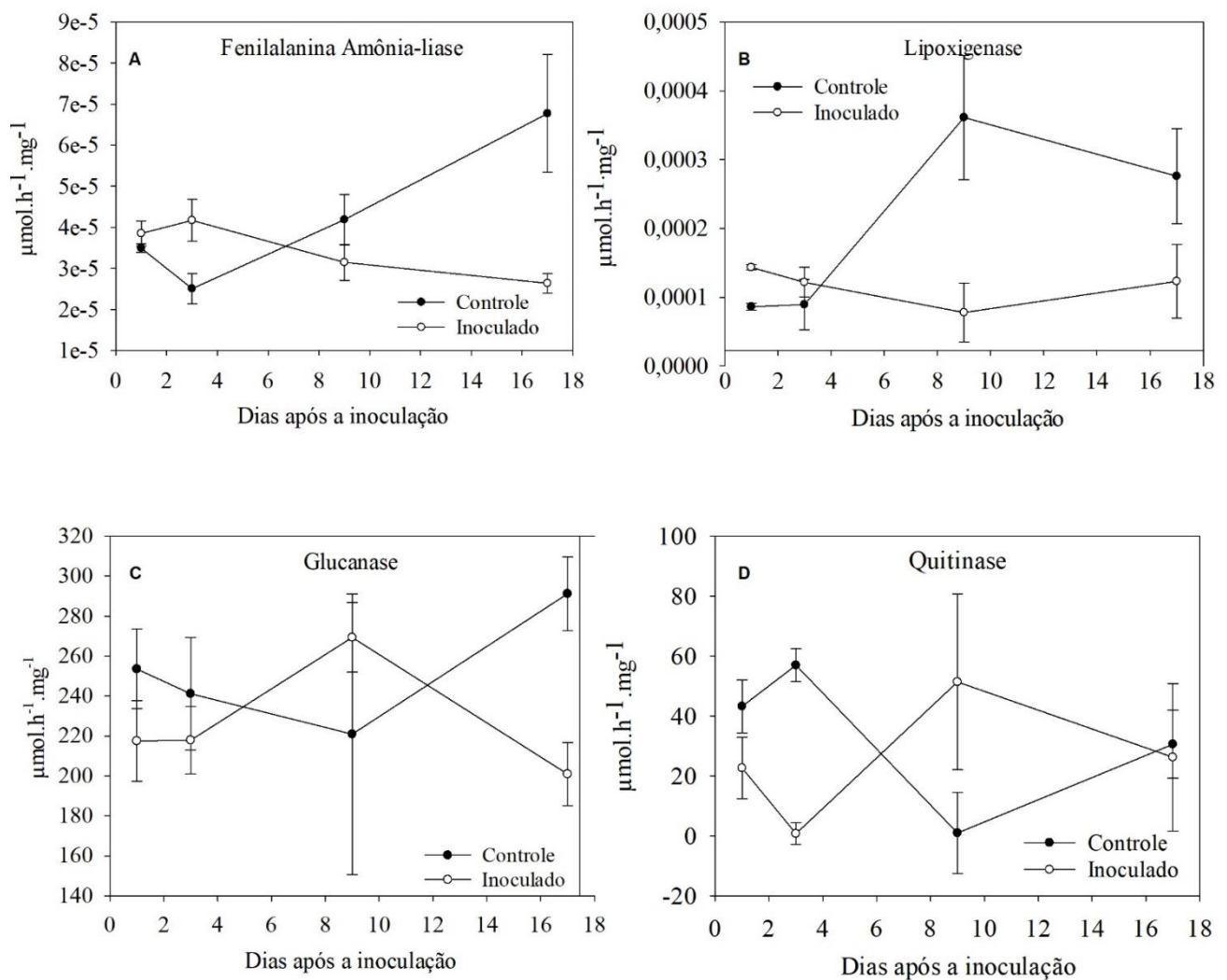


Figura 3. Representação gráfica da atividade das proteínas relacionadas à patogênese

É possível ver complexidade das respostas de defesa contra de *P. brachyurus*, trabalhos futuros devem ser feitos para investigar a fundo as respostas de defesas de plantas daninhas contra seus patógenos.

