



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL



AURORA MARIA ROSA DE OLIVEIRA

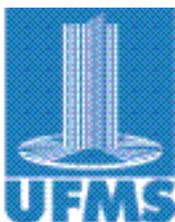
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**PROTEÍNAS DE DEFESA EM FOLHAS DE *Memora peregrina*
(Miers) Sandwith (Bignoniaceae) – UMA ESPÉCIE INVASORA DE
PASTAGENS**

Orientação: Prof^a. Dr^a. Maria Rita Marques

Co-orientação: Prof^a. Dr^a. Maria Ligia Rodrigues Macedo

CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
2009



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL



Fundect

Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino,
Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul

AURORA MARIA ROSA DE OLIVEIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**PROTEÍNAS DE DEFESA EM FOLHAS DE *Memora peregrina*
(Miers) Sandwith (Bignoniaceae) – UMA ESPÉCIE INVASORA DE
PASTAGENS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, como um dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Biologia Vegetal, junto ao Departamento de Biologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, sob Orientação da Prof^a. Dr^a. Maria Rita Marques e Co-orientação da Prof^a. Dr^a. Maria Ligia Rodrigues Macedo.

CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
2009

AURORA MARIA ROSA DE OLIVEIRA

**PROTEÍNAS DE DEFESA EM FOLHAS DE *Memora peregrina*
(Miers) Sandwith (Bignoniaceae) – UMA ESPÉCIE INVASORA DE
PASTAGENS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, como um dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Biologia Vegetal, junto ao Departamento de Biologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, sob Orientação da Prof^a. Dr^a. Maria Rita Marques e Co-orientação da Prof^a. Dr^a. Maria Ligia Rodrigues Macedo.

APROVADA em 17 de abril de 2009

Prof.^a Dr.^a (orientadora) Maria Rita Marques UFMS

Prof.^a Dr.^a Sonia Machado de Campos Dietrich IBt/USP

Prof.^a Dr.^a Teresa Cristina Stocco Pagotto UFMS

CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
2009

“Existe apenas um bem, o saber, e apenas um mal, a ignorância.”

Sócrates

“Uma mente que tenha sido estirada por novas idéias nunca poderá recobrar sua forma original.”

Albert Einstein

“Aceite com sabedoria o fato de que o caminho está cheio de contradições. Há momentos de alegria e desespero, confiança e falta de fé, mas vale à pena seguir adiante.”

Paulo Coelho

Dedico este trabalho a Deus e aos meus Pais, André e Aurora, pois, sem eles eu não teria chegado até aqui, e sem o apoio deles não sei o que eu seria. Dedico também aos meus irmãos, Andreliza e Andre Vitório, que aguentaram meus altos e baixos, e me ajudaram a esquecer os problemas. Por fim, dedico ao Coronel Argemiro de Souza Dias Neto, *in memoriam*, que sempre me apoiou e acreditou que eu me destacaria e cresceria no que gosto e amo.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Dr^a. Maria Rita Marques, pela orientação e ensinamentos transmitidos;

À Dr^a. Alexandra Penedo de Pinho e ao Msc. Alan Fredy Eriksson pelo auxílio nas análises estatísticas, e ótimas idéias para melhoria desta;

Aos membros da banca, pelo aceite para julgar esta dissertação e pela arguição;

À Dr^a. Josimara Rondon pela amizade, conhecimentos transmitidos e ajuda em todos os momentos;

Ao Dr. Valdemir Antonio Laura, Embrapa Gado de Corte, pelo apoio e incentivo na realização deste projeto;

Aos responsáveis pelas áreas dos Correios e Telégrafos (Campo Grande-MS) e da Fazenda Taipoca (Rochedo-MS);

Aos colegas de Mestrado, que me fizeram crescer e ser mais forte para ultrapassar todos os obstáculos colocados no meu caminho; principalmente à Cristiane, que foi amiga, irmã, confidente, psicóloga, pra tudo que eu precisava lá estava a Cris, te adoro menina;

Aos amigos e companheiros da Biossistemática e da Botânica, Fábio, Geciani, Ana Cristina, Esther, Wellington, Leila, Rosa, Lucas, Vivian, Halisson, a Dona Cida e a Dona Helena, pelo carinho, amizade, compreensão, por terem me apoiado nos momentos tipo montanha russa da minha vida, e por serem minha família fora de casa;

Aos amigos do Laboratório da Bioquímica, pela colaboração no trabalho e momentos de descontração, em especial a Amanda, Carla, Clarisse, Valdivia e aos Estagiários, César (meu “filho” de coração), Ana Eduarda, Ana Sheila, Ricardo, Gabriel, Carol, Gislaine e Roberto;

Aos Professores, da Escola Estadual Amélio de Carvalho Baís e do Colégio Militar de Campo Grande, principalmente, Alisson, Fabíola, Silvana, Fernando, Montanha, Setterval, Myrian Naap, Rodrigues, Neiva, Bronzoni, e todos meus ex-alunos pelo incentivo e compreensão; e a todos do Foreign Language Institute, principalmente aos meus alunos, agradeço pela torcida;

Aos meus “filhos” do AME, Jefferson, Johnny, Ewerthon, David, Segato, Joice, Juscilene, Luana e Bel, que me alegram sempre, mesmo distantes me transmitem bons sentimentos e pela torcida; e aos amigos do XXIII CEPE – ADESG/CG, pelo apoio e exemplo;

Aos amigos “psicólogos”, Edigar, Ariela, Romilson, Roberta, Valkenilda, Rubens, Padre Thiago, Padre Adalberto, Padre Marcelo, Clérigo João Neto, entre tantos outros que me deram palavras animadoras e de perseverança, que me fizeram continuar minha jornada;

Aos meus “amigos de fé meus irmãos camaradas” da Biologia, Regiane, Adriana, Camila, Paulo (paraguaio), Roberto, Mara, Alessandra, Liliana, Mírian, Élbio, Elizângela, Higor, Natália, Marlon, Isabela, Pollyana, Iolana (em memória), Patrick, Aline (krneirinho) e muitos outros, que fizeram meus dias mais felizes, por serem amigos tão queridos;

Ao Coronel de Cavalaria Argemiro de Souza Dias Neto (em memória), ex-Comandante do CMCG e ex-Coordenador da ADESG/CG, que sempre me apoiou e acreditou que eu me destacaria e cresceria no que gosto e amo;

A minha família, de perto, Meus Pais (André e Aurora) e Meus Irmãos (Andreliza e Andre Vitória), e de longe, tios e tias, primos e primas espalhados pelo Brasil, pelo incentivo e por compreender minha ausência durante o período da realização deste trabalho;

Agradeço a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e a FUNDECT (Fundação de Apoio ao Desenvolvimento de Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul) pela bolsa concedida;

À Coordenação do Mestrado em Biologia Vegetal da UFMS e à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, pelo auxílio financeiro na confecção do banner e ida ao Congresso Nacional de Botânica;

Ao corpo docente do Curso de Mestrado em Biologia Vegetal da UFMS pela amizade e pelo apoio;

E principalmente a Deus, por me dar força e paz interior, para concluir mais essa etapa da minha vida.

A TODOS AGRADEÇO DE CORAÇÃO!

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE QUADROS.....	vii
LISTA DE TABELAS	vii
RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
1.1 Plantas Invasoras.....	1
1.2 <i>Memora peregrina</i> (Miers) Sandwith (Bignoniaceae).....	4
1.3 Mecanismos de defesa de plantas	6
1.3.1 Proteínas de defesa.....	8
1.3.2 Dinâmica do metabolismo protéico de <i>M. peregrina</i>	11
2 OBJETIVOS	11
2.1 Geral.....	11
2.2 Específicos	12
3 REFERÊNCIAS.....	12
ARTIGO.....	20
Instruções aos autores (Brazilian Journal of Plant Physiology).....	21
Título.....	26
Abstract	27
Resumo.....	28
Introdução	29
Materiais e Métodos.....	32
Resultados	34
Discussão	37
Agradecimentos	43
Figuras e Tabelas	44
Referências Bibliográficas	57
CONCLUSÕES	67

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO

- Figura 1. Media e desvio padrão da taxa de crescimento de *M. peregrina* ao longo do tempo em Campo Grande (área dos Correios e Telégrafos) e Rochedo (Fazenda Taipoca), Mato Grosso do Sul. Barras cinzas correspondem a plantas que sofreram poda e barras pretas a plantas que não foram podadas. (n=96) 44
- Figura 2. Media e desvio padrão da quantidade total de proteína, fenilalanina amônia-liase (PAL), β -1,3-glucanase, atividade peroxidase pH 7,0, atividade peroxidase pH 5,0 e atividade peroxidase pH 8,6 em indivíduos podados e não podados de *M. peregrina*, na área dos Correios e Telégrafos no município de Campo Grande, MS. (n=24)..... 45
- Figura 3. Media e desvio padrão da quantidade total de proteína, fenilalanina amônia-liase (PAL), β -1,3-glucanase, atividade peroxidase pH 7,0, atividade peroxidase pH 5,0 e atividade peroxidase pH 8,6 em indivíduos podados e não podados de *M. peregrina*, na fazenda Taipoca no município de Rochedo, MS. (n=24) 46
- Figura 4. Relação entre o tempo e o crescimento de indivíduos de *M. peregrina* podados (círculos cheios) e não podados (círculos vazios). O tamanho dos círculos representa a quantidade de cada composto (indicado no gráfico) nas plantas da Fazenda Taipoca no município de Rochedo/MS. Alguns pontos foram deslocados no eixo X para evitar sobreposição entre eles. 47
- Figura 5. Relação entre o tempo e o crescimento de indivíduos de memora podados (círculos cheios) e não podados (círculos vazios). O tamanho dos círculos representa a quantidade de cada composto (indicado no gráfico) nas plantas da área dos Correios e Telégrafos no município de Campo Grande, MS. Alguns pontos foram deslocados no eixo X para evitar sobreposição entre eles. 48

LISTA DE QUADROS

INTRODUÇÃO GERAL

- Quadro 1. Características freqüentemente encontradas em espécies invasoras..... 2
- Quadro 2. Combinações entre estresse e perturbação..... 3

LISTA DE TABELAS

ARTIGO

- Tabela 1. Características químicas do solo (macronutrientes e micronutrientes) da área de Campo Grande (CG) e Rochedo (RC)..... 49

RESUMO

A espécie *Memora peregrina* (Miers) Sandwith (Bignoniaceae), popularmente conhecida como ciganinha, é nativa dos Cerrados de Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás e Minas Gerais. No seu ambiente natural a ocorrência desta planta é esparsa, restrita a clareiras. Em áreas desmatadas, cujo manejo não é feito corretamente, para formação de pastagens, esta espécie aparece competindo com forrageiras, chegando a dificultar a pastagem de bovinos, pois floresce, frutifica e produz sementes o ano todo. Os pecuaristas geralmente utilizam a poda mecânica para o controle da espécie; entretanto, este método elimina a parte aérea e fragmenta o sistema subterrâneo, estimulando o desenvolvimento desta estrutura, bem como disseminando propágulos de reprodução vegetativa, tornando a espécie mais competitiva, pois permite a ocupação da área manejada em curto espaço de tempo. O objetivo deste trabalho foi acompanhar a taxa de crescimento, a produção de proteínas solúveis totais e a atividade das enzimas β 1,3 glucanase, peroxidase e fenilalanina amônia-liase em folhas de indivíduos podados e não podados de *M.peregrina* em duas áreas do Mato Grosso do Sul, com alto grau de infestação por esta espécie, com a finalidade de verificar o impacto da injúria mecânica sobre a síntese de proteínas de defesa. Os indivíduos de *Memora peregrina* submetidos à poda mecânica apresentaram uma maior taxa de crescimento do que os indivíduos não podados, em ambas as áreas estudadas, corroborando os resultados obtidos por outros autores. Os teores de proteínas solúveis e a atividade das peroxidases nos pHs 5,0, 7,0 e 8,6 foram maiores nas folhas nos indivíduos podados de *M.peregrina* do que nos indivíduos não podados, durante alguns períodos após a poda, que foram diferentes para cada grupo de macromoléculas analisadas. É sugerido que as variações observadas na atividade das peroxidases de folhas de indivíduos podados de *M.peregrina* pode ser uma resposta à poda mecânica (aumento das peroxidases básicas e neutras), bem como o resultado da participação das mesmas nos processos de crescimento (aumento das peroxidases ácidas). A atividade das enzimas β -1,3-glucanase e da fenilalanina-amônia-liase foi semelhante entre indivíduos de *M.peregrina* podados e não podados, indicando que a poda mecânica não é um fator indutor destes processos de defesa nesta espécie.

Palavras-chave: ciganinha; proteínas solúveis totais, fenilalanina amônia-liase; peroxidase; β -1,3-glucanase, Cerrado, pastagens

ABSTRACT

Defense proteins in leaves of *Memora peregrina* (Miers) Sandwith (Bignoniaceae) - A pasture invader species – *Memora peregrina* (Miers) Sandwith (Bignoniaceae), locally known as ‘ciganinha’, is a plant native to the Cerrado lands of the states of Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás, and Minas Gerais, in Brazil. It grows sparsely in its natural environment and is restricted to forest clearings. In poorly managed areas cleared for pasture, *M. peregrina* competes with forage species to the point of restricting grazing cattle herds, owing to its ability to produce flowers, fruits, and seeds year-round. Mechanical pruning, much used by cattle ranchers to control the spread of the species, eliminates aerial parts of the plant but, by fragmenting its subterranean system, stimulates growth of this structure, in addition to disseminating propagules (vegetative reproduction), making the species more competitive and allowing it to infest managed areas in short periods. The purpose of this study was to measure growth rate, total soluble protein production, and activity of the enzymes β -1,3-glucanase, peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase in leaves of pruned and no pruned specimens of *M. peregrina* in two areas of Mato Grosso do Sul State highly infested by this species, with the aim of evaluating the impact of mechanical injury on the synthesis of defense proteins. In both areas, growth rates were higher in specimens subjected to mechanical pruning than in intact plants, a finding that corroborates results of previous investigations. In some periods after pruning, soluble protein content and peroxidase activity at pH 5.0, 7.0, and 8.6 were higher in leaves of pruned specimens, although differed by macromolecule group. These findings suggest that variations in peroxidase activity in leaves of pruned specimens of *M. peregrina* may be a response to mechanical pruning (an increase in basic and neutral peroxidases) and result from the role played by these compounds in growth processes (an increase in acidic peroxidases). The activity of β -1,3-glucanase and phenylalanine ammonia-lyase was similar in both pruned and intact specimens, demonstrating that mechanical pruning does not induce these defense mechanisms in the species investigated.

Keywords: ciganinha; total soluble protein; phenylalanine ammonia-lyase; peroxidase; β -1,3-glucanase; Cerrado; pastures

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Plantas Invasoras

Ambientes alterados pela ação do homem podem ter um processo de degradação que muitas vezes resulta na invasão por espécies vegetais silvestres. Uma vez que ainda não existem fatores controladores efetivos de crescimento e de populações, estas espécies tendem a se tornar invasoras de áreas degradadas, resultando em prejuízos econômicos e ambientais (Radford e Cousens, 2000; Ghini e Bettiol, 2000).

A Sociedade Americana de Plantas Invasoras define uma espécie invasora como qualquer planta que interfira nas atividades ou no bem estar dos seres vivos (Booth *et al.*, 2003). Crawley (1997) reconheceu as dificuldades em se definir uma espécie invasora e sugere que uma planta só será assim considerada se sua presença estiver acima de um nível específico. Essa afirmação introduziu um novo problema: como determinar tais níveis de presença. Por outro lado essa definição reconhece que uma espécie é incluída na categoria de invasora em circunstâncias específicas, arbitrariamente baseada nas percepções humanas e que, uma determinada espécie pode não ser considerada como invasora em todas as situações.

