

Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia
Disciplina de Fisiologia e Bioquímica Fitopatológica

Correlação das atividades de Fenilalanina amônia-liase e Tirosina amônia-liase com o conteúdo de compostos fenólicos e curcuminoides em gengibre e *Zingiber zerumbet* após a infecção com *Pythium myriotylum*.

GANAPATHY, G. et al. Correlation of Phenylalanine ammonia lyase (PAL) and Tyrosine ammonia lyase (TAL) activities to phenolics and curcuminoid content in ginger and its wild congener, *Zingiber zerumbet* following *Pythium myriotylum* infection. *European Journal of Plant Pathology*, v. 145, n. 4, p. 777-785, jan. 2016.

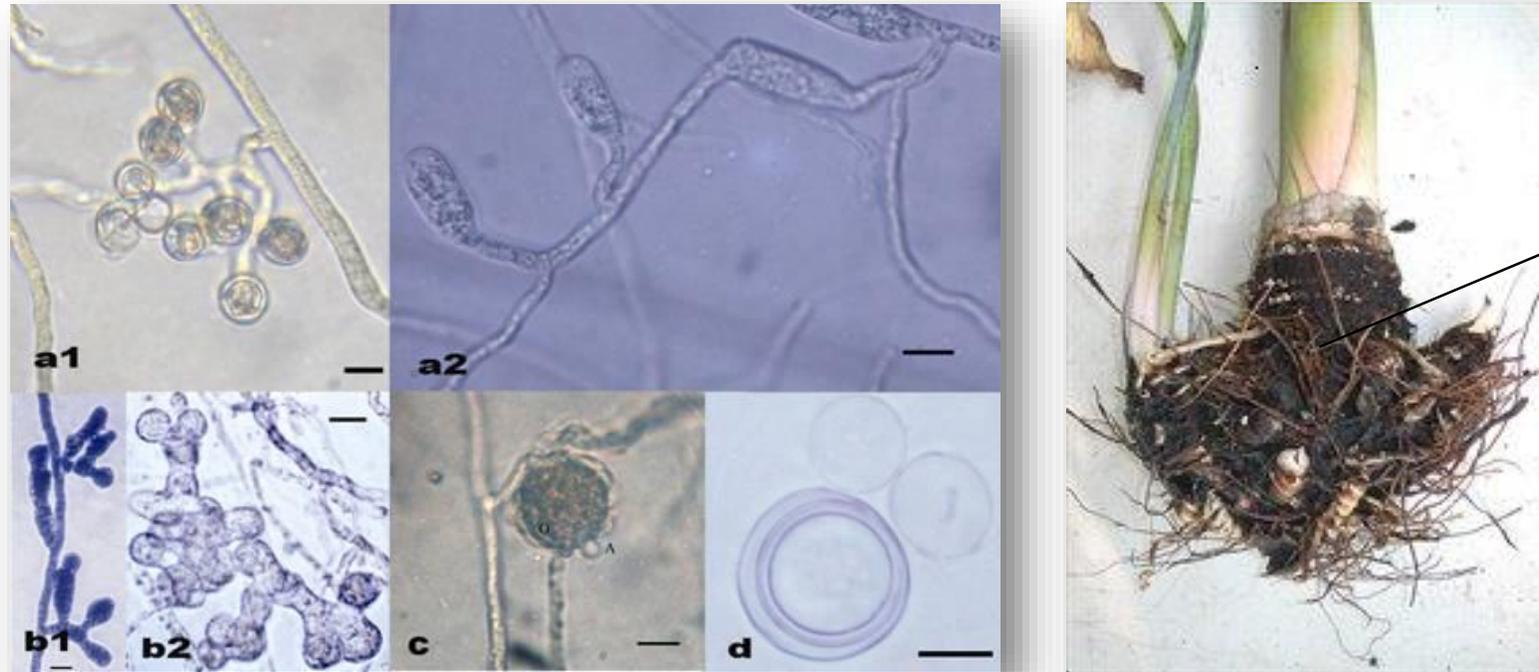
Setembro/2016

Aluno: Jorge Massaki Hasegawa
Professor: Sérgio Florentino Pascholati

Introdução

Correlation of Phenylalanine ammonia lyase (PAL) and Tyrosine ammonia lyase (TAL) activities to phenolics and curcuminoid content in ginger and its wild congener, *Zingiber zerumbet* following *Pythium myriotylum* infection

G. Ganapathy · D. Keerthi · R. Aswathi Nair · Padmesh Pillai



Podridão de raízes
causada por *Pythium
myriotylum*

Sugestão de leitura:

BARBOZA, Elenice Alves. Ocorrência e diversidade de *Pythium* e *Phytophthora* em fontes de água utilizada para irrigação na Região do Distrito Federal. 2014. vii, 119 f., il. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)—Universidade de Brasília, Brasília, 2014.

