

ARTIGO RECEBIDO: 05/12/2023 – APROVADO: 06/03/2024 - PUBLICADO: 22/04/2024

RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE ARROZ IRRIGADO À MANCHA-PARDA E RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS NAS PLANTAS À *Bipolaris oryzae*

*RESISTANCE OF IRRIGATED RICE GENOTYPES TO BROWN SPOT AND PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL RESPONSES IN PLANTS TO *Bipolaris oryzae**

*RESISTENCIA DE GENOTIPOS DE ARROZ RIGADO A LA MANCHA MARRÓN Y RESPUESTAS FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS EN PLANTAS A *Bipolaris oryzae**

*João Victor de Almeida Oliveira*¹; Paulo Ricardo de Sena Fernandes²; Bruna Leticia Dias³; Dalmarcia de Souza Carlos Mourão⁴; Maykon Rodrigo Gomes de Barros⁵; Lorena Ribeiro Lima¹; Raimundo Nonato Carvalho Rocha⁶; Gil Rodrigues dos Santos*,⁷*

¹ Curso de Agronomia. Universidade Federal do Tocantins (UFT), Brasil;

² Mestre em Produção Vegetal. Universidade Federal do Tocantins (UFT), Brasil;

³ Engenheira de Bioprocessos e Biotecnologia. Universidade Federal do Tocantins (UFT), Brasil;

⁴ Doutora em Produção Vegetal. Universidade Federal do Tocantins (UFT), Brasil;

⁵ Mestre em Engenharia Ambiental. Universidade Federal do Tocantins (UFT), Brasil;

⁶ Doutor em Fitotecnia. Universidade Federal do Tocantins (UFT), Brasil;

⁷ Doutor em Fitopatologia, Bolsista Produtividade - CNPq. Universidade Federal do Tocantins (UFT), Brasil.

*Correspondência: gilrsan@uft.edu.br

RESUMO

O arroz (*Oryza sativa* L.) constitui-se o alimento básico para cerca de 2,4 bilhões de pessoas, desempenhando importante papel tanto econômico quanto social. Apesar do Tocantins se destacar como terceiro maior produtor, tem potencial de aumentar a produtividade, desde que ocorra o controle eficaz das doenças. Entre as principais, a Mancha-parda se destaca, devido ao fungo *Bipolaris oryzae* também provocar a mancha dos grãos. Poucos estudos têm relacionado a resistência de cultivares do arroz com os mecanismos bioquímicos de respostas às infecções. Desta forma, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a resistência de genótipos de arroz irrigado à mancha-parda e respostas fisiológicas e bioquímicas das plantas. Os resultados obtidos, em campo, por meio da Área Abaixo da Curva de Progresso de Doença (AACPD) e em ambiente controlado, por meio das atividades enzimáticas, demonstraram a variação na resistência à Mancha-parda. Com relação às enzimas mensuradas, houve diferenças entre as plantas inoculadas com *B. oryzae* e o tratamento testemunha, sem inoculação. Para a enzima Peroxidase de Fenóis (POx), verificou-se que não houve resposta enzimática em relação à infecção por *B. oryzae*. Por outro lado, para a Quit, houve maior nível enzimático nas plantas infectadas quando comparado às plantas não infectadas.

Palavras-chave: *Oryza sativa*. Controle genético. Enzimas. Fitopatógenos

ABSTRACT

Rice is the staple food for around 2.4 billion people, playing an important economic and social role. Although Tocantins stands out as the third largest producer, it has the potential to increase productivity, as long as there is effective disease control. Among the main ones, Brown Spot stands out, due to the fungus *Bipolaris oryzae* also causing grain spot. Few studies have related the resistance of rice cultivars to the biochemical mechanisms of response to infections. Thus, the present work aimed to evaluate the resistance of irrigated rice genotypes to brown spot and physiological and biochemical responses of plants. The results obtained in the field through the Area Below the Disease Progress Curve (AACPD) and in a controlled environment, through enzymatic activities, demonstrated variation in resistance to Brown Spot. Regarding the enzymes measured, there were differences between the plants inoculated with *B. oryzae* and the control treatment, without inoculation. For the enzyme Phenol Peroxidase (POX) it was found that there was no enzymatic response in relation to *B. oryzae* infection. On the other hand, for Quit, there was a higher enzyme activity in infected plants when compared to uninfected plants.

Keywords: *Oryza sativa*. Genetic control. Enzymes. Phytopathogens.

RESUMEN

El arroz (*Oryza sativa* L.) es el alimento básico de alrededor de 2.400 millones de personas y desempeña un importante papel económico y social. Aunque Tocantins se destaca como el tercer mayor productor, tiene el potencial de aumentar la productividad, siempre y cuando se produzca un control eficaz de las enfermedades. Entre las principales destaca la mancha marrón, debido a que el hongo *Bipolaris oryzae* también causa la mancha del grano. Pocos estudios han relacionado la resistencia de los cultivares de arroz con los mecanismos bioquímicos de respuesta a las infecciones. Así, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la resistencia de genotipos de arroz de riego a la mancha parda y las respuestas fisiológicas y bioquímicas de las plantas. Los resultados obtenidos en campo, a través del Área Debajo de la Curva de Progresión de la Enfermedad (AACPD) y en ambiente controlado, a través de actividades enzimáticas, demostraron la variación en la resistencia a la Mancha Marrón. Com relação às enzimas mensuradas, houve diferenças entre as plantas inoculadas com *B. oryzae* e o tratamento testemunha, sem inoculação. Para a enzima Peroxidase de Fenóis (POx), verificou-se que não houve resposta enzimática em relação à infecção por *B. oryzae*. Por outro lado, para a Quit, houve maior nível enzimático nas plantas infectadas quando comparado às plantas não infectadas.