Para Midgley *et al.* (2003) uma planta invasora é uma espécie nativa ou introduzida que causa uma alteração ecológica ou um efeito econômico negativo em sistemas agrônômicos ou naturais. Os termos ‘daninha’, ‘invasora’ e ‘colonizadora’ têm sido utilizados muitas vezes, de maneira conflitante. A distinção entre os termos é bastante sutil e resultante de diferentes pontos de vista. De acordo com Rejmánek (1999) as plantas daninhas interferem negativamente na vida humana (visão agrônômica), as colonizadoras são espécies que se estabelecem com sucesso após um distúrbio (visão ecológica) e as invasoras são aquelas introduzidas em um *habitat* não nativo (visão biogeográfica ou fitossociológica). Existe uma superposição substancial entre estes termos. Uma espécie pode ser enquadrada em uma dessas categorias ou em todas elas.

Baker (1965) listou uma série de características inerentes das invasoras (Quadro 1). Por outro lado, para cada atributo pode-se encontrar exceção. Espécies podem apresentar uma ou outra dessas características e não serem invasoras ou não terem essas características, e serem invasoras. Além disso, um grupo de características não pode ser usado para prever a invasividade ou sucesso da invasão. Além das características da espécie, as peculiaridades da comunidade, a interação entre a planta e a comunidade, bem como as mudanças temporais determinarão se uma espécie será bem sucedida ou não, como invasora (Lodge, 1993; Hobbs e Humphries, 1995).

Quadro 1: Características frequentemente encontradas em espécies invasoras (Baker, 1965)

o Germinação em uma grande variedade de condições ambientais;
o Sementes duradouras, com controle interno para germinação descontínua;
o Rápido crescimento vegetativo durante o estágio floral;
o Autocompatível, mas não completamente autógama ou apomítica;
o Polinização cruzada (quando presente) pelo vento ou insetos generalistas;
o Produção contínua de sementes durante o crescimento e desenvolvimento;
o Produção de sementes em condições ambientais altamente variáveis;
o Alta dispersão de sementes em condições ambientais favoráveis;
o Propágulos (sementes) adaptados para dispersão à curta e longa distância;
o Quando perene, tem uma alta taxa de reprodução vegetativa ou regeneração por fragmentos;
o Quando perene, seus ramos são facilmente fragmentados, sendo difícil arrancá-la da terra;
o Forte potencial para competir interespecificamente, via alelopatia, rápido crescimento ou outros mecanismos de competição.

É consenso entre os estudiosos do assunto que perturbações no ambiente potencializam a dispersão e o estabelecimento de invasoras, especialmente após a redução da diversidade original por extinção de espécies ou por superexploração (Cowling *et al.*, 1997; Mack *et al.*, 2000). Tais perturbações podem ser naturais, como incêndios, cheias, ventos e terremotos, ou antrópicas, em função de desmatamentos, queimadas, uso para a agricultura, pastagens e outras formas de ocupação. A recorrência de perturbações no meio ambiente aumenta a susceptibilidade das comunidades à invasão (Randall e Marinelli, 1996; Richardson, 1999).

Segundo Grime (1974) são dois os fatores externos que afetam a quantidade e a qualidade das espécies vegetais existentes em um dado ecossistema: estresse e perturbação. O estresse inclui os fenômenos ambientais que reduzem a intensidade luminosa, a disponibilidade de água, de nutrientes ou temperatura ótima, entre outros. A perturbação é a ausência, parcial ou total, da biomassa vegetal, tipicamente causada por fogo, cheias, erosão, aragem, pasto, entre outros. Considerando os níveis de estresse e perturbação, podemos ter quatro combinações, que terão como resultado diferentes tipos de vegetações (Quadro 2).

Quadro 2: Combinações entre estresse e perturbação (Grime 1974)

o Sob alto estresse e alta perturbação: ausência de vegetação
o Sob alto estresse e baixa perturbação: desenvolvimento de uma população de plantas tolerantes ao estresse
o Sob baixo estresse e alta perturbação: estabelecimento de plantas ruderais
o Sob baixo estresse e baixa perturbação: dominância de espécies altamente competitivas

Quando uma espécie se torna invasora em um local, novas interações e circunstâncias experimentadas pelo invasor podem influenciar tanto no sucesso presencial, quanto na biodiversidade nativa, que indiretamente influenciarão nas interações competitivas e nos efeitos das condições bióticas e abióticas (Mitchell, 1972). Pastagens, terrenos periodicamente encharcados, terrenos que sofrem erosão e terras aráveis são ambientes que frequentemente são dominados por essas plantas (Naylor, 2000).

A invasão por espécies vegetais exóticas ou nativas é um fenômeno global caracterizado como um problema crítico para a conservação e manejo de muitos ecossistemas (Suding *et al.* 2004). As espécies invasoras ameaçam a integridade de sistemas agrícolas e naturais ao longo do mundo (Callaway e Aschehoug, 2000), deslocando as comunidades locais de plantas (Bais *et al.*, 2003), principalmente como resultado do aumento das atividades antrópicas (Müller-Schärer *et al.*, 2004). As espécies invasoras podem afetar as características ecológicas fundamentais, tais como espécie dominante na comunidade e características físicas, ciclo de nutrientes e produtividade do ecossistema (Mack *et al.*, 2000), tendo-se tornado uma das mais sérias ameaças à biodiversidade natural (Müller-Schärer *et al.*, 2004). Contudo, cada espécie invasora não provoca obrigatoriamente todas estas alterações, assim como existem espécies que apresentam efeitos distintos dos citados anteriormente.

1.2 *Memora peregrina* (Miers) Sandwith (Bignoniaceae)

M. peregrina, popularmente conhecida como ciganinha, nativa dos cerrados (sentido restrito) de Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás e Minas Gerais (Nunes, 1999a). No seu ambiente natural a ocorrência desta planta é esparsa, restrita às clareiras. Em áreas desmatadas para formação de pastagens, cujo manejo não é feito corretamente, a espécie compete com forrageiras, se alastrando, formando arbustos que crescem tanto verticalmente quanto horizontalmente, ocupando o espaço onde antes havia o pasto, impedindo o crescimento de gramíneas e dificultando a pastagem de bovinos. O gênero *Memora* (sin. *Pleonotoma*) é constituído por 72 espécies, dentro da família Bignoniaceae (Juss.) (APG II, 2003) (Lorenzi e Souza, 1995; Lorenzi, 2000). Segundo o inventário botânico realizado por Pott e Pott (2000), existem cerca de 562 espécies de plantas invasoras de pastagens nos cerrados da região Centro-Oeste do Brasil, estando a ciganinha entre as 42 principais espécies de invasoras. Nas áreas desmatadas para formação de pastos, com o tempo e o avanço da degradação, ela se instala, competindo com a forrageira e proliferando rapidamente (Nunes, 1999b).

É uma espécie arbustiva entouceirada, tendo em média 150 cm de altura; as folhas são compostas, imparipinadas e coriáceas; as flores são amarelas; os frutos são capsulares, deiscentes e achatados com 20 centímetros comprimento e dois centímetros de largura, com até doze sementes

por vagem; apresenta rizomas bem desenvolvidos, podendo atingir dois metros de comprimento e seis centímetros de diâmetro (Nunes, 1999a), formando uma rede de caules subterrâneos (Lorenzi, 2000). Como *M. peregrina* possui uma rede de rizomas que pode ocupar áreas de tamanhos variáveis, é muito difícil delimitar um indivíduo, o que dificulta ainda mais o seu manejo. É propagada por sementes aladas, muito leves, podendo ser transportadas a grandes distâncias pelo vento (Nunes, 1999b).

A espécie também possui mecanismos de propagação vegetativa, através de gemas latentes, existentes tanto nos caules aéreos quanto nos subterrâneos, ativadas em resposta a estímulos provocados por cortes e outras lesões. Isso explica o vigoroso rebrote causado por tratos mecânicos e a ineficácia do controle pelos métodos de corte, provocados por foice, enxada, roçadeira e outros (Nunes, 1999b). Tais propágulos – fragmentos do sistema subterrâneo – tornam a planta mais competitiva, pois permite a ocupação da área manejada em curto espaço de tempo. Dessa maneira *M. peregrina* se espalha, inibindo o desenvolvimento de gramíneas como *Brachiaria* sp, dificultando a pastagem de bovinos (Nunes *et al.*, 1999a). Além disso, floresce, frutifica e produz sementes praticamente o ano todo (Nunes, 1999b), embora em áreas nativas a floração e frutificação da espécie ocorra por no máximo sete meses, principalmente na estação chuvosa (Batalha e Mantovani, 2000). A ocorrência dessa planta invasora, extremamente agressiva e de rápida disseminação, já foi notada infestando grandes áreas de pastagens degradadas em vários estados da federação, trazendo sérios prejuízos à pecuária regional (Embrapa, 1999, 2000). No estado de Mato Grosso do Sul, observou-se a presença de *M. peregrina* em cerca de 70% dos municípios (Nunes, 1999b).

1.3 Mecanismos de defesa de plantas

As plantas, em seu ambiente natural, raramente ficam isentas de danos causados por estresses ambientais tais como o vento, a areia, o granizo e a chuva. Uma lesão aberta causada por injúria mecânica é um local potencial da infecção para patógenos (Johal *et al.*, 1995; Puchooa, 2004). Além disso, as plantas são alvo de um grande número de organismos, pois são fonte abundante de carbono e nitrogênio. Muitos fungos, bactérias, vírus, viróides, nemátodos, insetos e mamíferos, entre outros, são capazes de causar doenças ou injúrias (por pastejo) em plantas (Johal *et al.*, 1995).

A resistência em plantas se deve a mecanismos de defesa que podem ser divididos em duas categorias: defesas passivas e resistência ativa. As defesas passivas são formadas pela presença de fatores de proteção constitutivos que podem ser físicos, tais como a parede celular, espaços intercelulares e xilema, presença de ceras e cutícula, e químicos, tais como inibidores da

germinação de esporos, inibidores de polissacaridasas e proteases ou compostos com ação tóxica sobre o organismo invasor (Hammond-Kosack e Jones, 2000).

A resistência ativa ocorre somente em resposta a uma tentativa de invasão do hospedeiro, envolvendo respostas físicas e químicas, ferimentos mecânicos (Yahraus *et al.*, 1995), resposta ao estresse (Zhao *et al.*, 2005), entre outros. As primeiras incluem a formação de estruturas histológicas e celulares de defesa, tais como camadas de cortiça, tiloses, gomas ou espessamento da parede celular pela deposição de calose (Hammond-Kosack e Jones, 2000). Dentre as respostas químicas estão a síntese e/ou ativação de compostos fenólicos, formação de substratos resistentes, detoxificação de toxinas, entre outras (Agrios, 1988; Bowles, 1990; Johal *et al.*, 1995; Christensen *et al.*, 2002).

A indução de mecanismos de defesa em plantas pode ocorrer pela presença de fatores bióticos ou abióticos. Defesas induzidas por herbívoros envolvem o reconhecimento mútuo entre o hospedeiro e o invasor. Este processo implica na troca de sinais químicos originários do vegetal e/ou do herbívoro. Esta troca de sinais pode resultar na ativação gênica para produção de metabólitos tóxicos ao organismo invasor, bem como reforço das defesas estruturais. Estes sinais químicos, em geral carboidratos de baixa massa molecular, juntamente com outros constituintes celulares, tais como glicoproteínas, peptídeos, lipídeos e compostos do metabolismo secundário são denominados eliciadores bióticos. Além destes, vários compostos inorgânicos, incluindo AgNO_3 , HgCl_2 , CuSO_4 e fatores físicos como injúria mecânica, irradiação ultra-violeta, poda e congelamento podem estimular processos de defesa químicos e físicos e são chamados de eliciadores abióticos (Hargraves, 1979; Darvill e Albersheim, 1984; Darvill *et al.*, 1992).

Stock e colaboradores (1993) sugerem que o pastejo, considerado como um tipo de poda, leva a uma alocação de carbono para defesas químicas. No estudo os autores observaram um aumento na concentração de polifenóis totais e taninos em resposta a uma simulação de pastejo (poda) em três espécies de arbustos da savana africana (bioma karoo). Indivíduos de *Nicotiana sylvestris* submetidos à injúria mecânica (retirada de folhas) produziram quatro vezes mais alcalóides do que os indivíduos controle (sem injúria mecânica) e apresentaram uma concentração destes compostos dez vezes maior no xilema, indicando que o aumento na produção de alcalóides ocorreu nas raízes (Baldwin, 1989).

Karban e Myers (1989) em uma extensa revisão sobre mecanismos de defesa em plantas mostraram que a poda é indutora de defesas químicas. Outros trabalhos também apontam a poda mecânica ou causada por herbívoros como um fator importante de indução de defesas físicas e químicas (Heil *et al.*, 2001; Federle *et al.*, 2002; Heil e McKey, 2003).

Assim, em geral, as plantas submetidas a algum tipo de estresse biótico ou abiótico apresentam um aumento na síntese de proteínas de defesa. Dentre as famílias de proteínas de defesa

mais amplamente difundidas no Reino Vegetal estão as quitinases, glucanases, peroxidases, fenilalanina amônia-liases e inibidores de proteases (Van Loon, 1994; Sarma *et al.*, 1998; Sánchez *et al.*, 2000; Tian *et al.*, 2006).

1.3.1 Proteínas de Defesa

As defesas químicas em plantas incluem um complexo arsenal de moléculas tanto do metabolismo primário como secundário. Neste cenário, as proteínas desempenham vários papéis fundamentais para a sobrevivência da planta. A maioria dos trabalhos nesta área é voltada para as defesas contra patógenos e herbívoros. As reações de hipersensibilidade a patógenos são os mecanismos mais eficientes de indução de numerosos genes codificadores de proteínas de defesa. Estas proteínas incluem: 1) proteínas estruturais que são incorporadas à matriz extracelular e participam do confinamento do patógeno; 2) enzimas hidrolíticas do metabolismo secundário e 3) proteínas PR (*pathogenesis related*, proteínas relacionadas à defesa) as quais representam as principais mudanças quantitativas nas proteínas solúveis durante a resposta de defesa (Stintzi *et al.*, 1993).

As proteínas PR apresentam propriedades físico-químicas que as tornam resistentes ao pH ácido e clivagem proteolítica, capacitando-as a resistir à desnaturação em regiões celulares inóspitas como compartimentos vacuolares, paredes celulares ou espaços intercelulares. Desde as primeiras descobertas das proteínas PR em tabaco (Stintzi *et al.*, 1993; Benhamou, 1995), muitas proteínas similares foram isoladas de outras espécies, incluindo mono e eudicotiledônias.

Baseada primeiramente nas propriedades sorológicas e mais tarde na sequência de aminoácidos, as proteínas PR são atualmente classificadas em cinco grandes grupos. O grupo PR-1 contém as primeiras PRs descobertas com massa molecular entre 15 e 17 KDa, cujas atividades biológicas são ainda desconhecidas, mas alguns membros mostraram, em descobertas recentes, atividade antifúngica (Rivière *et al.*, 2008).

O grupo PR-2 contém três classes estruturalmente distintas de β 1,3-glucanases, com representantes ácidos e básicos, com atividades específicas e substratos bastante diferentes. Vários fatores de estresse, além da tentativa de invasão por fungos, induzem o aumento da atividade de β -1,3-glucanases (Kemp *et al.*, 1999). São enzimas responsáveis pela degradação de glucanos, um dos principais constituintes de paredes celulares de fungos (Sela-Buurlage *et al.*, 1993; Van Loon e Van Strien, 1999). Dessa maneira contribuem para a diminuição ou inibição do crescimento de patógenos (Stintzi *et al.*, 1993). Sua presença tem sido registrada em um grande número de espécies vegetais (Costa e Magnusson, 2003). A presença de ferimentos nas plantas causa a deposição de β -1,3-glucano na parede celular na forma de caloses, que podem ser provenientes dos mecanismos de

proteção. Consequentemente, parte do ferimento é fechado ou limitado e a invasão do patógeno é restringida (Morohashi e Matsushima, 2000).