Curiosidades:

Plantas de *Zingiber spectabile* Griff e *Zingiber zerumbet*, também chamadas de **xampu**, pertencem à família Zingiberaceae, são facilmente multiplicadas e utilizadas principalmente com finalidades ornamentais.

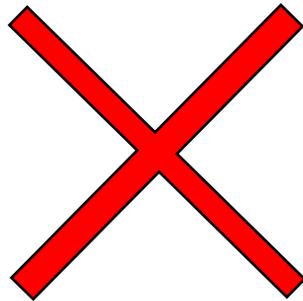
JESUS, L. R. de; POLTRONIERI, M. C. Caracterização da coleção de germoplasmam de xampu (*Zingiber spectabile* Griff) e (*Zingiber zerumbet*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 2., 2012, Belém, PA. *Anais...* Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos, 2012.

Atividades antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral e antimicrobiana em extratos dos rizomas do gengibre amargo.

PORTAL BRASIL. Desenvolvido iogurte com potencial antioxidante e anti-inflamatório. Disponível em <<http://www.brasil.gov.br/meio-ambiente/2015/02/desenvolvido-iogurte-com-potencial-antioxidante-e-acao-anti-inflamatoria>>. Acesso em 26 set. 2016.



O gengibre comercial não é encontrado na natureza. Por seleção assexuada ao longo dos anos, buscando-se fenóis associados à pungência, o gengibre perdeu a sua capacidade natural de defesa.



Base conceitual:

- **Dentre os diversos mecanismos de defesa desenvolvidos pela planta, o arsenal de compostos fenólicos representa barreiras químicas constitutivas à infecção, sendo também induzidas sistemicamente e acumuladas em resposta à patogênese.**
- **Flutuações nas atividades da PAL/ TAL em tecidos de plantas são comuns em resposta à vários estímulos físicos e químicos.**
- **Fenilalanina amônia-liase e Tirosina amônia-liase são enzimas com importante ação regulatória na rota da biossíntese de fenilpropanoides, que são compostos que atuam como barreiras químicas e físicas pré-formadas ou induzíveis contra infecções até moléculas sinalizadoras envolvidas na sinalização local e sistêmica na indução de genes de resistência.**

DIXON, R. A. et al. The phenylpropanoid pathway and plant defence—a genomics perspective. *Molecular Plant Pathology*, v. 3, n.5, p. 371–390. Set. 2002.

- **Compostos fenólicos: produtos do metabolismo secundário, normalmente derivado de reações de defesa das plantas contra agressões externas.**
- **Curcuminoides – compostos fenólicos.**

Objetivos:

Analisar a base bioquímica do mecanismo de defesa de *Zingiber zerumbet* ao determinar:

- i. A função do conteúdo de compostos polifenólicos na espécie resistente;**
- ii. Se as variações nas atividades das enzimas PAL e TAL são responsáveis pela resposta diferencial à infecção pelo *P. myriotylum* na cultivar comercial de gengibre e na espécie selvagem.**

Materiais e Métodos

- **Rizomas (2 a 3 cm Ø) de gengibre comercial *Zingiber officinale* cv. Varada e gengibre amargo *Zingiber zerumbet* foram divididos em 2 grupos: controle negativo e inoculado com discos miceliais de *Pythium myriotylum*;**
- **Os extratos dos rizomas foram filtrados e os teores totais de compostos fenólicos (TP), flavonoides (TF) e taninos (TT) foram estimados.**
- **Os extratos enzimáticos foram obtidos de rizomas – e + nos intervalos de 0, 1, 2, 3, 5, 7 e 9 dias após a infecção.**
- **Após centrifugação, o sobrenadante filtrado foi utilizado em testes enzimáticos para a determinação da PAL e da TAL.**
- **Estimou-se o teor de curcuminoides por HPLC.**