Descriptor: *Oryza sativa*. Control genético. Enzimas. Fitopatógenos.

INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.), mundialmente, constitui o alimento básico para cerca de 2,4 bilhões de pessoas, destacando-se pela produção e área de cultivo, desempenhando importante papel, tanto econômico quanto social (Fidelis, 2020). No cenário Brasileiro, o estado do Tocantins se destaca como o 3º maior produtor do cereal (IBGE, 2023).

Vários patógenos fúngicos podem reduzir os rendimentos na cultura do arroz, dentre eles o fungo *Bipolaris oryzae*, causador da mancha parda, que vem afetando a germinação de sementes, emergência de plântulas, redução na taxa fotossintética devido a lesões foliares, causando esterilidade

de espiguetas e reduzindo o rendimento e a qualidade dos grãos, podendo gerar perdas na colheita de até 90% (Tanh, 2018).

Na cultura do arroz a infecção pelo fungo *B. oryzae* é iniciada pelo micélio invasor, podendo entrar nas folhas através dos estômatos ou penetrar diretamente nas células epidérmicas e as lesões aparecem cerca de 18 h após a inoculação do patógeno na planta (Dallagnol et al. 2014). Os sintomas, tornam-se visíveis por meio do mecanismo de ataque do fungo às enzimas de manipulação da parede celular do vegetal (Dorneles et. al., 2019). A sobrevivência do patógeno pode ocorrer por até quatro anos em restos culturais, hospedeiros alternativos e sementes de arroz, sendo esta última uma importante forma de dispersão do inóculo entre as plantas (Imran et. al., 2020).

O manejo da mancha parda é difícil devido à grande parte dos genes de resistência conhecidos serem de efeitos quantitativos, por essa razão o controle da doença é realizado principalmente por meio de controle químico, cuja eficácia é dependente da época de aplicação, tecnologia de aplicação adotada e dos fungicidas utilizados (Mizobuchi et al. 2016).

O uso de cultivares resistentes, mesmo sendo uma importante alternativa para o manejo da doença, é uma ferramenta que não está totalmente disponível aos orizicultores. Este fato está atrelado ao reduzido número de cultivares com resistência e à relação parasitária necrotrófica exercida por *B. oryzae*. Fungos, pertencentes a esse tipo de relação parasítica, são reconhecidos por sua “agressividade e rápida infecção”, principalmente por necessitarem da morte da célula do hospedeiro para extraírem seus nutrientes necessários. Para isso, utilizam uma ampla diversidade de “mecanismo de ataque”, como produção de enzimas de degradação da parede celular e toxinas, as quais podem atuar como efector suprimindo as defesas das plantas ou agindo em pontos específicos na célula do hospedeiro, principalmente no processo fotossintético, levando ao estresse oxidativo e a ocorrência da peroxidação dos ácidos graxos, que conseqüentemente resulta na perda da integridade celular e necros do tecido vegetal.(Chhabra et al. 2023).

As plantas sob estresse biótico e abiótico geram um aumento das espécies reativas de oxigênio (ERO) estando envolvido na defesa e na resistência induzida de plantas contra diversos patógenos por meio do equilíbrio e ajuste do acúmulo de EROs (Keshavarz-Tohida et al., 2016). Entre os mecanismos de resistência de plantas aos microrganismos as respostas fisiológicas e bioquímicas estão entre as principais, com o objetivo de reduzir ou impedir diretamente a infecção quando os patógenos estão internamente nos tecidos. Poucos estudos têm conseguido relacionar a resistência do arroz com estes mecanismos de respostas devido aos complexos processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos e também existe uma base genética estreita das variedades de arroz irrigado à mancha parda.

Apesar da mancha parda ser considerada uma doença importante na cultura do arroz irrigado no Estado do Tocantins, devido aos danos que causa nas folhas, prejudicando a produtividade e a

qualidade de grãos, de acordo com a literatura consultada, praticamente não foram verificados trabalhos buscando a seleção de genótipos mais resistentes e os mecanismos de resistência envolvidos na interação patógeno-hospedeiro. Desta forma, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a resistência de genótipos de arroz irrigado à mancha-parda e respostas fisiológicas e bioquímicas das plantas.

MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida em duas etapas, sendo a primeira realizada no município de Formoso do Araguaia, com ensaios de campo compreendendo a identificação de genótipos de arroz em avançado valor de cultivo e uso (VCU) com resistência e suscetibilidade à mancha parda. O experimento em campo (Figura 1), foi delineado em blocos casualizados (DBC) com 20 genótipos e 4 repetições. Em uma segunda etapa, os ensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 6 genótipos dispostos em 4 repetições na área experimental da Universidade Federal do Tocantins, Campus Gurupi-TO, e consistiu na análise do progresso da doença em condições controladas. Também foram realizadas avaliações das respostas bioquímicas de resistência, por meio da quantificação das atividades enzimáticas dos genótipos.