As proteínas do grupo PR-3 consistem de várias quitinases e lisozimas, que dentro de três subclasses distintas, são vacuolares ou extracelulares. Algumas delas, sozinhas ou em combinação com as β -1,3-glucanases mostraram atividade antifúngica *in vitro* e *in vivo*, provavelmente por hidrólise dos componentes estruturais das paredes celulares dos fungos (Gozzo, 2003).

O grupo PR-4 é o menos estudado e em tabaco contém quatro membros de 13 a 14 KDa, com funções e atividades ainda desconhecidas. O grupo PR-5 contém membros ácidos-neutros e muitos membros com ponto isoelétrico básico, com localização extracelular e vacuolar, respectivamente e todos os membros mostram sequências similares às taumatinas. Vários membros do grupo PR-5 de tabaco e de outras espécies vegetais mostraram alta capacidade de inibição do crescimento de hifas e da germinação de esporos de várias espécies de fungos *in vitro*, provavelmente por um mecanismo de permeabilização de membranas (Van Loon e Van Strien, 1999; Margis-Pinheiro *et al.*, 1999; Durrant e Dong, 2004). Liu e colaboradores (2008) realizaram a análise funcional de genes de proteínas denominadas “ring finger”, que incluem proteínas PR dos grupos 1, 2 3 e 5. Os autores mostraram que esta família de proteínas desempenha papéis-chave na regulação dos processos de crescimento/desenvolvimento, sinalização hormonal e respostas a estresses bióticos e abióticos em plantas.

Além das proteínas PR, existem outros grupos enzimáticos responsáveis pela síntese de compostos do metabolismo secundário que estão envolvidas em processos complexos que, em muitos casos, levam a respostas de hipersensibilidade com consequente morte celular. Dentre elas as fenilalanina amônia-liases (PAL) e as peroxidases desempenham funções importantes, e estão presentes na maioria das angiospermas. A enzima PAL catalisa a primeira de uma série de reações metabólicas que gera inúmeros produtos naturais baseados em fenilpropanóides (Smith e Banks, 1986; Gayoso *et al.*, 2004; Wen *et al.*, 2005), incluindo a lignina (Hahlbrock e Scheel, 1989), certos pigmentos e protetores contra luz ultravioleta. Os fenilpropanóides, compostos formados a partir da estrutura do hidrocarboneto fenilpropano, são importantes no crescimento vegetal, mas também atuam na proteção contra estresses ambientais (Christie *et al.*, 1994; Dixon e Paiva, 1995; Cheng *et al.*, 2001). Seu metabolismo em plantas superiores tem sido associado à regulação do crescimento, resistência a doenças e luz ultravioleta, à ativação de genes pelas bactérias do gênero *Agrobacterium* e síntese de componentes da parede celular vegetal (Giri e Narasu, 2000). A produção desta enzima é regulada durante o crescimento vegetal, mas é também induzida por patógenos, injúria mecânica, contaminação por metais pesados, luz e reguladores de crescimento (Margis-Pinheiro *et al.*, 1993; Soyulu, 2006).

Peroxidases são enzimas que respondem a estresses físicos, químicos e biológicos (Piza *et al.*, 2003). Convertem fenóis em quinonas, sendo que estas últimas têm a capacidade de se complexar com proteínas tornando-as bioindisponíveis. Muitas quinonas apresentam atividade tóxica para fungos e bactérias e são antinutricionais para insetos (Castillo *et al.*, 1984; Quiroga *et al.*, 2000). Além disso, as peroxidases estão envolvidas na produção de espécies ativas de oxigênio, aumentando a produção de radicais livres nas células vegetais infectadas, como também participam ativamente na síntese de lignina, aumentando o reforço da parede celular nas defesas estruturais (Margis-Pinheiro *et al.*, 1999; Labanca, 2002; Zhao *et al.*, 2005) e promovendo a cicatrização de ferimentos (Kao, 2003; Campos *et al.*, 2004).

Vários estudos têm demonstrado que as plantas possuem mecanismos para produção de O_2^- que envolvem enzimas com atividade semelhante à da NADPH oxidase, análoga às enzimas detectadas em neutrófilos de mamíferos. O O_2^- produzido é rapidamente convertido em peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pela ação da superóxido dismutase ou não enzimaticamente (Murphy e Auh, 1996). Tanto O_2^- como H_2O_2 são moderadamente reativos, podendo ser posteriormente convertidos em formas mais reativas, que podem atacar diretamente os ácidos graxos de membrana, convertendo-os em peróxidos de lipídeos. Uma vez que estes radicais livres consigam entrar no citoplasma em concentrações suficientes para alcançar o núcleo da planta ou do microrganismo invasor, poderão causar fragmentação do DNA atacando estas biomoléculas em sítios específicos (Bent, 1996).

1.3.2 Dinâmica do metabolismo protéico em *M. peregrina*

Estudos da composição bioquímica de *M. peregrina* indicaram a presença de altas concentrações de proteína total nas folhas (Maldonado, 2001). Observou-se também que o caule subterrâneo armazena grandes quantidades de alantoína (cerca de 17% do peso seco), o que pode fazer parte das estratégias utilizadas por esta espécie para seu estabelecimento como invasora (Grassi *et al.*, 2005).

Marchetti (2006) efetuou estudos sobre a dinâmica de compostos nitrogenados de *M. peregrina* após a poda. Foram quantificadas as concentrações de NH_4^+ livre, proteína total, aminoácidos livres totais, ureídeos (alantoína e ácido alantóico) e nitrogênio total em indivíduos podados e não podados. O N total foi em média 30% maior nos rizomas e folhas de indivíduos podados, indicando um aumento do metabolismo geral de compostos nitrogenados. Os rizomas apresentaram cerca de 20 vezes mais NH_4^+ e aminoácidos que as folhas e estas cerca de quatro vezes mais proteína e ureídeos que os rizomas, mostrando uma intensa translocação de formas nitrogenadas nos indivíduos podados. Os resultados sugerem que a espécie é resistente ao efeito tóxico do NH_4^+ . O teor de aminoácidos dos rizomas permaneceu constante, indicando um processo

de reciclagem contínua pela planta. Os ureídeos estão em menor concentração nos rizomas dos indivíduos podados, sugerindo uma intensificação na utilização destes compostos para produção de tecidos após a poda.

Tendo em vista que *M. peregrina* desloca uma grande quantidade de proteínas e ureídeos do caule subterrâneo para a parte aérea após corte mecânico (Marchetti, 2006), o presente trabalho tem como objetivos quantificar proteínas de defesa em folhas desta espécie a partir de indivíduos podados e não podados. Os resultados poderão contribuir para o entendimento do comportamento de invasora apresentado pela espécie.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

- Verificar qualitativamente e quantitativamente a presença das proteínas de defesa (β -1,3 glucanases, fenilalanina amônia-liase e peroxidases) em folhas de indivíduos de *M. peregrina* submetidos à poda mecânica e comparar com indivíduos controle (não podados). Verificar se há diferenças na taxa de crescimento de indivíduos podados e não podados de *M. peregrina*.

2.2 Específicos

- Acompanhar a taxa de crescimento de indivíduos podados e não podados de *M. peregrina*, durante sete meses (intervalo entre as épocas de seca e cheia), na área dos Correios e Telégrafos, no município de Campo Grande (MS) e na Fazenda Tapioca, no município de Rochedo (MS);
- Avaliar a presença e quantificar o conteúdo de proteínas totais em folhas jovens e adultas de indivíduos podados e não podados de *M. peregrina*;
- Quantificar as atividades de proteínas de defesa, β -1,3-glucanases, fenilalanina amônia-liase (PAL), e peroxidases (POD) nas folhas;
- Relacionar a taxa de crescimento de indivíduos podados e não podados de *M. peregrina* com os dados obtidos na quantificação de proteínas de defesa.

3 REFERÊNCIAS

- Agrios, G. N. 1988. **Plant pathology**. San Diego: Academic Press, 952p.
- Bais, H. P.; Vivanco, J. M.; Stermitz, *et al.* 2003. Biogeographical variation in community response to root allelochemistry: novel weapons and exotic invasion. **Ecology Letters**, 7:285p.
- Baker, H. G. 1965. Characteristics and modes of origin of weeds. In: H.G. Baker, C.L. Stebbins (eds.): **The genetics of colonizing species**. New York: Academic Press, 147–168.
- Baldwin, I. T. 1989. Mechanism of damage-induced alkaloid production in wild Tobacco. **Journal of Chemical Ecology**, 15:1661-1680.
- Batalha, M. A.; Mantovani, W. 2001. Floristic composition of the cerrado in the Pé-de-Gigante reserve (Santa Rita do Passa Quatro, Southeastern Brazil). **Acta Botanica Brasilica** 15:289-304.
- Benhamou, H. 1995. Immunocytochemistry of plant defense mechanisms induced upon microbial attack. **Micros. Res. Tech.**, 31 (1):63-78.
- Bent, A. F. 1996. Plant disease resistance genes: function meets structure. **Plant Cell**, 8:1757-1771.
- Booth, A.; Midgley, G. F.; Hanna, L.; *et al.* 2003. Developing regional and species-level assessments of climate change impacts on biodiversity in the Cape Floristic Region. **Biological Conservation**, 112:87–97.
- Bowles, D. J. 1990. Defense-related proteins in higher plants. **Ann. Rev. Biochem.**, 59:873–907.
- Callaway, R. M.; Aschehoug, E. T. 2000. Invasive plants versus their new and old neighbors: a mechanism for exotic invasion. **Science**, 290:521–523.
- Campos, A. D.; Ferreira, A. G.; Hampe, M. M. V.; *et al.* 2004. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 39(7):637-643.
- Castillo, F. J.; Penel, C.; Greppin, H. 1984. Peroxidase release induced by Ozone in sedum album leaves. **Plant Physiol.**, 74:846-851.
- Cheng, S. H.; Sheen, J.; Gerrish, C.; *et al.* 2001. Molecular identification of phenylalanine ammonia-lyase as a substrate of a specific constitutively active Arabidopsis CDPK expressed in maize protoplasts. **FEBS Letters**, 503(2/3):185-188.
- Christensen, A. B.; Ho Cho, B.; Naesby, M.; *et al.* 2002. The molecular characterization of two barley proteins establishes the novel PR-17 family of pathogenesis-related proteins. **Molecular and Plant Pathology**, 3:135-144.

- Christie, P. J.; Alfenito, M. R.; Walbot, V. 1994. Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. **Planta**, 194:541-549.
- Costa, F. R. C.; Magnusson, W. E. 2003. Effects of selective logging on the diversity and abundance of flowering and fruiting understory plants on a Central Amazonian Forest. **Biotropica**, 35(1):103-114.
- Cowling, R. M.; Richardson, D. M.; Pierce, S. M. 1997. Vegetation of Southern Africa. Cambridge, UK: **Cambridge University Press**, 615p.
- Crawley, M. J. 1997. **Plant ecology**. Blackwell Scientific Publications, Oxford Second edition. 618p.
- Darvill, A. G.; Albersheim, P. 1984. Phytoalexins and their elicitors: a defense against microbial infection in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 35:243-375.
- Darvill, A.G.; Augur, C.; Bergman, C.; Carlson, W; et al. 1992. Oligosaccharins-oligosaccharides that regulate growth, development and defense responses in plants. **Glicobiol.**, 2(3):181-198.
- Dixon, R. A.; Paiva, N. L. 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. **The Plant Cell**, 7:1085-1087.
- Durrant, W. E.; Dong, X. 2004. Systemic Acquired Resistance. **Annual Review of Phytopathology**, 42:185-209.
- Embrapa. 1999. Ciganinha - A planta que está invadindo as pastagens. Gado de Corte Informa, Campo Grande: **Embrapa**, 12(2):4-5.
- Embrapa. 2000. Projeto de recuperação, renovação de pastagens com controle da invasora ciganinha (*Memora peregrina*), para o Estado de Mato Grosso do Sul. Campo Grande: **Embrapa**. 22p.
- Federle, W.; Maschwitz, U.; Hölldobler, B. 2002. Pruning of host plant neighbours as defence against enemy ant invasions: crematogaster ant partners of *Macaranga* protected by “wax barriers” prune less than their congeners. **Oecologia**, 132:264–270.
- Gayoso, C.; Pomar, F.; Merino, F.; et al. 2004. Oxidative metabolism and phenolic compounds in *Capsicum annum* L. var. *annuum* infected by *Phytophthora capsici* Leon. **Scientia Horticulturae**, 102:1-13.
- Ghini, R.; Bettiol, W. 2000. Proteção de plantas na agricultura sustentável. **Cadernos de Ciência e Tecnologia**, 17:61-70.

- Giri, A.; Narasu, M. L. 2000. Transgenic hairy roots: recent trends and applications. **Biotechn. Adv.**, 18:1-22.
- Gozzo, F. 2003. Systemic acquired resistance in crop protection: from nature to a chemical approach. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 51:4487-4503.
- Grassi, R. F.; Resende, U. M.; Silva, W.; *et al.* 2005. Estudo fitoquímico e avaliação alelopática de *Memora peregrina* – “ciganinha” –Bignoniaceae, uma espécie invasora de pastagens em Mato Grosso do Sul. **Quim. Nova**, 28 (2):199-203.
- Grime, J. P. 1974. Vegetation classification by reference to strategies. **Nature**, 250 : 226-231.
- Hahlbrock, K.; Scheel, O. 1989. Physiology and molecular biology of phenylpropanoid metabolism. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, 40:347-369.
- Hammond-Kosack K.; Jones, J. D. G. 2000. Responses to plant pathogens. In: Buchanan, B. B.; Gruissem, W.; Jones, R. L. Biochemistry and molecular biology of plants. Rockville: **American Society of Plant Physiologists**, 1102-1156.
- Hargraves, J. A. 1979. Investigations into the mechanisms of mercuric chloride stimulated phytoalexin accumulation in *Phaseolus vulgaris* and *Pisum sativum*. **Plant Pathol.**, 15: 279-287.
- Heil, M.; Fiala, B.; Maschwitz, U.; *et al.* 2001. On benefits of indirect defence: short- and long-term studies of antiherbivore protection via mutualistic ants. **Oecologia**, 126:395–403.
- Heil, M.; McKey, D. 2003. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, 34:425-553.
- Hobbs, R. J.; Humphries, S. E. 1995. An integrated approach to the ecology and management of plant invasions. **Conservation Biology**, 9:1523-1739.
- Johal, G. S.; Hulbert, S.; Briggs, S. P. 1995. Disease lesion mimics mutations in maize: A model for cell death in plants. **BioEssays**, 17:685-692.
- Kao, C. H. 2003. Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol on antioxidant enzymes in rice leaves. **Plant Growth Regulation**, 39:83-89.
- Karban, R; Myers, J. H. 1989. Induced plant responses to herbivory. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 20:331-348.
- Kemp, G.; Botha, A. M.; Kloppers, F. J.; *et al.*, 1999. Disease development and β -1,3-glucanases expression following leaf rust infection in resistant and susceptible near-isogenic wheat seedlings. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 55:45-52.