5. CONCLUSÃO

O capim amargoso é susceptível ao nematoide das lesões radiculares. A atividade enzimática de GLU e CHI apresentaram respostas semelhantes na presença de *P. brachyurus* durante os dias avaliados. A PAL e LOX aparenta ter um papel importante para ativação de enzimas que atuam diretamente no patógeno.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, THAINÁ; SANTOS, DOS ; FERREIRA DA SILVA, FELIPE. Plantas daninhas situadas em áreas de reflorestamento no Brasil: UMA REVISÃO DE LITERATURA, **Diversidade e Gestão**, v. 2, n. 1, p. 2–16, 2018.

AXELROD, B., CHEESBROUGH, T.M., AND LAASKO, S. Lipoxygenase from soybeans. In: Lowenstein, J.M. (ed) **Methods in Enzymology** Vol. 71, pp. 441–451, 1981

BAYSAL, T.; DEMIRDOVEN, A. Lipoxygenase in fruits and vegetables: a review. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 40, n. 4, p. 491-496, 2007

BELL, E. & MULLET, J. E. Characterization of a *Arapdopsis* lipoxygenase gene responsive to methyl jasmonate and wounding. **Plant physiology**, Lancaster, v. 103, n. 4, p. 1133-1137, 1993.

BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem.** 72, 574 248–254, 1976.

BRAGA, M. R. Fitoalexinas. In: PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J. R.; CIA, P. (Eds). Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular, Piracicaba: Fealq, cap. 9, p. 305-346, 2008.

BRAZ, G. B. P.; OLIVEIRA JÚNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; RAIMOND, R. T.; RIBEIRO, L. M.; GEMELLI, A.; TAKANO, H. K. Plantas daninhas como hospedeiras alternativas para *Pratylenchus brachyurus*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 42, n. 3, p. 233-238, 2016

CARLI, ALESSANDRA DE PAULA. **Efeito do Ácido Jasmônico na síntese de Lipoxygenase e de inibidores de Proteases em sementes de explantes de Soja**. 1999. Tese (Doutorado)- Curso de Agroquímica, Universidade de Viçosa, Viçosa, 1999.

CARVALHO, LEONARDO BIANCO. **Plantas Daninhas** / Editado pelo autor, Lages, SC, vi, 82 p, 2013

CASTRO, LEIDA; FLORES, LORENA; URIBE, LIDIETH. Efecto del Vermicompost y Quitina sobre el control de meloidogyne incognita en tomate a nivel de invernadero. **Agron. Costarricense**, San Pedro de Montes de Oca , v. 35, n. 2, p. 21-32, Dec. 2011 .

CAMPOS I. H. Dos; VELOSO M. P.; JULIANO M. A.; ALVES L. C.; DORIGUETTO MARTINS, F. T.; ASSIS D. M.; SANTOS M. A. C. Natural polyprenylated benzophenones inhibiting cysteine and serine proteases. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Píses Baixos, v. 44, p. 1230–1239, mar. 2009.

COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue . Ghent: **State Nematology and Entomology Research Station**, 77 p, 1972.

CÔRTEZ, M.V.C.B.; VIANA, H.F.; SILVA, F.R.; SILVA-LOBO, V.L.; SILVA, G.B.; PRABHU, A.S. & FILIPPI, M.C.C. Quantificação da atividade enzimáticas de proteínas relacionadas à patogênese no patossistema *Oryza sativa/Magnaporthe oryzae*. **Embrapa Arroz e Feijão**, Santo Antônio de Goiás, 2008.

DIAS-ARIEIRA, C. R. Nematoides associados a plantas daninhas. **Fundação MT-Boletim de Pesquisa**, Rondonópolis, v. 18, p. 150-156, 2017

DUDAREVA N., NEGRE F., NAGEGOWDA, ORLOVA I. Plant volatile; recent advance and future perspectives. **Plant Science**. 25, 417-440, 2006.

FERNANDES, C.F et al. Mecanismos de defesa de plantas contra o ataque de agentes fitopatogênicos. Porto Velho, RO: **Embrapa Rondônia**, 2009.

GONZAGA, V. **Caracterização morfológica, morfométrica e multiplicação in vitro das seis espécies mais comuns de *Pratylenchus* Filipjev, 1936 que ocorrem no Brasil**. 2006. 79 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Área de concentração em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Jaboticabal, 2006.