Figura 1 - A, B-Vista geral do ensaio de arroz irrigado instalado a campo, Formoso do Araguaia -TO.



Dos 20 genótipos avaliados, foram selecionados três que apresentara resistência à Mancha parda, e três com susceptibilidade à doença, de acordo com a escala de notas, com graus variando de 0 a 9 (Silva *et. al.* (2022)). Para avaliar a severidade da doença foram realizadas cinco avaliações semanais, sendo estas ocorridas nos estádios vegetativos e reprodutivos da cultura do arroz. Em ambiente controlado, as avaliações iniciaram após dois dias da retirada das plantas da câmara úmida sendo avaliadas a cada 48 horas até completar a estabilidade do progresso da doença. Por meio das avaliações de severidade em campo e em ambiente controlado, foi realizado o cálculo de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), de acordo com a seguinte fórmula:

Oliveira Almeida, J. V.; et al.. RESISTÊNCIA DE GENÓTIPOS DE ARROZ IRRIGADO À MANCHA-PARDA E RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS NAS PLANTAS À *Bipolaris oryzae*. DESAFIOS - Revista Interdisciplinar Da Universidade Federal Do Tocantins, 11(3). https://doi.org/10.20873.2024_v3_25

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{[(X_i + X_{i+1})]}{2} \cdot (T_{i+1} - T_i)$$

Para a interpretação da AACPD, “n” se refere ao número de avaliações, “x” é a severidade da doença e “t” ($T_{i+1} - T_i$) é o intervalo de tempo entre duas avaliações consecutivas. Aos 40 dias após a semeadura (DAS) foi inoculado o fungo *B. oryzae*, utilizando câmara de Neubauer, com a concentração de 1×10^4 conídios/mL, para cada vaso, em seguida, as plantas foram mantidas em câmara úmida por 48 horas sob temperatura de ± 27 graus e umidade relativa do ar acima de 0%.

Após a estabilização do progresso da doença, foi quantificada a atividade enzimática utilizando as folhas frescas dos genótipos de arroz selecionados, totalizando 48 amostras, contendo 200 gramas de folhas frescas que, em seguida foram maceradas em nitrogênio líquido. Ao formar o pó, adicionou-se 1,5 mL de solução tampão Fosfato de potássio 100 mM a pH neutro (7,0), EDTA 1mM e ascorbato 1mM para compor o tampão de extração.

Para a extração do teor proteico utilizado na determinação das atividades enzimáticas foi utilizada 200 gramas de material vegetal fresco, retirado da parte aérea dos genótipos avaliados, que posteriormente passou pelo processo de maceração em nitrogênio líquido com polivinilpirrolidona a 20% homogeneizado com Tampão Fosfato de Potássio e, posteriormente, foi adicionado à solução EDTA e ascorbato (1 mM). A solução foi submetida a centrifugação a 10.000 rpm por 25 min e o extrato proteico foi armazenado em câmara fria (-20°C) para conservá-lo até a realização das análises.

A quantificação da atividade da Superóxido Dismutase (SOD) se deu a partir de adaptações da metodologia proposta por Beauchamp e Fridovich (1971) e consistiu na adição do fosfato de potássio (pH 7,8) em uma solução de EDTA, L-metionina, NBT e riboflavina. Após a adição do extrato proteico, a solução foi colocada em câmara leve e a absorbância foi medida a 540 nm com utilização do BioSpectro modelo SP -220. Os resultados da atividade enzimática foram quantificados e expressos em $\text{U g}^{-1} \text{E}^{-1} \text{min}^{-1}$. Já a atividade das enzimas decompositoras de peróxido de hidrogênio (CAT, APX e POX) foram quantificadas por meio da redução da absorbância por 3 min, com leituras a cada 15 s.

Para a análise da CAT, a metodologia de Havir e e Mchale (1984) foi submetida a adaptações, sendo o tampão fosfato misturado ao peróxido de hidrogênio e a reação se-deu início a partir da adição do extrato proteico contendo material vegetal. A absorbância foi aferida e os resultados da atividade expressos em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{E}^{-1} \text{min}^{-1}$ conforme Amako et, al. (1994). A atividade da Peroxidase de fenóis foi quantificada com absorbância a 470 nm, e o tampão acetato de sódio foi misturado ao guaiacol, ao peróxido de hidrogênio e ao extrato proteico, os resultados foram expressos em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{E}^{-1} \text{min}^{-1}$. A atividade da enzima Ascorbato de Peroxidase foi mensurada com base na metodologia de Asada e Takahashi (1987) e para o preparo da solução, foi misturado o tampão fosfato de potássio com o ácido

ascórbico, peróxido de hidrogênio e extrato proteico. A análise ocorreu com leitura a 290 nm e os resultados foram expresso em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ E}^{-1} \text{ min}^{-1}$.

A mensuração da atividade da enzima Quitinase foi realizada com base nos pressupostos metodológicos de Wirth e Wolf (1990) e consistiu na Mistura do Tampão Acetato de Sódio, CM-Quitina-RBV® e extrato proteico para a o preparo da solução que, posteriormente, foi incubada a 40° C por cerca de 20 min. A reação foi interrompida por meio da adição de HCL, resfriamento e centrifugação. Para as leituras, o aparelho foi calibrado com absorbância a 550 nm e a atividade da QUIT foi expressa em unidades de absorbância por minuto (U min^{-1}).