- Labanca, E. R. G. 2002. Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*). Dissertação (Mestrado) – **Universidade de São Paulo**, Piracicaba.
- Liu, H.; Zhang, H.; Yang, Y.; *et al.* 2008. Functional analysis reveals pleiotropic effects of rice RING-H2 finger protein gene OsBIRF1 on regulation of growth and defense responses against abiotic and biotic stresses. **Plant Mol. Biol.**, 68(1-2):17-30.
- Lodge, D. M. 1993. Species invasions and deletions: community effects and responses to climate and habitat change. In: Kareiva, P.; Kingsolver, J.; Huey, R. (eds) **Biotic Interactions and Global Change**. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, 367–387.
- Lorenzi, H. 2000. **Plantas daninhas do Brasil**: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3. ed. Nova Odessa: Plantarum, 624p.
- Lorenzi, H.; Souza, H. M. 1995. **Plantas ornamentais do Brasil**: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. Nova Odessa: Plantarum, 720p.
- Mack, R. N.; Simberloff, D.; Lonsdale, W. M.; *et al.* 2000. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. **Ecological Applications**, 10:689-710.
- Maldonado, L. A. L. 2001. **Análise do valor nutricional e estudo de toxicidade das folhas de *Memora peregrina* (Bignoniaceae) (Miers) Sandwith**. Monografia de conclusão do Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.
- Marchetti, C. R. 2006. **Taxa de crescimento e metabolismo nitrogenado de *Memora peregrina* (Miers). Sandwith (Bignoniaceae) - Uma espécie típica do Cerrado e invasora de pastagens**. Dissertação de conclusão do Mestrado de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.
- Margis-Pinheiro, M.; Martin, C.; Didierjan, L.; *et al.* 1993. Differential expression of bean chitinase genes by virus infection, chemical treatment and UV irradiation. **Plant Molecular Biology**, 22:659-668.
- Margis-Pinheiro, M.; Sandroni, M.; Lummerzheim, M.; *et al.* 1999. A defesa das plantas contra as doenças. **Ciência Hoje**, 147. Disponível em: <http://cienciahoje.uol.com.br/materia/resources/files/chmais/pass/ch147/planta.rtf>
- Midgley, G. F.; Hannah L.; Millar, D.; *et al.* 2003. Developing regional and species-level assessments of climate change impacts on biodiversity in the Cape Floristic Region. **Biological Conservation**, 112:87–97.

- Mitchell, H. T. 1972. Microdetermination of nitrogen in plant tissue. **Journal of Association Official Agriculture**, Gaithersburg, 55:1-3.
- Morohashi, Y.; Matsushima, H. 2000. Development of β -1,3-glucanase activity in germinated tomato seeds. **Journal of Experimental Botany**, 51(349):1381-1387.
- Müller-Schärer, H.; Schaffner, U.; Steinger, T. 2004. Evolution in invasive plants: implications for biological control. **Trends Ecol. Evol.**, 19:417-422.
- Murphy, T. M.; Auh, C. K. 1996. The superoxide synthases of plasma membrane preparations cultured rose cells. **Plant Physiol.**, 110:621-629.
- Naylor, R. L. 2000. The economics of alien species invasions. *In*: Mooney, H.A. e Hobbs, R.J. **Invasive Species in a Changing World**. Island Press. Washington, DC USA, 480p.
- Nunes, S. G. 1999a. Ciganinha: a planta que está invadindo as pastagens. **Informativo do Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte**, 12(2):4-5.
- Nunes, S. G. 1999b. Ciganinha (*Memora peregrina* (Miers) Sandw.): nova planta invasora de pastagem. Embrapa Gado de Corte : Campo Grande. **Gado de Corte Divulga**, 35, 3 p.
- Piza, I. M. T.; Lima, G. P. P.; Brasil, O. G. 2003. Atividade de Peroxidase e Níveis de Proteínas em Plantas de Abacaxizeiro Micropropagadas em Meio Salino. **R. bras. Agrocência**, 9(4):361-366.
- Pott, A.; Pott, V. J. 2000. **Lista preliminar de plantas invasoras atuais e potenciais de pastagens do Centro Oeste**. [S. l.: s. n.], 16 p.
- Puchooa, D. 2004. Biotechnology in Mauritius: current status and constraints. **Electronic Journal of Biotechnology**, 7 (2):104-114.
- Quiroga, M.; Guerrero, C.; Botella, M. A.; *et al.* 2000. A tomato peroxidase involved in the synthesis of lignin and suberin. **Plant Physiology**, 122:1119-1127.
- Radford, I. J.; Cousens, R. D. 2000. Invasiveness and comparative life-history traits of exotic and indigenous *Senecio* species in Australia. **Oecologia**, 125(4):531-542.
- Randall, J. M.; Marinelli, J. 1996. **Invasive plants: weeds of the global garden**. Brooklyn, NY: Brooklyn Botanic Garden, 112p.
- Rejmánek, M. 1999. Invasive plant species and invulnerable ecosystems. *In*: Sandlund, O.T., Schei, P.J. and Vilken, A. (eds.) **Invasive species and biodiversity management**, Kluwer, Dordrecht, NL, 79-102.
- Richardson, D. 1999. Forestry trees as invasive aliens. **Conservation Biology**, 12 (1):18-26.

- Rivière, M. P.; Marais, A.; Ponchet, M.; *et al.* 2008. Silencing of acidic pathogenesis-related PR-1 genes increases extracellular beta-(1-3) glucanase activity at the onset of tobacco defence reactions. **J. Exp. Bot.**, 59 (6):1225-1239.
- Sánchez, E; Soto J. M.; Garcia, P. C.; Lopez-Lefebvre, L. R.; Rivero, R. M.; Ruiz, J. M.; Romero, L. 2000. Phenolic compounds and oxidative metabolism in green bean plants under nitrogen toxicity. **Australian Journal of Plant Physiology**, 27:973-978.
- Sarma, A. D.; Sreelakshmi, Y.; Sharma, R. 1998. Differential expression and properties of phenylalanine ammonia-lyase isoforms in tomato leaves. **Phytochemistry**, 49(8):2233-2243.
- Sela-Buurlage, M. B.; Ponstein, A. S.; Bres-Vloemans, *et al.* 1993. Only specific tobacco (*Nicotiana glauca*) chitinases and β -1,3-glucanases exhibit antifungal activity. **Plant Physiol**, 101:857-863.
- Smith, D. A.; Banks, S. W. 1986. Biosynthesis, elicitation and biological activity of isoflavonoid phytoalexins. **Phytochemistry**, 25:979-995.
- Soylu, S. 2006. Accumulation of cell-wall bound phenolic compounds and phytoalexin in *Arabidopsis thaliana* leaves following inoculation with pathovars of *Pseudomonas syringae*. **Plant Science**, 170:942–952.
- Stintzi, A.; Heitz, T.; Prasad, V.; *et al.* 1993. Plant ‘pathogenesis-related’ proteins and their role in defense against pathogens. **Biochimie**, 75 (8):687-706.
- Stock, W. D.; Le Roux, D.; Van der Heyden, F. 1993. Regrowth and tannin production in woody and succulent karoo shrubs in response to simulated browsing. **Oecologia**, 96:562-568.
- Suding, K. N.; Gross, K. L.; Houseman, G. R. 2004. Alternative states and positive feedbacks in restoration ecology. **Trends Ecol. Evol.**, 19:46–53.
- The Angiosperm Phylogeny Group. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 141:399–436.
- Tian, S.; Wan, Y.; Qin, G.; *et al.* 2006. Induction of defense responses against *Alternaria* rot by different elicitor in harvested pear fruit. **Appl Microbiol. Biotechnol.**, 70:729-734.
- Van Loon, L. C. 1994. Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. **Plant Molecular Biology**, 12:245-264.
- Van Loon, L. C.; Van Strien, E. A. 1999. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 55:85-97.

Wen, P-F.; Chen, J-Y.; Kong, W-Fu.; *et al.* 2005. Salicylic acid induced the expression of phenylalanine ammonia-lyase gene in grape berry. **Plant Science**, 169:928–934.

Yahraus, T; Chandra, S.; Legendre L.; *et al.* 1995. Evidence for a mechanically induced oxidative burst. **Plant Physiological**, 109(4):1259-1266.

Zhao, H; Wang, B. C.; Zhao, H. C. and Wang, J. B. 2005. Stress stimulus induced resistance to *Cladosporium cucumerinum* in cucumber seedling. **Colloids and Surfacer. B: Biointerfaces**, 44:36-40.

ARTIGO

**REVISTA
BRASILEIRA DE
BIOLOGIA**

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

- Finalidade e normas gerais
- Preparação de originais

<http://www.scielo.br/revistas/rbbio/pinstruc.htm>

**REVISTA
BRASILEIRA DE
BIOLOGIA**

Finalidade e normas gerais

A **Revista Brasileira de Biologia** publica resultados de pesquisa original em qualquer ramo das ciências biológicas. Estará sendo estimulada a publicação de trabalhos nas áreas de biologia celular, sistemática, ecologia (auto-ecologia e sinecologia) e biologia evolutiva, e que abordem problemas da região neotropical.

A **Revista** publica somente artigos em inglês. Artigos de revisões de temas gerais também serão publicados desde que previamente propostos e aprovados pela Comissão Editorial.

Informações Gerais: Os originais deverão ser enviados à Comissão Editorial e estar de acordo com as Instruções aos Autores, trabalhos que não se enquadrem nesses moldes serão imediatamente devolvidos ao(s) autor(es) para reformulação.

Os trabalhos que estejam de acordo com as Instruções aos Autores, serão enviados aos assessores científicos, indicados pela Comissão Editorial. Em cada caso, o parecer será transmitido anonimamente aos autores. Em caso de recomendação desfavorável por parte de um assessor, será usualmente pedida a opinião de um outro. Os trabalhos serão publicados na ordem de aceitação pela Comissão Editorial, e não de seu recebimento. Serão fornecidas gratuitamente 25 separatas de cada artigo.

Preparação de originais

O trabalho a ser considerado para publicação deve obedecer às seguintes recomendações gerais:

Ser digitado e impresso em um só lado do papel tipo A4 e em espaço duplo com uma margem de 3 cm à esquerda e 2 cm à direita, sem preocupação de que as linhas terminem alinhadas e sem dividir palavras no final da linha. Palavras a serem impressas em itálico podem ser sublinhadas.

O título deve dar uma idéia precisa do conteúdo e ser o mais curto possível. Um título abreviado deve ser fornecido para impressão nas cabeças de página.

Nomes dos autores – As indicações Júnior, Filho, Neto, Sobrinho etc. devem ser sempre antecedidas por um hífen. Exemplo: J. Pereira-Neto. Usar também hífen para nomes compostos (exemplos: C. Azevedo-Ramos, M. L. López-Rulf). Os nomes dos autores devem constar sempre na sua ordem correta, sem inversões. Não usar, nunca, como autor ou co-autor nomes como Pereira-Neto J. Usar *e*, *y*, *and*, *et* em vez de *&* para ligar o último co-autor aos antecedentes.

Os trabalhos devem ser redigidos de forma concisa, com a exatidão e a clareza necessárias para sua fiel compreensão. Sua redação deve ser definitiva a fim de evitar modificações nas provas de impressão, muito onerosas e cujo pagamento ficará sempre a cargo do autor. Os trabalhos (incluindo ilustração e tabelas) devem ser submetidos em triplicata (original e duas cópias).

Serão considerados para publicação apenas os artigos redigidos em inglês. Todos os trabalhos deverão ter resumos em inglês e português. Esses resumos deverão constar no início do trabalho e iniciar com o título traduzido para o idioma correspondente. O Abstract e o Resumo devem conter as mesmas informações e sempre sumariar resultados e conclusões.

Em linhas gerais, as diferentes partes dos artigos devem ter a seguinte seriação:

1^a página – Título do trabalho. Nome(s) do(s) autor(es). Instituição ou instituições, com endereço. Indicação do número de figuras existentes no trabalho. Palavras-chave em português e inglês (no

máximo 5). Título abreviado para cabeça das páginas. Rodapé: nome do autor correspondente e endereço atual (se for o caso).

2ª página e seguintes – Abstract (sem título). Resumo: em português (com título); Introduction, Material and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements.

Em separado – References, Legends to the figures, Tables and Figures.

O trabalho deverá ter, *no máximo*, 25 páginas, incluindo tabelas e figuras.

A seriação dos itens de Introduction e Acknowledgements só se aplica, obviamente, a trabalhos capazes de adotá-la. Os demais artigos (como os de Sistemática) devem ser redigidos de acordo com critérios geralmente aceitos na área.

Referências Bibliográficas – No texto, será usado o sistema *autor-ano* para citações bibliográficas, utilizando-se ampersand (&) no caso de 2 autores. As referências, datilografadas em folha separada, devem constar em ordem alfabética. Deverão conter nome(s) e iniciais do(s) autor(es), ano, título por extenso, nome da revista (abreviado e sublinhado), volume e primeira e última páginas. Citações de livros e monografias deverão também incluir a editora e, conforme citação, indicar o capítulo do livro. Deve(m) também ser referido(s) nome(s) do(s) organizador(es) da coletânea. Exemplos:

OZORIO DE ALMEIDA, M., 1946, Sur les reflexes labyrinthiques chez la grenouille. *Rev. Brasil. Biol.*, 6: 355-363.

REIS, J., 1980, Microbiologia, pp. 3-31. In: M. G. Ferri & Shozo Motoyama (orgs.), *História das Ciências no Brasil*, 2^o vol., 468p., EDUSP e EPU, São Paulo.

MROSOVSKY, N. & YNTEMA, C. L., 1981, Temperature dependence of sexual differentiation in sea turtles: implications for conservation practices. In: K. A. Bjorndal (ed.), *Biology and Conservation of Sea Turtles*, Smithsonian, Inst. Press in Coop. World, Wildlife Fund. Inc., Washington, D.C.

RIZZINI, C. T., 1979, *Tratado de Fitogeografia do Brasil. Aspectos Sociológicos e Florísticos*. HUCITEC, São Paulo, 2 vol., 374p.

KUHLMAN, J. G., OCCHIONI, P. & FALCÃO, J. I. A., 1947, Contribuição ao estudo das plantas ruderais do Brasil. *Arq. Jard. Bot.*, 7: 43-131.

Para outros pormenores, veja as referências bibliográficas deste fascículo.

A Revista publicará um Índice inteiramente em inglês, para uso das revistas internacionais de referência.

As provas serão enviadas aos autores para uma revisão final (restrita a erros e composição) e deverão ser devolvidas imediatamente. As provas que não forem devolvidas no tempo solicitado – 5 dias – terão sua publicação postergada para uma próxima oportunidade, dependendo de espaço.

Material Ilustrativo – Os autores deverão limitar as tabelas e as figuras (ambas numeradas em arábicos) ao **estritamente necessário**. No texto do manuscrito, o autor indicará os locais onde elas deverão ser intercaladas.

As tabelas deverão ter seu próprio título e, em rodapé, as demais informações explicativas. Símbolos e abreviaturas devem ser definidos no texto principal e/ou legendas.

Na preparação do material ilustrativo e das tabelas, deve-se ter em mente o tamanho da página útil da REVISTA (22 cm x 15,0 cm); (coluna: 7 cm) e a idéia de conservar o sentido vertical. Desenhos e fotografias exageradamente grandes poderão perder muito em nitidez quando forem reduzidos às dimensões da página útil. As pranchas deverão ter no máximo 30 cm de altura por 25 cm de largura e incluir barra(s) de calibração.

As ilustrações devem ser agrupadas, sempre que possível. A Comissão Editorial reserva-se o direito

de dispor esse material do modo mais econômico, sem prejudicar sua apresentação.

Todos os desenhos devem ser feitos à tinta da China e apresentados de tal forma que seja possível sua reprodução sem retoques. As fotografias devem vir em papel brilhante. Nas fotos, desenhos e tabelas deve-se escrever, a lápis, no verso, o nome do autor e o título do trabalho.

Disquete – Os autores são encorajados a enviar a versão final (e somente a final), **já aceita**, de seus manuscritos em disquete. Textos devem ser preparados em Word for Windows e acompanhados de uma cópia idêntica em papel.

Recomendações Finais: Antes de remeter seu trabalho, preparado de acordo com as instruções anteriores, deve o autor relê-lo cuidadosamente, dando atenção aos seguintes itens: correção gramatical, correção datilográfica (apenas uma leitura sílaba por sílaba a garantirá), **correspondência entre os trabalhos citados no texto e os referidos na bibliografia**, tabelas e figuras em arábicos, correspondência entre os números de tabelas e figuras citadas no texto e os referidos em cada um e posição correta das legendas.