GUZZO, S.D. Proteínas relacionadas a patogênese. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Porto Alegre, v. 11, p. 283-332, 2003

HEAP, I. GROUP A/1 **Resistant Sourgrass (*Digitaria insularis*)**. 2016.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, v.48, n.9, p.692-692, 1964.

JONES, M. G. K.; FOSU-NYARKO, J. Molecular biology of root lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) and their interaction with host plants. **Annals of Applied Biology**, v. 164, p.163-181, 2014.

KASHIWAQUI, M. M. **Dinâmica de nematoides e eficiência do manejo químico de capim-amargoso nas culturas da soja e milho resistentes ao glyphosate**. 2016. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Estadual de Maringá, Umuarama, PR, 2016.

MACEDO, N.; MACEDO, D.; CAMPOS, M. B. S.; NOVARETTI, W. R. T.; FERRAZ, L. C.

C. Manejo de Pragas e Nematoides. Eds. In: SANTOS, F.; BORÉM, A.; CALDAS, C. Cana-de-açúcar: bioenergia, açúcar e etanol: tecnologia e perspectivas, Viçosa, p.119-160, 2011.

MAINARDI, JANILE & ASMUS, GUILHERME. Danos e potencial reprodutivo de *Pratylenchus brachyurus* em cinco espécies vegetais. **Journal of neotropical agriculture**. 2. 38-47. 10.32404/rean.v2i4.683, 2015

MATIAS, JOÃO & SILVA, ANDRÉ & HELVIG, ENELISE & MACIEL, C.D.G. & DIAS-ARIEIRA, CLAUDIA & KARAM, DÉCIO. Suscetibilidade De Milho, Soja E Capim Amargoso Ao Nematóide Das Lesões Radiculares. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**. 17. 353. 10.18512/1980-6477/rbms.v17n2p353-358. 2018.

MONDO VHZ, CARVALHO SJP, DIAS ACR, MARCOS FILHO J. Light and temperature effects on the seed germination of four *Digitaria* weed species. **Rev Bras Sem** 32:131–137, 2010

NAKAZAWA, A.; NOZUE, M.; YASUDA, H. Expression pattern and gene structure of phenylalanine ammonia-lyase in *Phasbitis nil*. **Journal of Plant Research**, v. 114, p. 323-328, 2001.

NAPOLEÃO, THIAGO ALVES. **Efeitos do metil jasmonato e ácido salicílico na composição da parede celular, metabolismo secundário e recalcitrância em *Brachypodium distachyon***. 2015. 46f .Dissertação (mestrado em Fisiologia Vegetal)- Universidade Federal de Viçosa, 2015.

OOSTENBRINK, M. Major characteristics of the relation between nematodes and plants. *Mededelingen Landbouw*, v. 66, n. 4, p. 1-46, 1966.

PAN, S.Q.; YE, X.S. & KUC, J. Association of a b-1,3-glucanase activity and isoform pattern with systemic resistance to blue mold in tobacco induced by stem injection with *Peronospora tabacina* or leaf inoculation with tobacco mosaic virus. **Physiological and Molecular Plant Pathology** 39:25-39. 1991

PINTO-ZEVALLOS, DELIA M.; MARTINS, CAMILA B. C.; PELLEGRINO, ANA C.; *et al.* Compostos orgânicos voláteis na defesa induzida das plantas contra insetos herbívoros. **Química Nova**, v. 36, n. 9, p. 1395–1405, 2013.

TAMAOKI, DAISUKE; SEO, SHIGEMI; YAMADA, SHOKO; *et al.* Jasmonic acid and salicylic acid activate a common defense system in rice. **Plant Signaling & Behavior**, v. 8, n. 6, p. e24260, 2013.

THIPYAPONG P, HUNT MD, STEFFENS JC. Antisense downregulation of polyphenol oxidase results in enhanced disease susceptibility. **Planta**. Nov;220(1):105-17, 2004.

ZAREIE, R.; MELANSON, D. L.; MURPHY, P. J. Isolation of fungal cell wall degrading proteins from barley (*Hordeum vulgare* L.) leaves infected with *Rhynchosporium secalis*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 15, n. 10, p. 1031-1039, 2002.