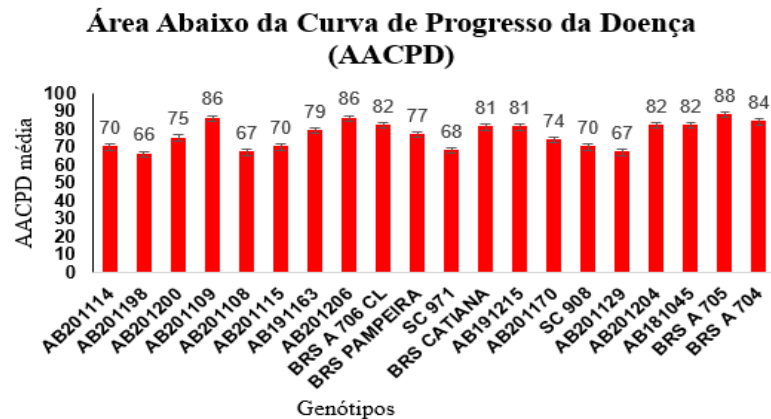
Após o preparo do extrato, foram quantificadas a atividade das enzimas Superóxido Dismutase (SOD), Peroxidase de Fenóis (POX), Catalase (CAT), Peroxidase de Ascorbato (APX) e Quitinase (QUIT) para mensurar o estresse oxidativo provocado pela infecção por *B. oryzae* e os resultados foram submetidos ao teste de Tukey a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO*

A relação parasitária envolvida no processo infeccioso hospedeiro – *B oryzae* é do tipo necrotrófica e se caracteriza pela morte do tecido vegetal para, a partir disso, ocorrer a extração dos nutrientes necessários para o desenvolvimento do fungo (Dorneles et. al, 2019). Ainda, à medida que ocorre a infecção, são inoculadas toxinas no vegetal que agem em pontos específicos nas células do hospedeiro, levando a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), contribuindo para o colapso celular (Chhabra et al. 2023).

No que se refere a evolução e progresso da doença nas condições de várzea no município de Formoso do Araguaia, pode-se destacar que dentre os 20 genótipos avaliados foram selecionados, com base nos dados médios da AACPD, os três genótipos resistentes AB201198, AB201108 e AB201129 que obtiveram os correspondentes aos menores graus de severidade nas avaliações. Também foram selecionados os três genótipos considerados suscetíveis, sendo: BRS A705, AB201206 e AB201109 que receberam notas de avaliação mais altas em condições de campo, em comparação aos demais genótipos. Esses detalhes poderão levar a resultados completamente diferentes quando se compara os resultados nos dois ambientes de ensaio.

Gráfico 1 - Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença (AACPD) de genótipos de arroz irrigado à Mancha Parda, em condições de campo, no Município de Formoso do Araguaia, Tocantins.

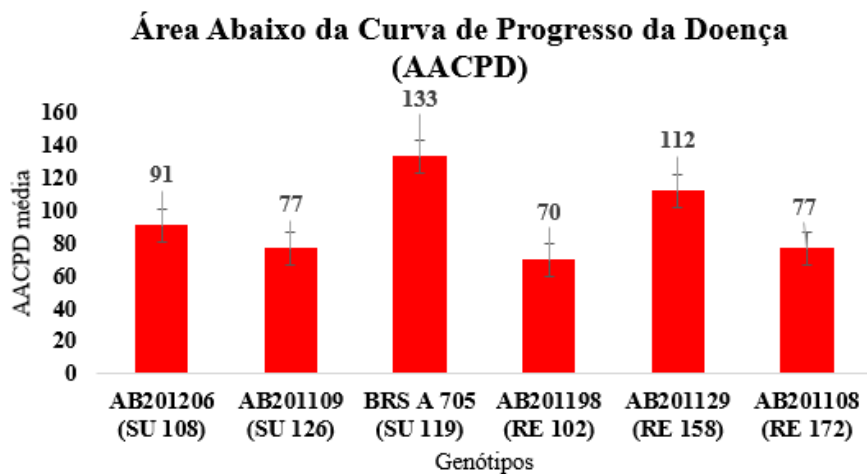


Fonte: Oliveira, 2023.

Após a identificação e seleção dos genótipos em campo, foi realizada a verificação do progresso da doença em condições controladas, possibilitando observar que o comportamento dos genótipos suscetíveis foi similar às condições de campo, uma vez que a maioria dos genótipos apresentaram as maiores médias de AACPD quando comparado aos resistentes.

Deve-se destacar, que o genótipo resistente AB201129 selecionado na primeira etapa de avaliação apresentou maior suscetibilidade que o material AB201206 que fora levantado como suscetível, conforme ilustra a figura 3. A variação entre o comportamento dos genótipos em condições controladas pode estar relacionada diretamente à quantidade de inóculo que infecta a planta em campo, que poderá atingir de forma heterogênea a superfície das plantas. Por outro lado, sob condições controladas a concentração de conídios inoculados foi homogênea para todos os genótipos.

Gráfico 2 - Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), de genótipos de arroz irrigado à Mancha Parda, sob condições controladas, em Gurupi, Tocantins.



Fonte: Oliveira, 2023.