**PROTEÍNAS DE DEFESA EM FOLHAS DE *Memora peregrina* (MIERS) SANDWITH
(BIGNONIACEAE) – UMA ESPÉCIE INVASORA DE PASTAGENS**

OLIVEIRA, A. M. R. de¹, RONDON, J. N.², BEZERRA, C. S.³, MARQUES, M. R.⁴

¹ Aluna do Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, CEP 79070-900, Campo Grande, MS, Brasil

² Pesquisadora do Laboratório de Bioquímica, Departamento de Morfofisiologia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, CEP 79070-900, Campo Grande, MS, Brasil

³ Aluno de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, CEP 79070-900, Campo Grande, MS, Brasil

⁴ Professora Associada I do Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, CEP 79070-900, Campo Grande, MS, Brasil

(Com 6 figuras)

Palavras-chave: ciganinha, proteínas solúveis totais, peroxidase, Cerrado, pastagens

Key words: ciganinha, total soluble protein, peroxidase, Cerrado, pastures

Título abreviado: PROTEÍNAS EM FOLHAS DE *Memora peregrina*

Correspondência para: Aurora Maria Rosa de Oliveira, Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, CEP 79070-900, Campo Grande, MS, Brasil

e-mail para contato: aurorabio@hotmail.com

ABSTRACT

Memora peregrina (Miers) Sandwith (Bignoniaceae), locally known as ‘ciganinha’, is a plant native to the Cerrado lands in Brazil. It grows sparsely in its natural environment and is restricted to forest clearings, *M. peregrina* competes with forage species to the point of restricting grazing cattle herds. Mechanical pruning, much used by cattle ranchers to control the spread of the species, eliminates aerial parts of the plant but, by fragmenting its subterranean system, stimulates growth of this structure, making the species more competitive. The purpose of this study was to measure growth rate, total soluble protein production, and activity of the enzymes β -1,3-glucanase, peroxidase, phenylalanine ammonia-lyase in leaves of pruned and nonpruned specimens of *M. peregrina* in two areas of Mato Grosso do Sul State highly infested by this species, with the aim of evaluating the impact of mechanical injury on the synthesis of defense proteins. In both areas, growth rates were higher in specimens subjected to mechanical pruning than in intact plants, a finding that corroborates results of previous investigations. In some periods after pruning, soluble protein content and peroxidase activity at pH 5.0, 7.0, and 8.6 were higher in leaves of pruned specimens, although differed by macromolecule group. These findings suggest that variations in peroxidase activity in leaves of pruned specimens of *M. peregrina* may be a response to mechanical pruning (an increase in basic and neutral peroxidases) and result from the role played by these compounds in growth processes (an increase in acidic peroxidases). The activity of β -1,3-glucanase and phenylalanine ammonia-lyase was similar in both pruned and intact specimens, demonstrating that mechanical pruning does not induce these defense mechanisms in the species investigated.

RESUMO

Proteínas de Defesa em Folhas de *Memora peregrina* (Miers) Sandwith (Bignoniaceae) – uma Espécie Invasora de Pastagens – A espécie *Memora peregrina* (Miers) Sandwith (Bignoniaceae), popularmente conhecida como ciganinha, é nativa dos Cerrados. No seu ambiente natural a ocorrência desta planta é esparsa, restrita a clareiras. Em áreas desmatadas, para formação de pastagens, esta espécie aparece competindo com forrageiras, chegando a dificultar a pastagem de bovinos. Os pecuaristas geralmente utilizam a poda mecânica para o controle da espécie; entretanto, este método elimina a parte aérea e fragmenta o sistema subterrâneo, estimulando o desenvolvimento desta estrutura, tornando a espécie mais competitiva. O objetivo deste trabalho foi acompanhar a taxa de crescimento, a produção de proteínas solúveis totais e a atividade das enzimas β 1,3 glucanase, peroxidase e fenilalanina amônia-liase em folhas de indivíduos podados e não podados de *M. peregrina* em duas áreas do Mato Grosso do Sul, com alto grau de infestação por esta espécie, com a finalidade de verificar o impacto da injúria mecânica sobre a síntese de proteínas de defesa. Os indivíduos de *Memora peregrina* submetidos à poda mecânica apresentaram uma maior taxa de crescimento do que os indivíduos não podados, em ambas as áreas estudadas, corroborando os resultados obtidos por outros autores. Os teores de proteínas solúveis e a atividade das peroxidases nos pHs 5,0, 7,0 e 8,6 foram maiores nas folhas nos indivíduos podados de *M.peregrina* do que nos indivíduos não podados, durante alguns períodos após a poda, que foram diferentes para cada grupo de macromoléculas analisadas. É sugerido que as variações observadas na atividade das peroxidases de folhas de indivíduos podados de *M.peregrina* pode ser uma resposta à poda mecânica (aumento das peroxidases básicas e neutras), bem como o resultado da participação das mesmas nos processos de crescimento (aumento das peroxidases ácidas). A atividade das enzimas β -1,3-glucanase e da fenilalanina-amônia-liase foi semelhante entre indivíduos de *M.peregrina* podados e não podados, indicando que a poda mecânica não é um fator indutor destes processos de defesa nesta espécie.

INTRODUÇÃO

Ambientes alterados pela ação do homem, e principalmente aqueles em que o manejo é feito inadequadamente, podem sofrer um processo de degradação que muitas vezes resulta na invasão por espécies vegetais silvestres. Uma vez que não existam fatores controladores de crescimento e de população, presentes nos ecossistemas naturais em equilíbrio, estas espécies tendem a se tornar invasoras de áreas degradadas, resultando em prejuízos econômicos e ambientais graves (Radford & Cousens, 2000; Ghini & Bettioli, 2000).

Muitos estudiosos concordam que não existem padrões que relacionem efetivamente o estabelecimento de espécies invasoras (Kolar & Lodge, 2001). No entanto, algumas características têm sido encontradas e incluem: alta capacidade de reprodução vegetativa, tendência a possuírem sementes pequenas e numerosas, adaptações morfológicas e fisiológicas a ambientes especializados, sistemas caulinares subterrâneos, grande resistência à herbívora, alta longevidade no solo, crescimento rápido, atividade alelopática, entre outras (Rejmanek, 1999; Radford & Cousens, 2000).

Memora peregrina (Miers) Sandwith (Bignoniaceae), espécie arbustiva, semilenhosa e entouceirada, apresentando um porte médio de 150 cm de altura e rizomas bem desenvolvidos, formando uma rede de caules subterrâneos (Lorenzi, 2000). Popularmente conhecida como ciganinha, nativa dos Cerrados (*sensu stricto*) de Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás e Minas Gerais (Nunes, 1999). No seu ambiente natural a ocorrência desta planta é esparsa, restrita às clareiras. Como *M. peregrina* possui uma rede de rizomas que pode ocupar áreas de tamanhos variáveis, é muito difícil delimitar um indivíduo, o que dificulta ainda mais o seu manejo. Em áreas desmatadas para formação de pastagens, aparece competindo com as forrageiras. Os pecuaristas geralmente utilizam roçadeiras para o controle da espécie. Entretanto, este método elimina a parte aérea e fragmenta o sistema subterrâneo, estimulando o desenvolvimento dos rizomas. Dessa maneira *M. peregrina* se espalha,

inibindo o desenvolvimento de gramíneas e dificultando a pastagem de bovinos (Nunes, 1999).

A ocorrência de *M. peregrina* como invasora de pastagens já foi verificada em alguns estados brasileiros, como Minas Gerais e Paraná, e toda a região Centro-Oeste. No Mato Grosso do Sul, sua presença como invasora já foi registrada em cerca de 70% dos municípios, sendo que em algumas regiões inviabilizou várias áreas de pastagens, e até propriedades inteiras, em decorrência dos elevados níveis de infestação e do alto custo para sua erradicação (Nunes, 1999).

Estudos da composição bioquímica da *M. peregrina* indicaram a presença de altas concentrações de proteína em folhas jovens (Maldonado, 2001). Marchetti (2006) observou um aumento na quantidade de proteínas totais nas folhas (cerca de 20%), e uma queda na taxa de alantoína dos caules subterrâneos, após poda mecânica.

Em geral, plantas submetidas a algum tipo de estresse biótico ou abiótico apresentam um aumento na síntese de proteínas de defesa. Dentre as famílias de proteínas de defesa mais amplamente difundidas no Reino Vegetal estão as β -1,3-glucanases, peroxidases e fenilalanina amônia-liases (Sánchez *et al.*, 2000; Tian *et al.*, 2006).

Karban & Myers (1989) em uma extensa revisão sobre mecanismos de defesa em plantas mostraram que a poda é indutora de defesas químicas. Outros trabalhos também apontam a poda mecânica ou causada por herbívoros como um fator importante de indução de defesas físicas e químicas (Federle *et al.*, 2002; Heil & McKey, 2003). Neste trabalho avaliou-se o efeito da poda mecânica dos caules aéreos de indivíduos de *M. peregrina* presentes em uma área de pastagem e em uma área antropizada, sobre a taxa de crescimento, a presença e quantidade de proteínas de defesa em folhas, a saber, glucanases, peroxidases e fenilalanina amônia-liases.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

Foram selecionadas duas áreas onde *M. peregrina* apresenta alta concentração: uma no município de Campo Grande (20°25'37,6"S; 54°35'04,5"O) de propriedade de uma Instituição Federal (Correios e Telégrafos), e outra no Município de Rochedo (20°15'18,7"S; 54°47'49,3"O) na Fazenda Taipoca, ambas em Mato Grosso do Sul – Brasil. O critério para a escolha dessas áreas foi baseado na distribuição e na forma reprodutiva da espécie. Nesse último critério, as plantas de Campo Grande são oriundas de bancos de sementes. Em Rochedo as plantas foram formadas a partir da rebrota de caules subterrâneos presentes em uma área de pastagem.

Material vegetal

Um total de 40 indivíduos de *M. peregrina* foram selecionados em cada área, sendo que na primeira coleta 20 indivíduos foram podados a 15 cm do solo, e outros 20 permaneceram intactos, como grupo controle. Para os ensaios bioquímicos, folhas jovens e adultas foram coletadas de quatro indivíduos podados e de quatro não podados sendo registrada a altura de todos os indivíduos nos dias zero (dia da poda – início da estação seca no estado), 60, 120 e 180 dias após a poda, em ambas as áreas.

Análises de solo

Foram coletadas amostras de solo de ambas as áreas de estudo. As análises foram realizadas no Laboratório de Análise de Solos do Núcleo de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Grande Dourados (Dourados, MS). As análises foram feitas segundo metodologias descritas por Vettori (1969) e Jackson (1976).

Preparação dos extratos

As folhas recém-coletadas foram maceradas em almofariz com nitrogênio líquido. O pó resultante foi homogeneizado com tampão fosfato de sódio, pH 7,0, 50 mM, contendo EDTA 2 mM e ácido ascórbico 5 mM. O sobrenadante foi recolhido e utilizado como extrato

bruto para as dosagens descritas a seguir, sendo o precipitado descartado (Marques e Xavier Filho, 1991). Os extratos foram acondicionados a -18°C no Laboratório de Bioquímica da UFMS, até o momento da análise.

Proteína total

A quantificação foi feita pelo método descrito por Bradford (1976), pelo preparo do reagente em laboratório. A concentração de proteína dos extratos foi determinada por comparação com uma curva padrão de albumina sérica bovina (BSA), por espectrofotometria, a 594 nm de absorvância.

Atividade peroxidásica

Foi determinada segundo Pütter (1974). O sistema de reação continha 0,96 mL de tampão fosfato de sódio (0,1 M, pH 7,0), 20 μL de pirogalol 0,1 M como substrato e 20 μL de H_2O_2 , 0,1 M. Em seguida foi realizada a leitura da absorvância em 470 nm. A atividade específica (atividade peroxidásica/ μg proteína) foi expressa em unidades de atividade enzimática (UAE), onde uma unidade corresponde, arbitrariamente, a uma diferença de 0,001 de absorvância/minuto/ μg de proteína (Gray *et al.*, 1996).

Atividade fenilalanina amônia-liásica (PAL)

A atividade da PAL foi determinada de acordo com o método descrito por Prusky *et al.* (1996), com modificações. Ao sobrenadante do extrato enzimático (200 mL) adicionou-se 1,2 mL de tampão tris-HCl 0,05 M pH 8,0 contendo 6,0 mM de L-fenilalanina. Foi medida a absorvância do meio de reação em 290 nm e a atividade enzimática específica expressa em mmoles ácido cinâmico. mg proteína $^{-1}$. min^{-1} .

Atividade β -1,3-glucoanásica

A mistura de reação continha 50 μL de extrato e, 100 μL de tampão acetato 50 mM pH 5,0 contendo laminarina a 0,25%. A mistura foi incubada a 40°C por 30 minutos e o açúcar redutor produzido foi determinado pelo método descrito por Miller (1959). Foi medida a absorvância do meio de reação em 540 nm. Uma unidade da atividade enzimática (UAE) da

β -1,3-glucanase foi definida como a quantidade de enzimas que produziu 1 μ mol do açúcar redutor/minuto. A atividade específica (UAE esp) foi definida como a quantidade de enzimas que produziu 1 μ mol do açúcar redutor/minuto/mg proteína.

Análise de dados

Para testar se a taxa de crescimento é maior em indivíduos podados ou não podados, em relação ao tempo após a poda, utilizou-se o teste de variância ANOVA. Apesar da distribuição dos dados não ser normal, preferiu-se utilizar o teste paramétrico, pois as variáveis apresentaram homogeneidade nas variâncias. Para verificar diferenças na quantidade de proteína total e a atividade da peroxidase entre indivíduos podados e não podados de *M. peregrina* utilizou-se o teste t student com nível de significância de 0,05. Já para testar as diferenças das variáveis PAL e β -1,3-glucanase em relação a plantas podadas e não podadas foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney, pois os dados não apresentaram distribuição normal e homogeneidade nas variâncias. O número de amostras para cada tratamento (podada e não podada) foi 12. As amostras da primeira coleta foram descartadas nos testes, pois os indivíduos ainda não tinham sido podados, portanto não seria possível medir o efeito do fator poda nestas plantas. As outras análises estatísticas foram realizadas com o pacote estatístico Systat[®] versão 11.0.

RESULTADOS

As análises de solo mostraram diferenças importantes entre as duas áreas estudadas. O solo da área de Campo Grande apresenta uma baixa concentração de matéria orgânica ($7,3_{(\pm 0,4)}$ g/dm³), possui pH ácido ($5,4_{(\pm 0,2)}$), e uma alta concentração de alumínio ($4,9_{(\pm 2,5)}$ mmol_(c)/dm³) (Tabela 1). O solo da área de Rochedo, é bem mais rico em matéria orgânica ($14,4_{(\pm 2,1)}$ g/dm³), quando comparado com as amostras da área anterior, possui o pH menos ácido ($6,0_{(\pm 0,3)}$) e não apresenta alumínio em sua composição (Tabela 1). A área de Campo Grande, embora pertença a uma Instituição Federal (Correios e Telégrafos), não está

submetida a nenhum tipo de manejo, e observa-se que em muitos locais ocorre a invasão por espécies exóticas ou nativas com comportamento de invasora, como é o caso de *Memora peregrina*. A área de Rochedo pertence a uma fazenda de gado, cujos proprietários fizeram algum tipo de manejo do solo, como adubação e correção de pH, para aumentar a produtividade de suas pastagens.

