

Imageamento por espectrometria de massas do oomiceto de citros *Phytophthora parasitica*

Carolina C. Pagotto¹ (IC), Heros J. Maximo² (PG), Ronaldo J. D. Dalio² (PQ), Marcos N. Eberlin¹ (PQ), Francisca D. S. Araújo^{1*} (PQ)

¹Laboratório ThoMSon de Espectrometria de Massas, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas-SP, Brasil. ²Laboratório de Biotecnologia, Centro de Citricultura Sylvio Moreira/Instituto Agrônomo de Campinas, Cordeirópolis-SP, Brasil. *fdsaraujo@gmail.com

Palavras Chave: *Phytophthora parasitica*, oomiceto, MALDI-TOF MSI

Abstract

Mass Spectrometry Imaging of *Phytophthora parasitica* oomycete. In this study we have found 37 ions which integrate the metabolic profile of the plant pathogen *Phytophthora parasitica*.

preparados e analisados por FT-ICR, a fim de se obter as massas exatas e fragmentação, que auxiliarão na identificação de compostos já conhecidos. Compostos desconhecidos serão alvos de futuros estudos.

Introdução

Phytophthora parasitica é um típico patógeno de raiz capaz de infectar mais de 72 gêneros de plantas.^{1,2} Dentre as doenças causadas por *P. parasitica* estão a podridão radicular e a gomose-de-Phytophthora, que ocorrem em plantações no mundo todo e são responsáveis por perdas significativas no cultivo de diversas plantas importantes no âmbito da agricultura, assim como os citros.^{1,3,4} A maioria dos fungicidas com alvo de síntese de esterol e quitina são ineficazes contra oomicetos, assim, ainda tem sido considerada como a melhor estratégia para combate destas doenças, o cruzamento e seleção de espécies, com a finalidade de se obter cultivares mais resistentes.^{1,4} Por esse motivo, entender o funcionamento da patogenicidade dos oomicetos é fundamental para o desenvolvimento de medidas de controle das doenças.¹ Neste trabalho, foi realizada a caracterização da produção temporal e espacial de metabólitos secundários de *P. parasitica* por MALDI-TOF MSI (do inglês, *Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Imaging Mass Spectrometry*), uma vez que estas moléculas podem estar envolvidas na adaptação do micro-organismo ao ambiente, bem como serem responsáveis por atividades biológicas.^{5,6} Esta técnica fornece uma informação espacial que permite a visualização em mapa de calor das distribuições espaciais dos íons de interesse.⁷

Resultados e Discussão

P. parasitica foi cultivada no meio M1 nos tempos de crescimento de 12, 24 e 36 horas em uma lâmina de MALDI, a qual foi desidratada à vácuo e, posteriormente, submetida à análise em MALDI-TOF MSI no modo positivo. O procedimento foi realizado em duplicata, obtendo-se resultados reprodutíveis (Figura 1). Foram detectados 37 íons no total, cujas distribuições espaciais foram proporcionais ao aumento dos tempos de crescimento. Atualmente, estamos na etapa de identificação destas moléculas. Para tanto, extratos de *P. parasitica* foram

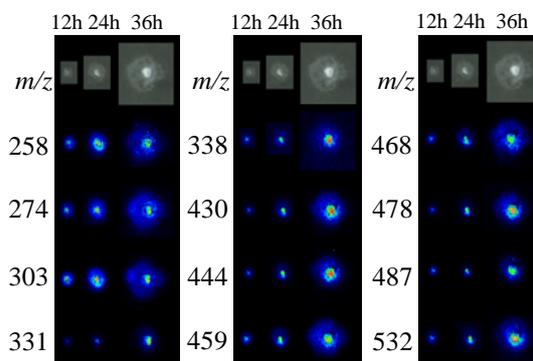


Figura 1. MALDI-TOF MSI de *P. parasitica* cultivada em meio M1, nos tempos de crescimento de 12, 24 e 36 horas.

Conclusões

Neste estudo, foram apresentados 37 íons detectados por MALDI-TOF MSI que fazem parte do perfil metabólico de *P. parasitica*. Estes dados poderão embasar futuros estudos sobre o metabolismo e a patogenicidade do oomiceto, fornecendo subsídios para o desenvolvimento de novos métodos de combate às doenças provocadas pelo mesmo.

Agradecimentos

FAPESP (Processo n° 2015/07659-3)

¹ Meng, Y.; Zhang, Q.; Ding, W.; Shan, W. *Mycology* **2014**, *5*, 43.

² Schuck, S.; Kallenbach, M.; Baldwin, I. T.; Bonaventure, G. *Plant Cell Environ.* **2014**, *37*, 1703.

³ Bouchibi, N.; Bruggen, A. H. C.; MacDonald, J. D. *Am. Phytopathol. Soc.* **1990**, *80*, 1323.

⁴ Boava, L. P.; Cristofani-Yaly, M.; Mafra, V. S.; Kubo, K.; Kishi, L. T.; Takita, M. A.; Ribeiro-Alves, M.; Machado, M. A. *BMC Genomics* **2011**, *12*, 39.

⁵ Hirai, M. Y.; Yano, M.; Goodenowe, D. B.; Kanaya, S.; Kimura, T.; Awazuhara, M.; Arita, M.; Fujiwara, T.; Saito, K. *PNAS* **2004**, *101*, 10205.

⁶ Bourgaud, F.; Gravot, A.; Milesi, S.; Gontier, E. *Plant Sci.* **2001**, *161*, 839.

⁷ Hoefler, B. C.; Straight, P. D. *Imaging Mass Spectrometry, Metabolism, and New Views of the Microbial World*. In: Havlicek, V.; Spizek, J. (Ed.). *Natural Products Analysis: Instrumentation, Methods, and Applications*. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc. **2014**, 349- 396.