As infecções por microorganismos estão entre as principais causas de ativação do mecanismo de defesa das plantas e os mecanismos de eliminação das espécies reativas de oxigênio, geradas em excesso, garantem a sobrevivência dos vegetais (Singh et. al., 2016). A interação patógeno-hospedeiro pode ser classificada de duas formas, sendo a primeira compatível, quando a infecção é bem sucedida e, conseqüentemente, ocorre formação de peróxido nos compartimentos celulares, provocando aparecimento de lesões características da doença, e a segunda incompatível quando os mecanismos de defesa da planta são ativados, gerando a resistência à infecção e evitando o aparecimento de lesões (Starling, 2019). Nesse sentido, para os tratamentos avaliados foi observado que as interações planta-patógeno foram compatíveis, mas o progresso da doença se diferiu entre os genótipos avaliados, possivelmente em resposta a ativação dos mecanismos enzimáticos de defesa.

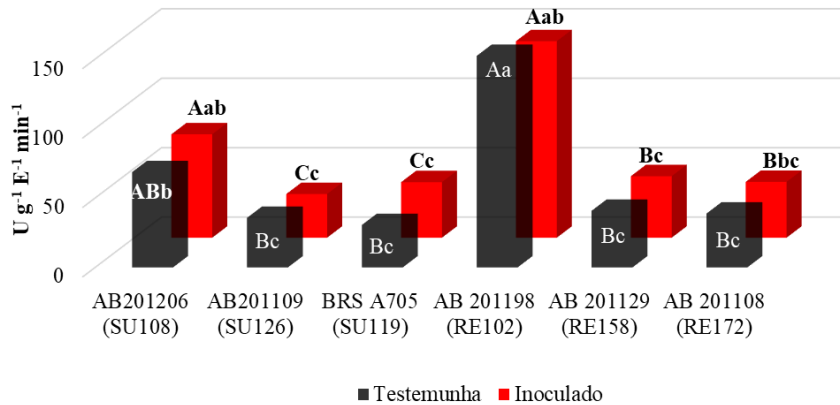
Sabe-se que em resposta às infecções e ao acúmulo de substâncias nocivas à planta, podem ser ativados mecanismos enzimáticos que conferem resistência. Dentre esses, merece destaque a via antioxidante da enzima Superóxido Dismutase (SOD), demonstrada na figura 4, que se encontra em quase todos os compartimentos celulares do vegetal (Wang et al., 2019) e se relaciona diretamente com a dismutação de radicais superóxidos (O_2^-) em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e oxigênio (O_2) (Callegari, 2020).

A evolução da doença pode ser observada, também, nos resultados bioquímicos realizados para a quantificação da atividade enzimática, uma vez que a Superóxido Dismutase (SOD), ilustrada na figura 4, apresentou maior atividade no genótipo AB201198 se diferindo estatisticamente do BRS A705 que obteve menor atividade quando comparado aos demais genótipos e exteriorizou maiores sintomas da Mancha parda. Para as comparações dentro do mesmo genótipo, não houveram diferenças significativas, evidenciando que em condições naturais, os genótipos já apresentam atividade da SOD.

Mourão (2021) também observou que a atividade da SOD aumentava progressivamente a medida que se aumentava a concentração do óleo essencial de *Xylopi frutescens*. Similar a isso, o processo infeccioso com *B. oryzae* também ativa o mecanismo primário de resistência da planta por meio do aumento da atividade da SOD e, conseqüentemente, da produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que entra em outras vias metabólicas como substrato para ativação das demais enzimas envolvidas na defesa das plantas abordadas nesse trabalho.

Gráfico 3 - Análise bioquímica da enzima Superóxido Dismutase (SOD), em genótipos de arroz inoculados com *Bipolaris oryzae*.

Superóxido Dismutase



Fonte: Oliveira, 2023.

Médias seguidas das mesmas letras, maiúsculas entre os genótipos e minúsculas dentro do mesmo genótipo, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Quanto a Ascorbato de Peroxidase (APx), Barbosa et al. (2010) define que essa é uma das principais enzimas que atuam catalisando o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), utilizando o ascorbato como agente redutor na reação de conversão do H_2O_2 em água. A APX atua ativamente no complexo antioxidante dos vegetais e regula a resposta bioquímica e molecular da planta em relação às pressões ambientais, promovendo interações com várias moléculas de sinalização química.

Desse modo, ao longo da avaliação da taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm, foi observado que houve diferença estatística entre os materiais inoculados com *B. oryzae*, conforme ilustra a figura 5 A, destacando que os genótipos suscetíveis AB201109 e o BRS A 705 apresentaram maior atividade da enzima quando comparado ao genótipo resistente AB201206 que apresentou os menores valores. Ademais, quando realizada a comparação entre o grupo inoculado e o grupo controle, no mesmo genótipo, pôde-se observar que apesar da discrepância entre os valores não foram identificadas diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5%.

Em relação à enzima Peroxidase de fenóis (POx), apresentada na figura 5 B, os valores demonstram que houve atividade da enzima nos tratamentos, mas deve-se destacar que alguns fatores podem ter interferido na atividade dos genótipos inoculados quando comparada a testemunha, dentre os fatores mais comuns, a ausência dos cofatores Manganês (Mn^{2+}) e compostos fenólicos estão entre os principais, uma vez que estão envolvidos com a ativação da enzima. Desse modo, o gasto energético para sua ativação, possivelmente, fez a fisiologia da planta buscar rotas metabólicas envolvendo enzimas que independem da presença de cofatores.