Na área de coleta de Campo Grande, os indivíduos podados de *M. peregrina* cresceram mais que os não podados, sendo que a taxa de crescimento manteve-se praticamente constante nos períodos posteriores ao primeiro registro das alturas (60, 120 e 180 dias após a poda) (Figura 1). Na área de coleta de Rochedo, somente no primeiro registro após a poda verificou-se que os indivíduos não podados mostraram uma taxa de crescimento maior que os podados. Porém no registro seguinte (120 dias após a poda), esta se inverteu, e no último registro (180 dias após a poda), a taxa de crescimento dos indivíduos podados foi quase três vezes maior do que a dos não podados (Figura 1).

Através das análises estatísticas, pode-se verificar que, tanto o tempo ($P= 0,000$), como a poda ($P= 0,000$) e a relação tempo x poda ($P= 0,000$), tiveram influência sobre a taxa de crescimento dos indivíduos da área de Rochedo ($P\leq 0,05$). O mesmo não ocorreu na área de Campo Grande, onde somente a poda ($P= 0,002$) influenciou significativamente ($P\leq 0,05$) a taxa de crescimento dos indivíduos.

As Figuras 2 e 3 mostram os dados referentes às médias e desvios-padrão da concentração de proteínas presentes nas folhas de indivíduos podados e não podados nas duas áreas amostradas. Por estes resultados observa-se que não houve grandes variações na proteína total entre podados e não podados, principalmente devido aos altos valores dos desvios-padrão, em ambas as áreas. Análises paramétricas (testes t) destes dados confirmaram não existir diferenças significativas na concentração de proteínas entre indivíduos podados e não podados nas duas áreas estudadas (o valor P referente ao teste t está registrado nas Figuras 2 e 3). Porém, ao se realizar uma análise estatística correlacionando o tempo, a taxa

de crescimento e a quantidade de proteínas e enzimas dos indivíduos podados e não podados foi possível obter informações dos processos bioquímicos ocorrentes ao longo do tempo do experimento e de forma individualizada (Figuras 4 e 5). Com estas análises foi possível observar que a proteína total aumentou nos indivíduos podados nas duas áreas, embora em épocas diferentes. As análises estatísticas a partir destes dados também confirmam que a variação do conteúdo de proteínas nos indivíduos podados e este foi significativa ao longo do tempo ($P < 0,001$ na área de Campo Grande e $P = 0,001$ na área de Rochedo). As médias permaneceram constantes porque se referem à uma somatório de todas as coletas juntas, sem considerar o fator tempo, que neste estudo foi fundamental. Em suma, a poda mecânica induziu um aumento no conteúdo de proteínas nas folhas de *M. peregrina*, nas duas áreas estudadas.

As folhas de *M. peregrina*, de modo geral, apresentaram uma elevada atividade peroxidásica em todos os pHs avaliados em ambas as áreas. Em uma análise dos dados absolutos, observa-se que as folhas dos indivíduos podados apresentaram menor atividade do que os indivíduos não podados aos 60 e 120 dias. No entanto, após 180 dias, os indivíduos podados apresentaram maior atividade peroxidásica em todos os pHs avaliados, do que os não podados, indicando que neste caso, houve uma resposta da planta à poda mecânica, após 180 dias (Figuras 2 e 3). No entanto, ao se realizar a análise paramétrica observa-se que não houve diferenças significativas na atividade peroxidásica entre indivíduos podados e não podados na área de Rochedo (pH 5,0 – $P = 0,144$; pH 7,0 – $P = 0,114$; pH 8,6 – $P = 0,103$). Por outro lado, as mesmas análises paramétricas realizadas na área de Campo Grande mostraram que a atividade peroxidásica em pH 7,0 foi significativamente maior entre os indivíduos podados do que nos não podados em pH 7,0 (o valor P referente ao teste t está registrado nas Figuras 2 e 3).

Nas análises de correlação entre tempo, taxa de crescimento e atividade peroxidásica das plantas coletadas na área de Rochedo, observa-se que as peroxidases nos pHs 5,0 e 8,6

apresentaram uma alta atividade entre 0 e 120 dias nos indivíduos podados, mas esta atividade foi semelhante nos indivíduos não podados entre 60 e 120 dias; já a peroxidase pH 7,0 foi muito ativa entre 0 e 60 dias somente nos indivíduos podados, mas sua atividade decaiu substancialmente em todos os indivíduos nos períodos subseqüentes (Figura 4). Nos testes estatísticos ANOVA, verifica-se que ao se correlacionar tempo, concentração de proteína e atividade peroxidásica dos indivíduos da área de Rochedo, existem diferenças significativas entre essas variáveis (indicada pelos valores de $P \leq 0,05$). Em outras palavras, ocorreu uma variação na atividade peroxidásica e esta foi maior nos indivíduos podados do que nos não podados.

A Figura 5 mostra a relação entre tempo, o crescimento de indivíduos podados e não podados, e as atividades peroxidásicas dos mesmos na área de Campo Grande. As atividades peroxidásicas em pH 5,0 e 7,0 foram maiores nos indivíduos não podados 60 dias após a primeira coleta, e 120 dias após a poda ocorreu um pico na atividade específicas destas isoenzimas peroxidásicas nos indivíduos podados (Figura 5). A peroxidase em pH 8,6 foi mais bem ativa após 60 dias nos indivíduos podados, e foi moderadamente ativa nos períodos subseqüentes, com perfil semelhante aos indivíduos não podados (Figura 5).

A enzima fenilalanina amônia-liase, aparentemente, apresentou uma concentração maior nos indivíduos podados em ambas as áreas (Figuras 2 e 3), porém, devido aos altos valores dos desvio-padrão, essa variação não foi significativa. Esta assertiva foi comprovada através do teste de Man-Whitney dos indivíduos da área de Campo Grande ($P= 0,129$) e da área de Rochedo ($P= 0,975$). Nas análises de correlação entre tempo, a taxa de crescimento de indivíduos podados e não podados da área de Rochedo e a atividade da enzima fenilalanina amônia-liase, observa-se que esta enzima foi mais ativa 60 dias após a poda, declinando nos demais períodos analisados (Figura 4). Já nas amostras analisadas da área de Campo Grande a maior atividade desta enzima ocorreu 180 dias após a poda (Figura 5). Entretanto, através do teste de Kruskal-Wallis, não houve diferenças significativas na atividade da PAL entre

indivíduos podados e não podados coletados na área de Campo Grande ($P=0,11$) e Rochedo ($P=0,16$) (Figuras 4 e 5). Estes resultados mostram que esta enzima não foi ativada de forma acentuada por estresse mecânico em folhas de *M. peregrina*.

De forma semelhante ao perfil observado nas análises da enzima PAL, a média das atividades β -1,3-glucanásicas não apresentou grandes variações entre indivíduos podados e não podados nas duas áreas (Figuras 2 e 3). O teste de Man-Whitney aplicado aos indivíduos da área de Campo Grande ($P= 0,817$) e de Rochedo ($P= 0,908$) confirmam que não houve diferenças significativas entre podados e não podados. Nas análises de correlação entre tempo, taxa de crescimento de indivíduos podados e não podados, e a atividade da enzima β 1,3 glucanase, observa-se que não ocorreram variações significativas ao longo do tempo e nem entre podados e não podados, como mostram as Figuras 4 e 5 (teste de Kruskal-Wallis; $P= 0,47$ na área de Campo Grande e $P=0,45$ na área de Rochedo).

DISCUSSÃO

Muitos estudos confirmam que a qualidade do solo é um dos fatores determinantes da taxa de crescimento de plantas (Karlen *et al.*, 1997; Vezzani, 2001). Foi verificado neste trabalho que os indivíduos analisados nas duas áreas apresentaram taxas de crescimento diferentes (Tabela 1). Os indivíduos da área de Campo Grande são originários de bancos de sementes, e não formaram ainda os clones característicos observados em populações mais antigas de *Memora peregrina* presentes em pastagens, como é o caso das populações dessa mesma espécie, na Fazenda de Rochedo. É sugerido que a taxa de crescimento observada na área de Rochedo deva estar associada a dois fatores: solo rico em matéria orgânica (Tabela 1) e maior translocação de nutrientes dos clones vizinhos, via rizoma, para a parte aérea da planta podada (Grant *et al.*, 2001). Por outro lado, a baixa taxa de crescimento dos indivíduos podados da área de Campo Grande resultou dos baixos níveis de matéria orgânica no solo e pelo fato de serem indivíduos isolados, não clonais, com sistemas radiculares mais limitados.

Além disso, a presença de alumínio no solo desta área pode também ter sido um fator limitante do crescimento.

Porém, independentemente da área, a poda mecânica estimulou o crescimento vegetativo dos indivíduos de ambas as áreas, como observado anteriormente por Nunes (1999) e Marchetti (2006). A maior taxa de crescimento nos indivíduos podados (Figura 1) confirma o que foi observado por Guimarães (1974), que tanto a poda manual quanto mecânica são processos pouco eficientes para o controle de plantas invasoras, porque a maioria delas rebrota vigorosamente, comportando-se como se tivessem sido submetidas à poda corretiva.

Nos testes estatísticos (ANOVA) dos dados do trabalho, onde se correlacionou as classes de tempo (60, 120 e 180 dias) com o crescimento e a quantidade de proteína total em indivíduos podados e não podados, observou-se uma variação significativa na proteína total, em ambas as áreas (Figuras 4 e 5). Em Rochedo a concentração de proteínas sofreu um aumento rápido após a poda, seguida de um declínio ao longo do experimento. Nesta área, como já foi dito anteriormente, a parte aérea da população está interligada por uma rede de rizomas subterrâneos. Com a poda, provavelmente ocorreu um aporte rápido de compostos nitrogenados para a parte aérea, que foram convertidos em proteínas. Ao longo do tempo esses translocados foram redistribuídos entre os demais clones, o que levou a um declínio da concentração de proteínas nos indivíduos podados. No entanto, esta foi suficiente para permitir o crescimento da parte aérea em uma taxa mais alta nos indivíduos podados do que nos não podados, indicando que a planta realmente redireciona seu metabolismo no sentido de recuperar seus tecidos fotossintetizantes.

Na área de Campo Grande as médias das concentrações das proteínas totais de folhas de todos os indivíduos analisados também não variou significativamente (Figuras 2 e 3). Mas, à semelhança dos indivíduos da área de Rochedo, a produção de proteínas nos indivíduos podados desta área foi significativamente maior nos indivíduos podados ao longo

do tempo, no intervalo entre 60 e 180 dias após a poda, fato verificado pelos testes de ANOVA. Vale ressaltar que a produção de proteína nos indivíduos desta área foi maior do que na área de Rochedo, pois neste caso, não há ainda um sistema radicular bem desenvolvido, e portanto não há redistribuição de recursos. Outro fato importante é que os indivíduos da área de Campo Grande são jovens, e têm maior capacidade de recuperação e de síntese de compostos primários após eventos estressantes, como já foi amplamente descrito na literatura (Ho & Sachs, 1989; Piza *et al.*, 2003).

Em folhas de *M. peregrina* coletadas na área de Rochedo, ocorreu uma redução no teor de proteína após 180 dias, independentemente do tratamento (podado e não podado). Essa redução provavelmente se deve a uma translocação de proteínas formadas nas folhas para outros tecidos da planta (Larcher, 2000; Taiz & Zeiger, 2004). Sob a influência do estresse mecânico, a síntese de proteínas é inibida e a sua degradação é acelerada, o que leva a um acúmulo de aminoácidos e aminas livres (Larcher, 2000). Isso justifica a baixa quantidade inicial de proteína nas folhas coletadas em Rochedo.

As Figuras 4 e 5 mostram o perfil de atividade peroxidásica em folhas de *M. peregrina* de indivíduos podados e não podados ao longo do tempo. Pelos testes estatísticos (ANOVA), observa-se que em ambas as áreas a atividade peroxidásica foi significativamente diferente entre indivíduos podados e não podados. Na área de Rochedo, ocorreu um pico de atividade das peroxidases nos pHs 5,0 e 8,6 entre 0 e 120 dias após a poda, nos indivíduos podados. Nos períodos subsequentes, esta atividade diminuiu. Já em pH 7,0 houve um pico abrupto entre 0 e 60 dias após a poda, e um decréscimo da atividade nos demais períodos. Na área de Campo Grande, a atividade peroxidásica nos pHs 5,0 e 7,0 permaneceu baixa entre 0 e 120 dias após a poda, e então ocorreu um pico de atividade curto neste período nos indivíduos podados; havendo em seguida uma queda na atividade.

A maior atividade observada para os menores períodos de tempo após a poda das plantas está de acordo com a afirmação de Tuzun (2001) de que peroxidases estão envolvidas

nas respostas iniciais de defesa de plantas. Resende *et al.* (2000) já haviam demonstrado que as peroxidases estão envolvidas na indução de resistência em cacauzeiros, porém mediada pela aplicação de um indutor abiótico.

A variação observada na atividade das peroxidases neste trabalho pode ser uma resposta à poda mecânica (aumento das peroxidases básicas e neutras), bem como o resultado da participação das mesmas nos processos de crescimento dos indivíduos podados de *M. peregrina* (aumento das peroxidases ácidas).

O acompanhamento da atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) em indivíduos podados e não podados mostrou que não houve alterações significativas no perfil da enzima entre as amostras analisadas, como pode ser observado nas análises de correlação (Kruskall-Wallis) entre as classes de tempo (0, 60, 120 e 180 dias) a taxa de crescimento e a atividade da PAL em ambas as áreas (Figuras 4 e 5).

Segundo Rivero *et al.* (2001) e Chakraborty *et al.* (2001), a atividade da fenilalanina amônia-liase aumenta em resposta a diferentes tipos de estresse, sendo considerada por muitos autores como “proteínas do estresse”, relacionadas com o desenvolvimento de mecanismos de proteção e adaptação de plantas a situações adversas. O tempo necessário para ativar os mecanismos de defesa é importante no combate aos agentes causadores de danos na planta. No caso das palmeiras, a atividade máxima da PAL ocorre após 30 dias após a infecção (Karthikeyan *et al.*, 2006), e este nível se mantém até o restabelecimento fisiológico da planta. O mesmo pode ter ocorrido nas folhas de *M. peregrina*, pois a primeira coleta ocorreu somente 60 dias após a poda. A enzima pode ter apresentado um pico de atividade nesse intervalo de tempo, que não foi registrado. Entretanto, durante o levantamento bibliográfico realizado no estudo, não foram encontrados trabalhos de correlação entre a atividade da PAL e injúria mecânica.

A β -1,3-glucanase apresentou uma pequena variação entre os indivíduos podados e não podados, de forma diferente nas duas áreas (Figuras 2 e 3). Em Rochedo (Figura 3) a

atividade desta enzima foi maior nos indivíduos não podados, e em Campo Grande (Figura 2) ela foi mais ativa nos indivíduos podados. Porém, após realizar análises estatísticas, e mesmo nos testes de correlação pela ANOVA, verificou-se que ambas as diferenças não foram significativas (Figuras 2 a 5).

Um melhor entendimento dos mecanismos de indução de proteínas de defesa por agentes abióticos, como a injúria mecânica, é um requisito importante para o conhecimento da biologia de *Memora peregrina*. As informações obtidas neste trabalho sugerem que *M. peregrina* é uma espécie resistente à injúria mecânica, uma vez que não houve, aparentemente, um recrutamento de grandes quantidades de proteínas e enzimas para disparo dos processos de defesa. É possível que outras classes de proteínas e compostos do metabolismo secundários possam ser ativados, mas não foram analisados nestes estudos. Uma continuidade deste trabalho, como a realização de outras análises, envolvendo a quantificação de inibidores de proteases, catalases (envolvidas nos processos de produção de radicais livres), peroxidação de lipídeos, entre outros, podem contribuir na elucidação dos tipos e intensidade das respostas de *M. peregrina* à poda mecânica. Informações desta natureza podem ser úteis na busca de estratégias de controle desta espécie invasora.