Resultados e Discussão

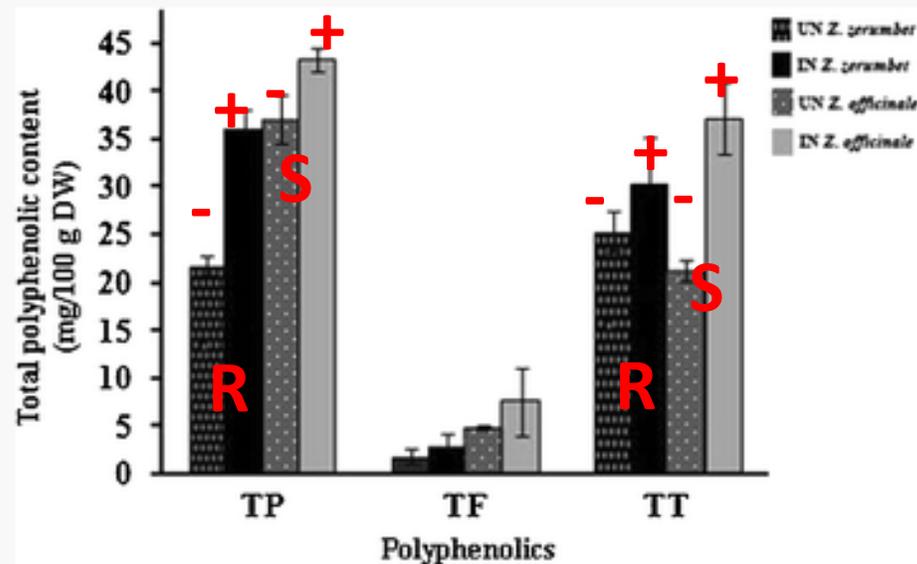


Fig. 1

Estimation of polyphenolics (total phenolics: TP, total flavonoid: TF and total tannin: TT) in methanolic extracts of healthy (UN) and *P. myriotylum* infected (IN) rhizomes of *Zingiber zerumbet* and *Zingiber officinale* cv Varada. TP, TF and TT content expressed respectively as mg GAE, mg CE and mg TAE equivalent per 100 g dry weight (DW). Values are mean \pm SEM of 3-5 separate determinations. Bars represent \pm standard error among three replicates

Resultados e Discussão:

- Apesar dos altos níveis de compostos fenólicos no gengibre comercial, a completa suscetibilidade à doença pode ser atribuída ao processo contínuo de seleção assexuada de variedades para teores maiores de compostos fenólicos como gingerols, shogaols e zingiberina, que resultam em menor potencial de resposta a desafios bióticos.



Por outro lado, o baixo teor de compostos fenólicos em *Z. zerumbet*, resistente, é indicativo de indução sistêmica.

Resultados e discussão: **Alta PAL e TAL em Zz após + = indução sistêmica**

Table 1 Variations in PAL and TAL specific activities in *Pythium myriotylum* infected (IN) and uninfected (UN) rhizomes of *Zingiber zerumbet* and *Zingiber officinale* cv. Varada (Zo)

Enzyme	Days of infection (doi)	<i>Z. zerumbet</i> (U mg ⁻¹)		<i>Z. officinale</i> cv. Varada (U mg ⁻¹)	
		UN	IN	UN	IN
PAL	0	4.2 ± 0.8	–	24.2 ± 1.9	–
	1	15.6 ± 1.6	10.5 ± 0.8	23.4 ± 1.1	25.5 ± 1.3
	2	6.8 ± 1.5	8.4 ± 0.6	33.6 ± 1.9	40.1 ± 1.6
	3	2.6 ± 0.8	8.3 ± 0.9	28.5 ± 1.0	24.2 ± 0.9
	5	10.4 ± 0.9	13.1 ± 0.8	17.2 ± 1.0	21.9 ± 0.8
	7	17.4 ± 0.7	15.5 ± 0.9	17.8 ± 1.8	27.6 ± 1.7
	9	8.6 ± 0.5	17.6 ± 0.9	10.4 ± 0.8	9.4 ± 1.2
TAL	0	537.8 ± 8.4 ^a	–	162.3 ± 17.0 ^b	–
	1	499.3 ± 11.8 ^a	345.1 ± 26.0	213.2 ± 5.9 ^b	276.5 ± 27.0
	2	314.1 ± 16.5	337.9 ± 21.5	316.5 ± 33.5 ^b	346.3 ± 21.6
	3	339.4 ± 27.8 ^a	251.2 ± 31.5	278.3 ± 16.6 ^b	260.1 ± 22.4
	5	407.4 ± 27.7 ^a	442.5 ± 35.1	167.9 ± 8.6 ^b	213.7 ± 10.3
	7	618.8 ± 37.9 ^a	518.8 ± 32.7	174.5 ± 6.9 ^b	207.6 ± 7.9
	9	620.2 ± 37.5 ^a	573.3 ± 29.0	110.4 ± 8.6 ^b	149.4 ± 5.3