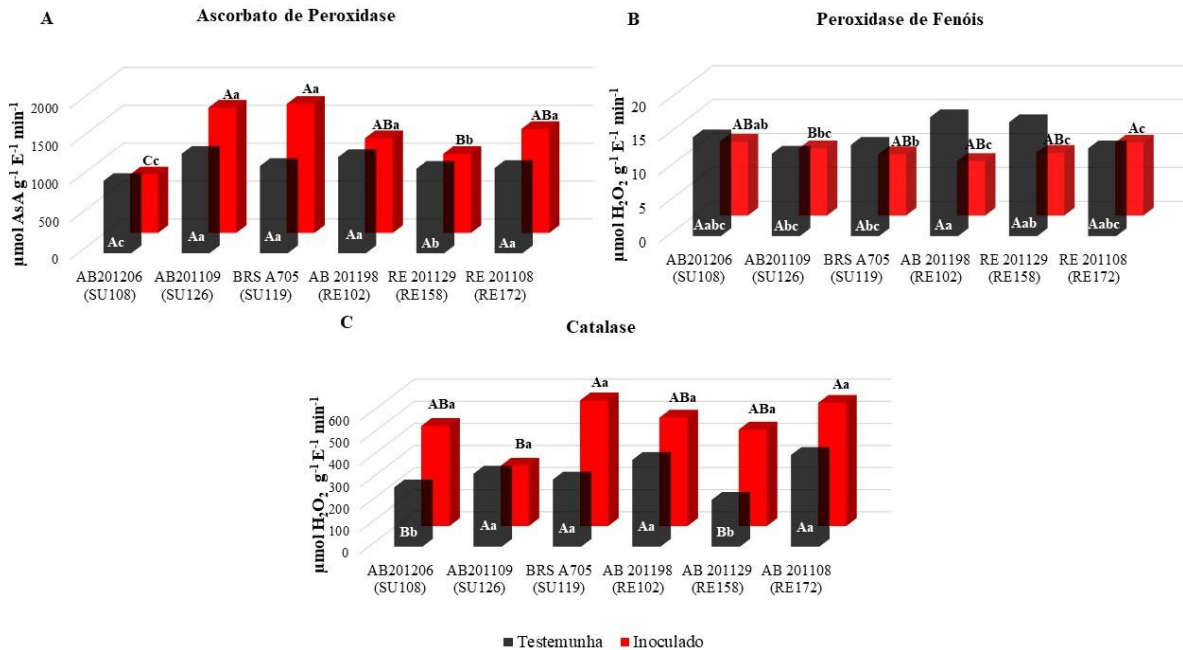
No comparativo entre os genótipos não houve diferença estatística significativa com $p < 0,05$ (Figura 5 B), mas dentro do genótipo AB 201198 foram apontadas diferenças estatísticas. No geral, foi demonstrado que a atividade da POx para a infecção por *B. oryzae* em arroz foi significativa apenas no tratamento controle para os genótipos AB 201198 e AB 201129, quando comparada aos demais genótipos.

Não somente a Apx e a POx são enzimas importantes para a planta, mas também a Catalase (CAT) apresenta papel fundamental para minimizar os efeitos oxidativos gerados pela presença das ERO's. De modo geral, a Catalase é um enzima responsável por converter o peróxido de hidrogênio presente nos compartimentos celulares, utilizando duas moléculas de H_2O_2 para formar água e oxigênio (Callegari, 2020).

Para as análises do tecido vegetal, foi observado, conforme ilustra a figura 5 C, que o tratamento inoculado obteve as maiores médias em relação a atividade da Catalase, evidenciando que a presença do patógeno ativa o mecanismo de defesa do arroz e, nesse sentido, a cultivar BRS A705, obteve o melhor resultado, se diferindo estatisticamente apenas do AB201109, a qual expressou sintomas para o tratamento avaliado. O aumento da atividade da CAT também foi observado nos trabalhos de Araújo (2016) quando foi avaliada a resposta de Araçazeiros da Costa Rica à inoculação com *Meloidogyne enterolobii*.

Ainda, no que se refere ao tratamento controle, a atividade da CAT não se diferiu entre os genótipos. Dentre as vantagens propostas na literatura para a atividade da CAT, pode-se citar a independência de fatores reducionais para eliminação de H_2O_2 , fornecendo, dessa forma, ferramentas com alta eficiência para a remoção e controle dos níveis elevados de peróxido de hidrogênio associado ao menor gasto energético para a ativação enzimática (Mourão, 2021).

Gráfico 4 - Análise bioquímica das enzimas degradadoras de H_2O_2 (5A- APx; 5B- POx e 5C- CAT), em genótipos de arroz inoculados com *Bipolaris oryzae*.



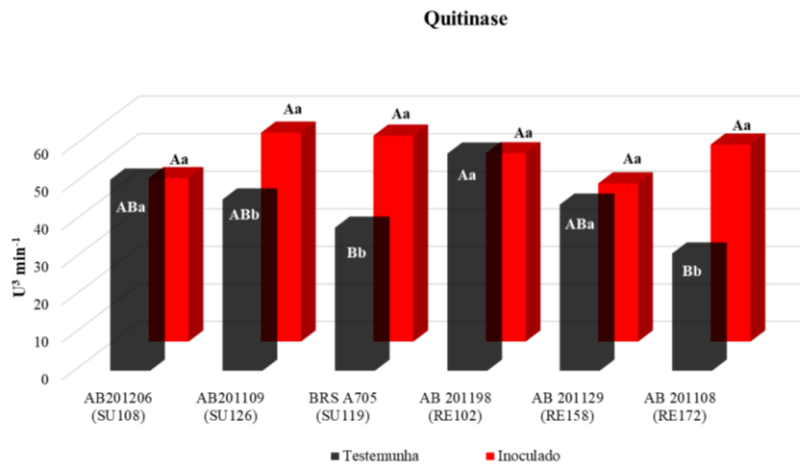
Fonte: Oliveira, 2023.