AGRADECIMENTOS

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e à FUNDECT (Fundação de Apoio ao Desenvolvimento de Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul) pela bolsa concedida e pelo auxílio financeiro. À Coordenação do Mestrado em Biologia Vegetal da UFMS e à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, pelo apoio e auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRADFORD, M. M., 1976, A rapid e sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72:248-254.
- CHAKRABORTY, U., DUTTA, S., CHAKRABORTY, B., 2001, Drought induced biochemical changes in young tea leaves. Indi. J. Plant Physiol., 6(1):103-106.
- FEDERLE, W., MASCHWITZ, U., HÖLLDOBLER, B., 2002, Pruning of host plant neighbours as defence against enemy ant invasions: crematogaster ant partners of *Macaranga* protected by “wax barriers” prune less than their congeners. Oecol., 132:264–270.
- GHINI, R., BETTIOL, W., 2000, Proteção de plantas na agricultura sustentável. Cad. Ciê. Tec., 17:61-70.
- GRANT, C. A., FLATEN, D. N., TOMASIEWICZ, D. J., *et al.*, 2001, A importância do fósforo no desenvolvimento inicial da planta. Infor. Agro., 95.
- GRAY, T. M., ARNOYS, E. J., BLANKESPOOR, S., *et al.*, (1996). Destabilizing effect of proline substitutions in two helical regions of T4 lysozyme: Leucine 66 to proline and leucine 91 to proline. Protein Science, Camb. Uni. Press. Printed in the USA, 5:742-751.
- GUIMARÃES, P. T. G., 1974, Erradicação de plantas invasoras de pastagens pelo uso de herbicida e por métodos mecânicos. Tese. Curso de Zootecnia. Uni. Fed. Viç., 57 p.
- HEIL, M., MCKEY, D., 2003, Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. Ann. Rev. Ecol., Evol., Syst., 34:425-553.
- HO, T. H., SACHS, M. M., 1989, Stress-induced proteins: Characterization and regulation of their synthesis. In: Marcus A (ed), The Biochemistry of Plants, pp.347-378. Acad. Press, San Diego.
- JACKSON, M. L., 1976, Análisis químico de suelos. Barcelona, Omega.
- KARBAN, R., MYERS, J. H., 1989, Induced plant responses to herbivory. Ann. Rev. Eco. Syst., 20:331-348.

- KARLEN, D. L., MAUSBACH, M. J., DORAN, J. W., *et al.*, 1997, Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation (a guest editorial). Soil Sci. Soc. Am. J., 61: 4-10.
- KARTHIKEYAN, M., RADHIKA, K., MATHIYAZHGAN, S., *et al.*, 2006. Biochemical defense mechanism in coconut. Braz. J. Plant Physiol., 18(3):367-377.
- KOLAR, C. S., LODGE, D. M., 2001, Progress in invasion biology: predicting invaders. Trends Ecol. & Evol., 16:199–204.
- LARCHER, W., 2000, Ecofisiologia vegetal. São Carlos: RiMa, 531p.
- LORENZI, H., 2000, Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas. 3. ed. Nova Odessa: Plantarum, 624p.
- MALDONADO, L. A. L., 2001, Análise do valor nutricional e estudo de toxicidade das folhas de *Memora peregrina* (Bignoniaceae) (Miers) Sandwith. Monografia de conclusão do Curso de Ciências Biológicas, UFMS.
- MARCHETTI, C. R., 2006, Taxa de crescimento e metabolismo nitrogenado de *Memora peregrina* (Miers). Sandwith (Bignoniaceae) - Uma espécie típica do Cerrado e invasora de pastagens. Dissertação de conclusão do Mestrado de Biologia Vegetal, UFMS.
- MARQUES, M. R., XAVIER-FILHO, J., 1991, Enzymatic and inhibitory activities of cashew tree gum exudate. Phytochem., 30(5):1431-1433.
- MILLER, G. L., 1959, Use of dinitrosalicylic acid reagent for the determination of reducing sugar. Anal. Chem., 31:426-428.
- NUNES, S. G., 1999, Ciganinha: a planta que está invadindo as pastagens. Informativo do Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte 12(2): 4-5.
- PIZA, I. M. T., LIMA, G. P. P., BRASIL, O. G., 2003, Atividade de peroxidase e níveis de proteínas em plantas de abacaxizeiro micropropagadas em meio salino. R. bras. Agrociên., 9(4):361-366.
- PRUSKY, D., HAMDAN, H., ARDI, R., *et al.*, 1996, Induction of biosynthesis of epicatechin in avocado cell suspension treated with enriched CO₂ atmosphere. Physiol. Mol. Plant Pathol. 48:171-178.

- PÜTTER, J., 1974, Peroxidases. In: Methods of enzymatic analysis. Ed .H. U. Bergemeyer. Academic Press. New York. 2:685-689.
- RADFORD, I. J., COUSENS, R. D., 2000, Invasiveness and comparative life-history traits of exotic and indigenous *Senecio* species in Australia. Oecologia, 125(4): 531-542.
- REJMANEK, M., 1999, Invasive plant species and invisable ecosystems. In: Sandlund OT, Schei PJ, Vilken A (eds.) Invasive species and biodiversity management, Kluwer, Dordrecht, NL, 79-102.
- RESENDE, M. L. V., NOJOSA, G. B. A., AGUILAR, M. A. G., *et al.*, 2000, Perspectivas na indução de resistência em cacauero contra *Crinipellis pernicioso* através do benzotiadiazole (BTH). Fitop. Brás., Fortaleza, 25(2):149 -156.
- RIVERO, R. M., RUIZ, J. M., GARCIA, P.C., *et al.*, 2001, Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. Plant Scien., 160(2):315-321.
- SÁNCHEZ, E., SOTO, J. M., GARCIA, P. C., *et al.*, 2000, Phenolic compounds and oxidative metabolism in green bean plants under nitrogen toxicity. Aust. J. Plant Physiol., 27:973-978.
- TAIZ, L., ZEIGER, E., 2004, Fisiologia Vegetal. 3ª Ed. Porto Alegre: Artimed ed. 719p.
- TIAN, S., WAN, Y., QIN, G., *et al.*, 2006, Induction of defense responses against *Alternaria* rot by different elicitor in harvested pear fruit. Appl. Microbiol. Biotechnol., 70:729-734.
- TUZUN, S., 2001, The relationship between pathogen-induced systemic resistance (ISR) and multigenic (horizontal) resistance in plants. Europ. J. Plant Pathol., Amsterdam, 107(1):85-93.
- VETTORI, L., 1969, Métodos de análise de solos. Equipe de Pedologia e Fertilidade do Solo, Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro. (Boletim Técnico, 7).
- VEZZANI, F. M., 2001, Qualidade do sistema solo na produção agrícola. Tese (Doutorado em Ciência do Solo) - Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo. UFRS, Porto Alegre, 184 p.

LEGENDA DAS FIGURAS

Figura 1. Média e desvio padrão da taxa de crescimento de *M. peregrina* ao longo do tempo em Campo Grande e Rochedo, Mato Grosso do Sul. Barras cinzas correspondem às plantas que sofreram poda e barras pretas às plantas que não foram podadas. (n=96)

Figura 2. Média e desvio padrão da quantidade total de proteínas e das atividades específicas de fenilalanina amônia-liase (PAL), β -1,3-glucanase e peroxidases pH 7,0, pH 5,0 e pH 8,6 em indivíduos podados e não podados de *M. peregrina*, no município de Campo Grande, MS. (n=24).

Figura 3. Média e desvio padrão da quantidade total de proteínas, e das atividades específicas de fenilalanina amônia-liase (PAL), β -1,3-glucanase e peroxidases (pHs 7,0, pH 5,0 e pH 8,6) em indivíduos podados e não podados de *M. peregrina*, no município de Rochedo, MS.

Figura 4. Relação entre o tempo, taxa de crescimento, atividades específicas das enzimas peroxidases (pHs 5,0, 7,0 e 8,6), fenilalanina amônia-liase (PAL) e β -1,3-glucanase de indivíduos de *M. peregrina* podados (círculos cheios) e não podados (círculos vazios). O tamanho dos círculos representa a quantidade de cada composto (indicado no gráfico) nas plantas do município de Rochedo/MS. Alguns pontos foram deslocados no eixo X para evitar sobreposição entre eles.

Figura 5. Relação entre o tempo, taxa de crescimento, atividades específicas das enzimas peroxidases (pHs 5,0, 7,0 e 8,6), fenilalanina amônia-liase (PAL) e β -1,3-glucanase de indivíduos de *M. peregrina* podados (círculos cheios) e não podados (círculos vazios). O tamanho dos círculos representa a quantidade de cada composto (indicado no gráfico) nas plantas do município de Campo Grande, MS. Alguns pontos foram deslocados no eixo X para evitar sobreposição entre eles.

Tabela 1. Características químicas do solo (macro e micronutrientes) da área de Campo Grande (CG) e Rochedo (RC).

FIGURAS E TABELAS

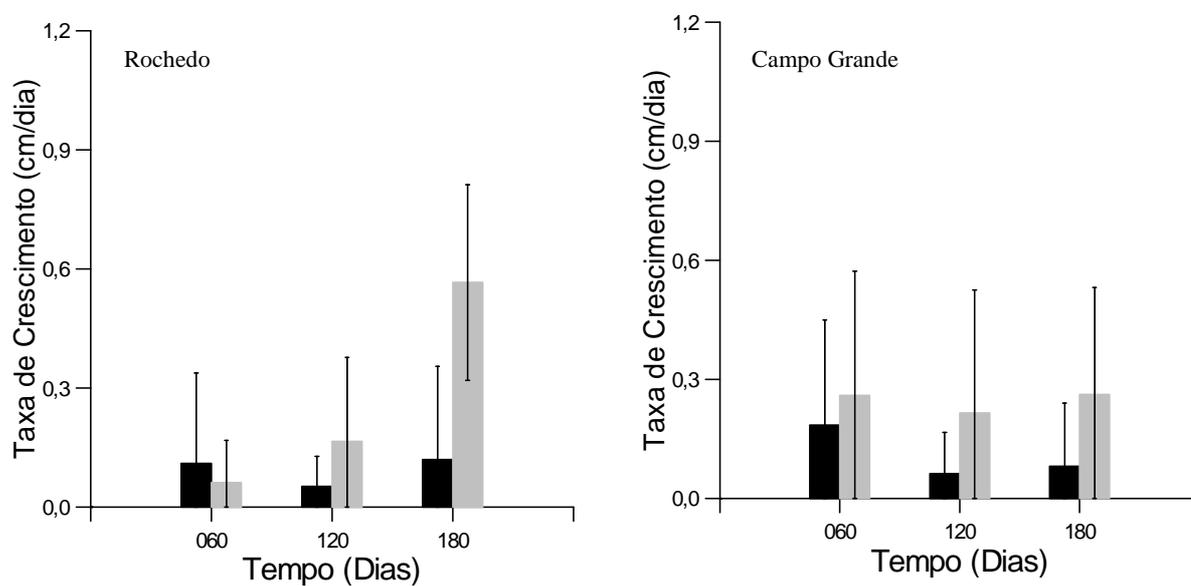


Figura 1. Média e desvio padrão da taxa de crescimento de *M. peregrina* ao longo do tempo em Campo Grande e Rochedo, Mato Grosso do Sul. Barras cinzas correspondem às plantas que sofreram poda e barras pretas às plantas que não foram podadas. (n=96)

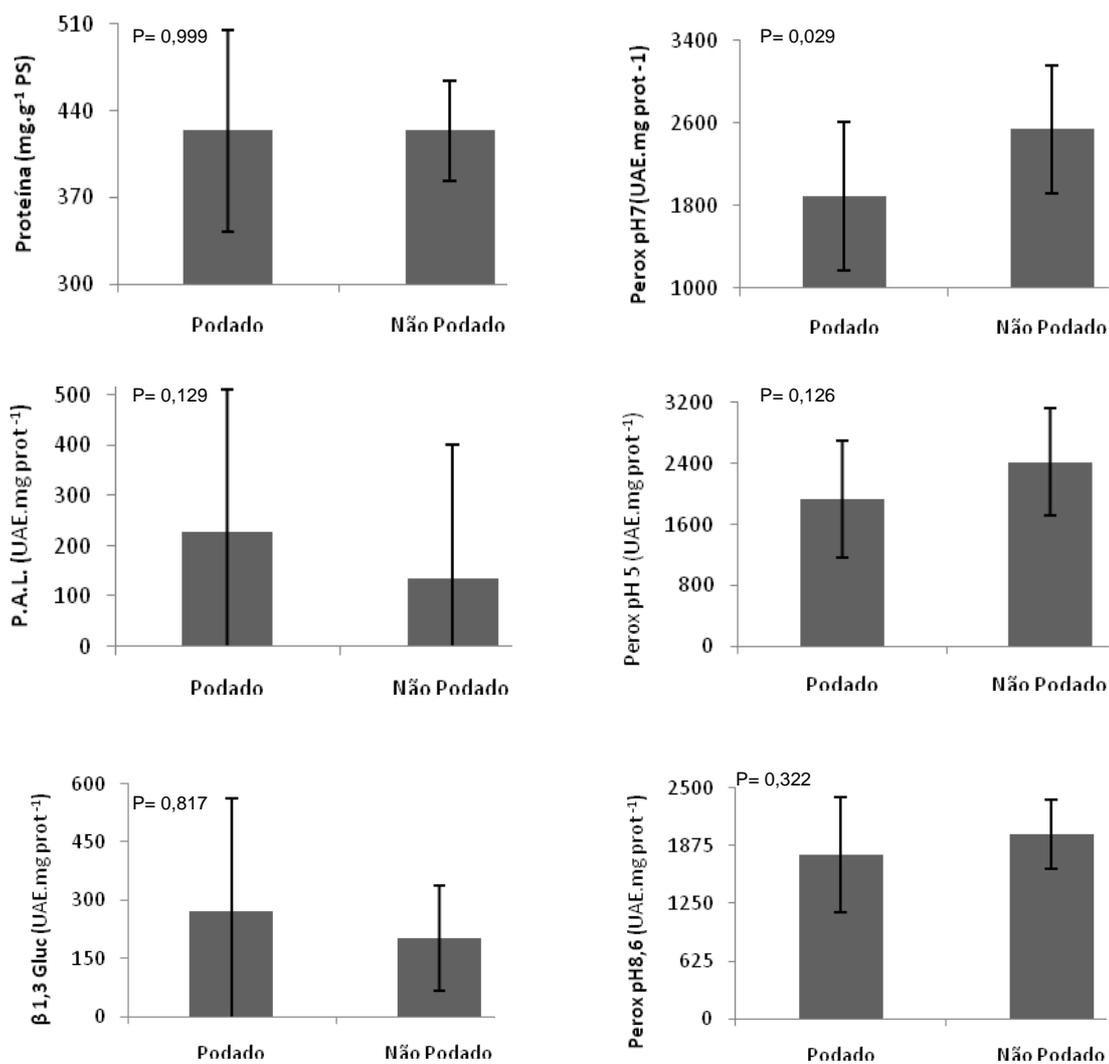


Figura 2. Média e desvio padrão da quantidade total de proteínas e das atividades específicas de fenilalanina amônia-liase (PAL), β -1,3-gluconase e peroxidases pH 7,0, pH 5,0 e pH 8,6 em indivíduos podados e não podados de *M. peregrina*, no município de Campo Grande, MS. (n=24).