Each value is the mean ± SE for $n = 5$. Significance level: ^a $p < 0.001$ compared to control (UN) *Zingiber officinale* cv. Varada; ^b $p < 0.01$ compared to (IN) *Zingiber officinale* cv. Varada

Resultados e discussão:

- PAL é uma importante enzima que regula a biossíntese de curcuminoides, que apresentam atividade inibitória contra vários fitopatógenos. Curcuminoides foram determinados porque o fluxo metabólico da biossíntese de fenilpropanoides é direcionado à biossíntese de curcuminoides e gingerol em gengibre.
- Verificou-se uma diferença de 10 X no conteúdo total de curcuminoides em rizomas (-) de Zz comparado com o gengibre.

Zz = *Zingiber zerumbet*.

Zo = *Zingiber officinale* cv. Varada.

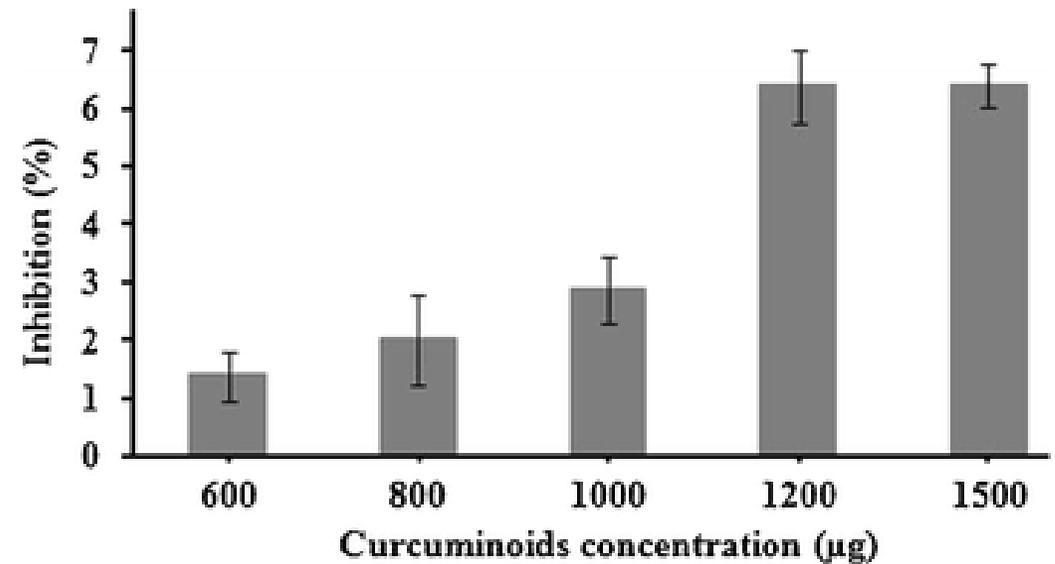
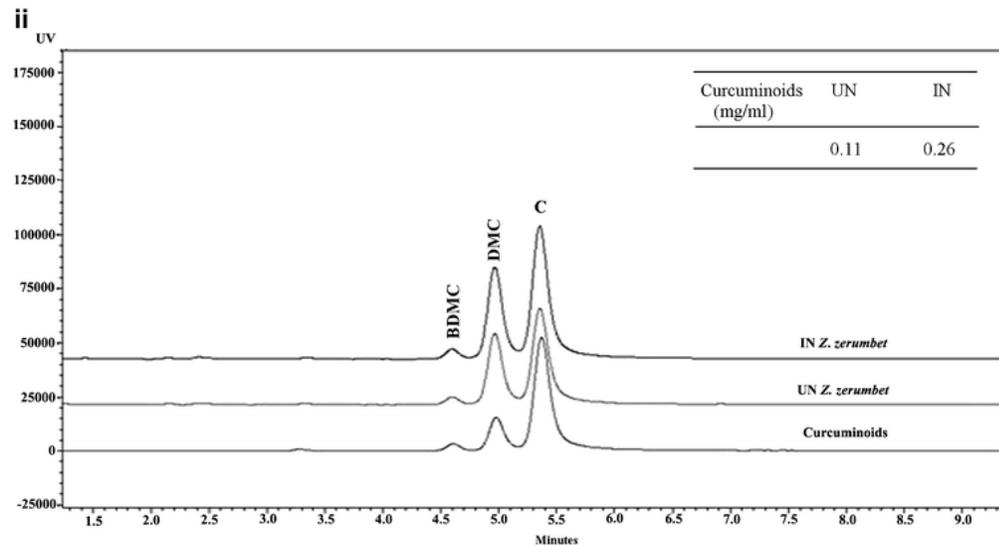
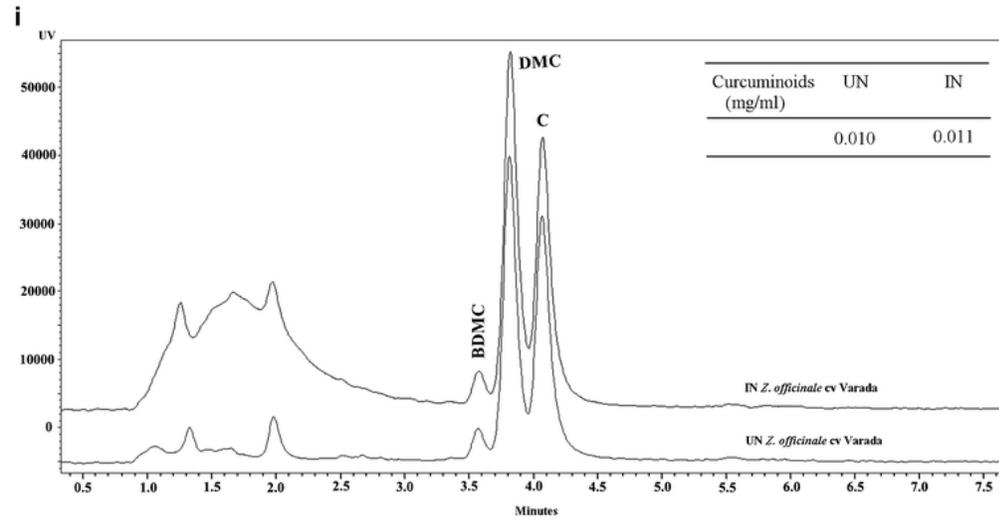
(-) = controle negativo.

(+) = rizomas inoculados.

Resultados e discussão:

- Em Zz (+), houve um aumento de 2 X no teor de curcuminoides contra Zz (-).
- Em Zo (+), NÃO houve um aumento significativo no teor de curcuminoides contra Zo (-).
- Resultados de ensaio adicional para determinar se os curcuminoides induzidos contribuíram para a resistência em Zz(+) mostraram, todavia, que os curcuminoides sozinhos não contribuem para a resposta de defesa (curcuminoides possuem baixa solubilidade).

Aumento de curcuminoides totais na espécie nativa em relação ao gengibre comercial (HPLC):



Conclusões

- O teor total de compostos fenólicos em gengibre comercial não está necessariamente relacionado à resistência ao *P. myriotylum*.
- Indução sistêmica nas atividades das enzimas PAL e TAL foram observadas em *Z. zerumbet*.
- Não houve indução em gengibre; embora os níveis iniciais de PAL em gengibre fossem altos, houve decréscimo da PAL e da TAL em gengibre após a inoculação.
- O total de curcuminoides aumentou em *Z. zerumbet* em comparação com o gengibre comercial.
- Mais do que constitutivos, metabólitos de defesa induzidos contribuem para restringir a invasão do patógeno em *Z. zerumbet*.

Obrigado!

(Cláudia Alves de Almeida e Arnaldo)