Médias seguidas das mesmas letras, maiúsculas entre os genótipos e minúsculas dentro do mesmo genótipo, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

Como mecanismo fisiológico de defesa das plantas também são encontradas enzimas que atuam degradando as estruturas do patógeno, como é o caso da Quitinase (QUIT), ilustrada na figura 6, que apresenta ação direta sobre o patógeno, especificamente na degradação da quitina que forma a parede celular dos fungos.

Para a avaliação da atividade enzimática, pode se destacar que os níveis da enzima Quitinase 10 dias após a inoculação (DAI) variaram conforme a evolução da doença. Foi observado, também, nos trabalhos de Dorneles et al. (2019) que nas primeiras horas de infecção com *B. oryzae* ocorria aumento progressivo da atividade e redução no decorrer do tempo, indicando que os níveis da atividade da Quit estariam relacionados diretamente ao consumo da enzima. Os genótipos susceptíveis não apresentaram discrepância significativa entre o tratamento controle e o inoculado pelo teste de Tukey a 5%. Entretanto, para as comparações dentro do mesmo genótipo os materiais, pode se observar que o AB201108, AB201109 e BRS A705 obtiveram a atividade da enzima superior quando comparada as suas testemunhas.

Gráfico 5 - Análise bioquímica da enzima Quitinase (QUIT), em genótipos de arroz inoculados com *Bipolaris oryzae*.



Fonte: Oliveira, 2023.

Médias seguidas das mesmas letras, maiúsculas entre os genótipos e minúsculas dentro do mesmo genótipo, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

CONCLUSÃO

As avaliações da Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD), realizadas a campo e em ambiente controlado, demonstraram que os genótipos selecionados em campo apresentaram resistência quando inoculados com *B. oryzae* em condições controladas. O mecanismo de resistência está relacionado com características morfofisiológicas nas plantas de arroz que minimiza os impactos durante a interação patógeno-hospedeiro, reduzindo a exteriorização das lesões características da doença.

Os genótipos que apresentaram maior atividade da enzima Superóxido dismutase (SOD) foram o AB 201198 e o AB 201206, ambos elencados como resistentes nos resultados da primeira e segunda AACPD. Para os tratamentos avaliados, foi possível identificar a redução da atividade da Peroxidase de Fenóis (POx), possivelmente, em resposta da atividade das demais enzimas degradadoras de peróxido apresentar maiores resultados, evidenciando que a planta optou por utilizar diferentes rotas metabólicas em resposta a infecção à *B. oryzae*.

A enzima que obteve os resultados mais satisfatórios nos genótipos avaliados foi a Catalase, haja vista que em resposta a infecção pelo patógeno, os valores da atividade nos genótipos inoculados se diferiram estatisticamente do tratamento controle. No que se refere a enzima Quitinase, para os tratamentos inoculados a atividade foi superior ao tratamento controle, apesar de não demonstrar diferenças estatísticas significativas (ANOVA) entre os genótipos inoculados.

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal do Tocantins pelo espaço concedido para a realização do experimento, Ao CNPq pelo financiamento da pesquisa e ao Grupo de Estudos em Fitopatologia (GEFITO-UFT) por todo apoio técnico e emocional durante as avaliações de campo e laboratório.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

BIBLIOGRAPHY

ARAÚJO, E. O. A. Avaliação morfológica e enzimática de plantas de psidium spp. Infectadas com meloidogyne enterolobii. Natal, RN. **Dissertação de mestrado**. Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN); 2016.

AMAKO, Katsumi; CHEN, Gong-Xiang; ASADA, Kozi. Separate assays specific for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase in plants. **Plant and Cell Physiology**, v. 35, n. 3, p. 497-504, 1994.

ASADA, K.; TAKAHASHI, M. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. D.J. Kyle, C.B. Osmond, C.J. Arntzen (Eds.), Photoinhibition, **Elsevier Science Publishers**, New York, 227-287, 1987.

BEAUCHAMP, Charles; FRIDOVICH, Irwin. Superóxido dismutase: ensaios melhorados e um ensaio aplicável a géis de acrilamida. **Bioquímica analítica**, v. 44, n. 1, pág. 276-287, 1971.

BEDENDO, I. P.; PRABHU, A. S. Doenças do Arroz. In: AMORIN, L. et al. (Eds.) Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas. 5 ed. São Paulo, SP: **Agronômica Ceres**. 2016. v. 2, cap. 10, p. 87-99.

BRANDÃO, D. F. R. Isolamento de micro-organismos antagonistas de solo para o controle de Bipolaris oryzae, agente causal da mancha parda em arroz. São Paulo, SP. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo -USP; 2018.

CALLEGARI, D. M. Expressão de genes de catalase e peróxido dismutase da mandioca durante interação com Phytophthora sp. Belém, PA. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal Rural da Amazônia -UFRA; 2020.