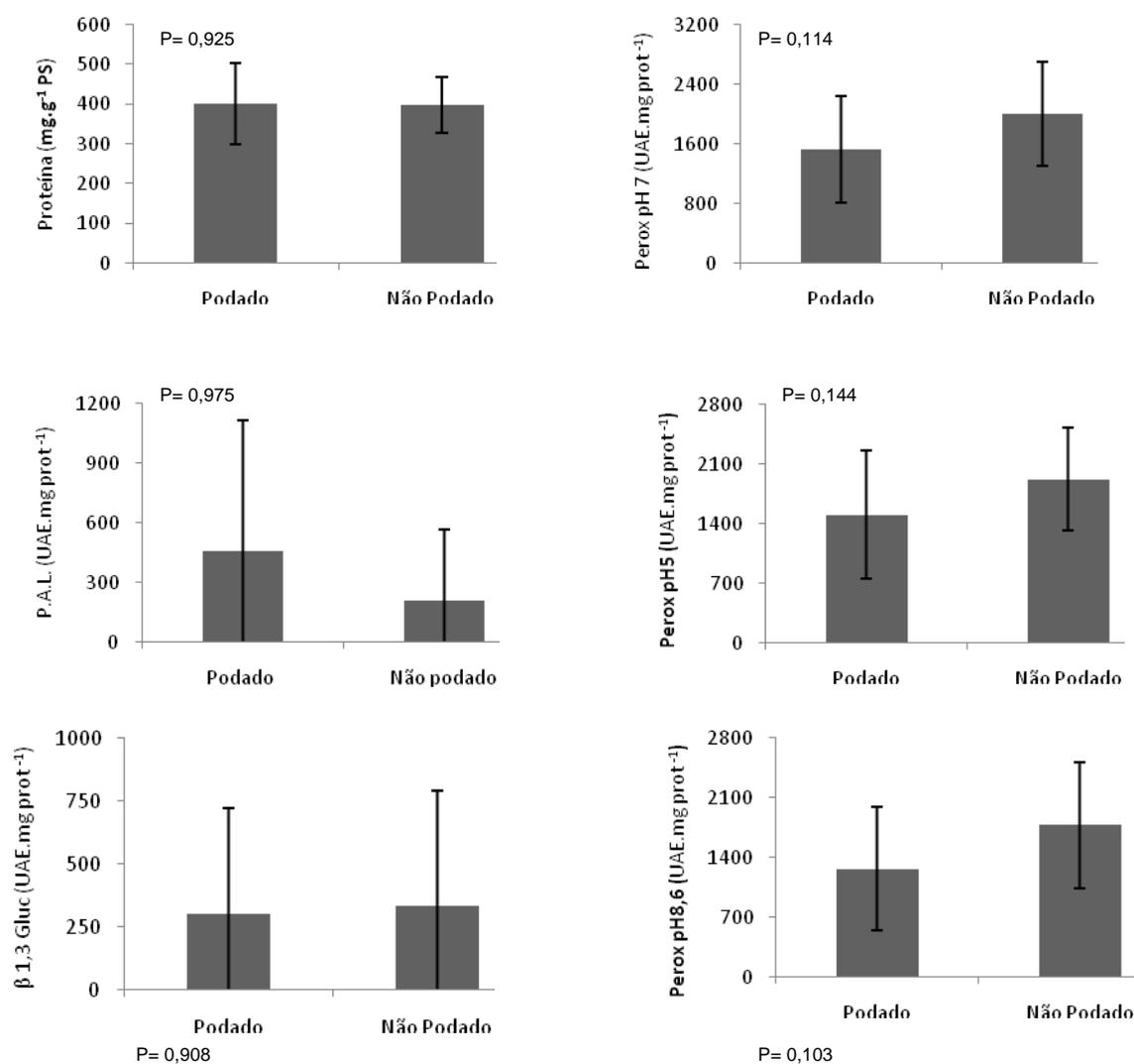


Figura 3. Média e desvio padrão da quantidade total de proteínas, e das atividades específicas de fenilalanina amônia-liase (PAL), β-1,3-glucanase e peroxidases (pHs 7,0, pH 5,0 e pH 8,6) em indivíduos podados e não podados de *M. peregrina*, no município de Rochedo, MS.

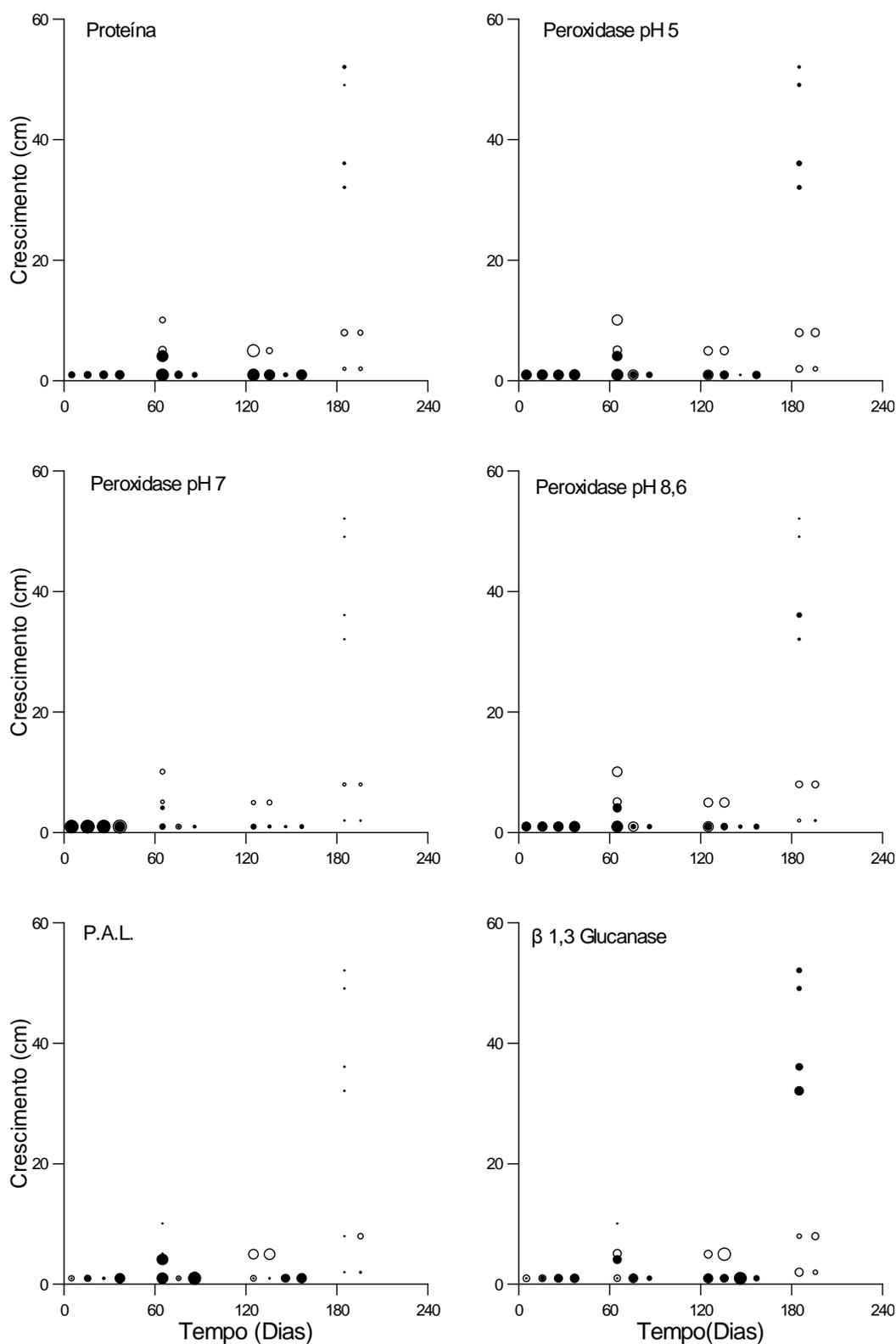


Figura 4. Relação entre o tempo, taxa de crescimento, atividades específicas das enzimas peroxidases (pHs 5,0, 7,0 e 8,6), fenilalanina amônia-liase (PAL) e β -1,3-glucanase de indivíduos de *M. peregrina* podados (círculos cheios) e não podados (círculos vazios). O tamanho dos círculos representa a quantidade de cada composto (indicado no gráfico) nas plantas do município de Rochedo/MS. Alguns pontos foram deslocados no eixo X para evitar sobreposição entre eles.

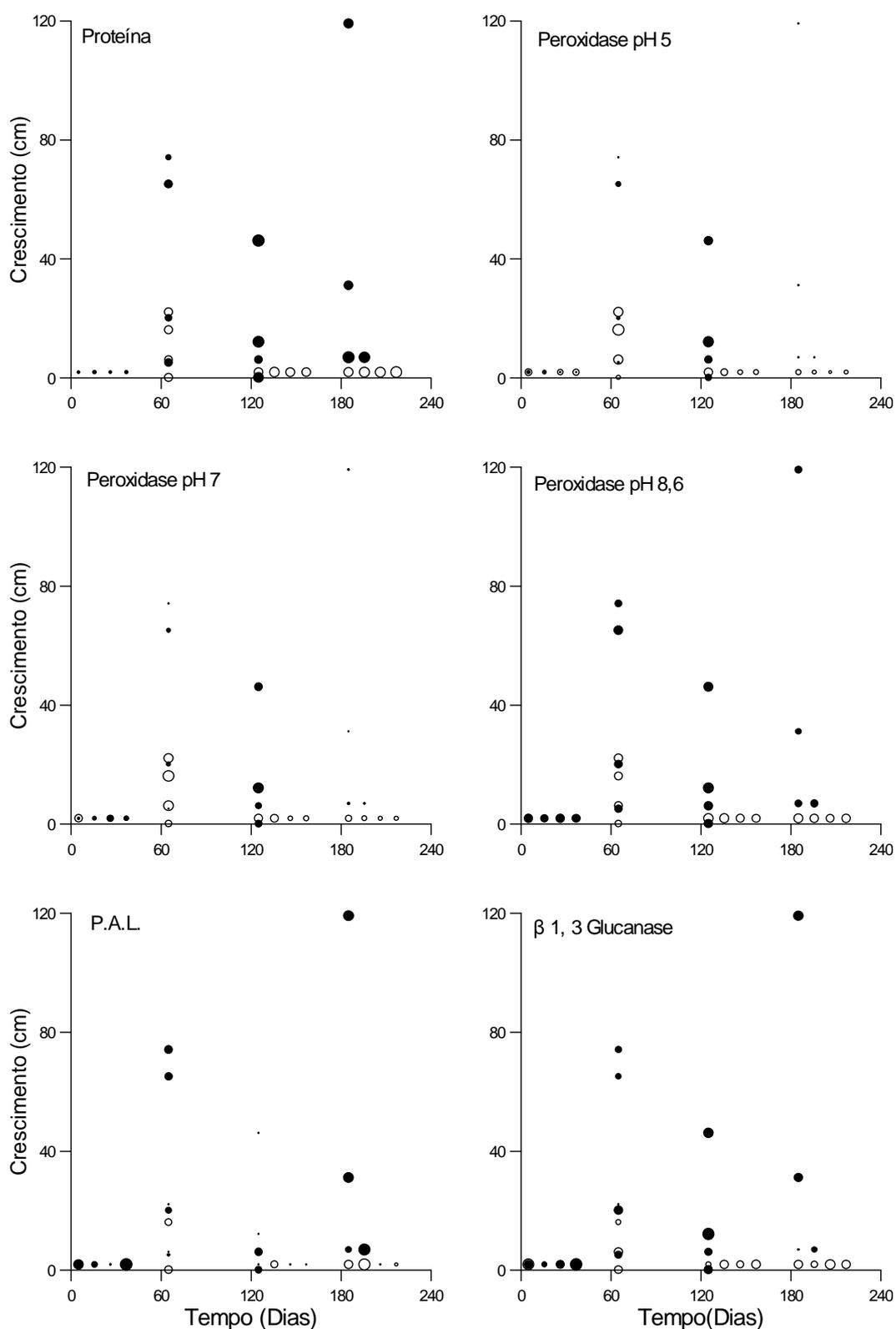


Figura 5. Relação entre o tempo, taxa de crescimento, atividades específicas das enzimas peroxidases (pHs 5,0, 7,0 e 8,6), fenilalanina amônia-liase (PAL) e β -1,3-glucanase de indivíduos de *M. peregrina* podados (círculos cheios) e não podados (círculos vazios). O tamanho dos círculos representa a quantidade de cada composto (indicado no gráfico) nas plantas do município de Campo Grande,MS. Alguns pontos foram deslocados no eixo X para evitar sobreposição entre eles.

Tabela 1. Características químicas do solo (macro e micronutrientes) da área de Campo Grande (CG) e Rochedo (RC).

Amostra	M.O.	pH	pH	P	K	Al	Ca	Mg	H+Al	SB	T	V
	g/dm ³	CaCl ₂	H ₂ O	mg/dm ³	mmol(c)/dm ³							
CG	7,3(±0,4)	4,3(±0,3)	5,4(±0,2)	1,5(±0,7)	0,3(±0,1)	4,9(±2,5)	5,9(±3,6)	1,2(±1,6)	16,0(±18,4)	7,3(±5,3)	38,8(±1,8)	18,0(±12,7)
RC	14,4(±2,1)	5,0(0,1)	6,0(±0,3)	2,0(±0,0)	2,1(±2,3)	0,0(±0,0)	17,5(±5,4)	4,8(±4,9)	23,0(±2,8)	24,4(±2,7)	47,4(±0,1)	51,0(±5,7)

M.O. - matéria orgânica (os resultados são dados em gramas por decímetro cúbico, com base no volume de terra); pH em CaCl₂ - pH em solução centimolar de cloreto de cálcio; pH em H₂O - pH determinado na relação sólido/líquido de 1/2,5; P - fósforo extraído do solo através de Mehlich; H + Al - (hidrogênio + alumínio) ou acidez potencial; Al, Ca, Mg, K - Formas trocáveis, alumínio, cálcio, magnésio, potássio. T - capacidade de troca de cátions, ou SB + (H + Al); SB - soma das bases, ou Ca + Mg + K; V - índice de saturação por bases ou $V = 100 \cdot SB/T$; mmol (c) - milimol de carga.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

- O trabalho constatou que, os indivíduos de *Memora peregrina* submetidos à poda mecânica apresentaram uma taxa de crescimento maior do que os indivíduos não podados, em ambas as áreas estudadas, corroborando os resultados obtidos por outros autores, de que a poda mecânica ativa processos fisiológicos relacionados a um aumento da produção de tecidos nesta espécie.
- Os teores de proteínas solúveis e a atividade das peroxidases nos pHs 5,0, 7,0 e 8,6 foram maiores nas folhas nos indivíduos podados de *M. peregrina* do que nos indivíduos não podados, durante alguns períodos após a poda. Tais períodos de aumento de proteínas e de atividade peroxidásica foram diferentes para cada grupo de macromoléculas analisadas.
- É sugerido que as variações observadas na atividade das peroxidases de folhas de indivíduos podados de *M. peregrina* estão associados à indução de composto de defesa devido à poda mecânica (aumento das peroxidases básicas e neutras), bem como podem ser o resultado da participação das mesmas nos processos de crescimento (aumento das peroxidases ácidas).
- A atividade das enzimas β -1,3-glucanase e da fenilalanina-amônia-liase foi semelhante entre indivíduos de *M. peregrina* podados e não podados, indicando que a poda mecânica não é um fator indutor destes processos de defesa nesta espécie.
- Por fim, um melhor entendimento dos mecanismos de indução de proteínas de defesa por agentes abióticos, como a injúria mecânica, é um requisito importante para o conhecimento da biologia de *Memora peregrina*. As informações obtidas neste trabalho sugerem que *M. peregrina* é uma espécie resistente à injúria mecânica, uma vez que não houve, aparentemente, um recrutamento de grandes quantidades de proteínas e enzimas para disparo dos processos de defesa.
- É possível que outras classes de proteínas e compostos do metabolismo secundários possam ser ativados, mas não foram analisados nestes estudos. Uma continuidade deste trabalho, como a realização de outras análises, envolvendo a quantificação de inibidores de proteases, catalases (envolvidas nos processos de produção de radicais livres), peroxidação de lipídeos, entre outros, podem contribuir na elucidação dos tipos e intensidade das respostas de *M. peregrina* à poda mecânica. Informações desta natureza podem ser úteis na busca de estratégias de controle desta espécie invasora.