CHHABRA, R.; SHARMA, R.; HUNJAN, M.S.; SHARMA, V.K.; SHARMA, P.; CHAUHAN, S.K. Variações microestruturais e metabólicas induzidas por Bipolaris oryzae incitando a doença da mancha marrom do arroz. **Comunicações de Pesquisa de Cereais**, v.1, p. 1-16. 2023.

DALLAGNOL, L. J.; RODRIGUES, F. A.; MIELLI, M. V. B.; MA, J. F. Rice grain resistance to brown spot and yield are increased by silicon. **Tropical Plant Pathology**, Lavras, v. 39, n. 1, p. 56-63, 2014.

DORNELES, K. R.; PAZDIORA, P. C.; MARQUEZIN, D.; REBHORN, I. G.; MORELLO, T. N.; DALLAGNOL, L. J. Componentes bioquímicos e epidemiológicos associados à resistência do arroz à mancha parda. **Summa Phytopathologica**, v.45, n.1, p.44-49, 2019.

FIDELIS, R. R.; KISCHEL, E.; CANCELLIER, E. L.; TAVARES, T. C. de O.; LOPES, M. B. S.; MARQUES, K. R. Efeito do rolo compactador na semeadura de variedades de arroz em várzeas tropicais. **Revista Brasileira De Agropecuária Sustentável**, 10: 17-24, 2020.

HAVIR, Evelyn A.; MCHALE, Neil A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant physiology**, v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático da Produção Agrícola. 2023. Disponível em <https://ftp.ibge.gov.br/Producao_Agricola/Levantamento_Sistemático_da_Producao_Agricola_%5Bmensal%5D/Fasciculo_Indicadores_IBGE/2023/estProdAgri_202301.pdf> acesso em 09/09/2023.

IMRAN, M.; SAHI, S.T.; ATIQ, M.; RASUL, A. Mancha marrom nas folhas: uma doença embrionária exacerbada do arroz: uma revisão. **Jornal de Ciências Inovadoras**, v. 2, p. 108-125. 2020.

MANDAL, S. Induction of phenolics, lignina and key defense enzymes in eggplant (*Solanum melongena* L.) roots in response to elicitors. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 47, p. 8038–8047, 2010.

MIZOBUCHI, R.; FUKUOKA, S.; TSUSHIMA, S.; YANO, M.; SATO, H. QTLs for resistance to major rice diseases exacerbated by global warming: brown spot, bacterial seedling rot, and bacterial grain rot. **Rice**, New York, v. 9, n. 23, 2016.

MOURÃO, D. S. C. Levantamento do uso e potencial fungitóxico de óleos essenciais de plantas com vistas ao controle alternativo de fitopatógenos e suas ações inseticidas. Gurupi, TO. **Tese de doutorado**. Universidade Federal do Tocantins -UFT; 2021.

KESHAVARZ-TOHIDA, V.; TAHERI, P.; TAGHAVI, S. M. TARIGHI, S. O papel do óxido nítrico na resistência basal e induzida em relação ao peróxido de hidrogênio e enzimas antioxidantes. **Journal of Plant Physiology**, v. 199, p. 29-38, 2016.

SILVA, D. A.; HAMAWAKI, C.L.; JULIATTI, B.C.M.; SANTOS, L. N., HAMAWAKI, O.T., BORGES, D.L.; Nogueira, A.P.O.; Um sistema fitopatométrico automático para avaliação da severidade de clorose e necrose da infecção pela ferrugem asiática da soja. **Computadores e Eletrônica na Agricultura**, v. 192, p. 106542, 2022.

SINGH, S., PARIHAR, P., SINGH, R., SINGH, V.P., PRASAD, S.M., ANTONIO, C. Heavy metal tolerance in plants: role of transcriptomics, proteomics, metabolomics, and ionomics. **Front. Fronteiras nas ciências de plantas**. V. 6, p. 1143. 2016.

STARLING, Cíntia da Silva Alves Zappavigna et al. Características bioquímicas do parasitismo de *Meloidogyne enterolobii* e *M. Incognita* em cultivares de pimentão. Botucatu, SP. **Tese de doutorado**. Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho -UNESP; 2019.

THANH, N. **A doença da mancha marrom infectou mais de 2.000 hectares de arroz primavera em Ha Tinh**. 2018. Disponível online: <https://nongnghiep.vn/benh-dom-nau-tiem-lua-an-hon-2000-ha-lua-xuan-o-ha-tinh-d216544.html>, acessado em 18/11/2023.

WANG, W.; ZHANG, X.; DENG, F.; YUAN, R.; SHEN, F. Genome-wide characterization and expression analyses of superoxide dismutase (SOD) genes in *Gossypium hirsutum*. **BMC Genomics**, v. 18, n. 1, p. 1-25, 2017.

WIRTH, S. J.; WOLF, G. A. Substratos marcados com corante para ensaio e detecção de atividade de quitinase e lisozima. **Revista de Métodos Microbiológicos**, v. 12, n. 3-4, pág. 197-205, 1990.

ZHANG, S.; LI, Q.; MA, K.; CHEN, L. Temperature-dependent gas exchange and stomatal/non-stomatal limitation to CO₂ assimilation of *Quercus liaotungensis* under midday high irradiance. *Photosynthetica*, v. 39, p. 383-388. 2001.