Incaper
Instituto Capixaba de Pesquisa,
Assistência Técnica e Extensão Rural

IX Simpósio do Papaya Brasileiro

Produção Sustentável com Qualidade

Organizadores
David dos Santos Martins
José Aires Ventura
Danieltom Ozéias Vandermas Barbosa Vinagre

Linhares, ES
2024

© 2024 - Incaper
Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural
Rua Afonso Sarlo, 160, Bento Ferreira, Vitória-ES, Brasil
CEP 29052-010 Telefones: (27) 3636-9888 / 3636-9846
https://incaper.es.gov.br / https://editora.incaper.es.gov.br / coordenacaoeditorial@incaper.es.gov.br

ISBN: 978-85-89274-50-0
DOI: 10.54682/livro.9788589274500
Editor: Incaper
Formato: Digital
Novembro de 2024

Conselho Editorial
Antonio Elias Souza da Silva – Presidente
Agno Tadeu da Silva
Anderson Martins Pilon
André Guarçoni Martins
Fabiana Gomes Ruas
Felipe Lopes Neves
José Aires Ventura
José Altino Machado Filho
José Salazar Zanuncio Junior
Marianna Abdalla Prata Guimarães
Mauricio Lima Dan
Vanessa Alves Justino Borges

Aparecida L. do Nascimento – Coordenadora Editorial
Marcos Roberto da Costa – Coordenador Editorial Adjunto

Equipe de Produção
Capa**:** Raiz Comunica
Diagramação: Danieltom Ozéias Vandermas Barbosa Vinagre, David dos Santos Martins e Laudeci Maria Maia Bravin
Revisão textual: Sob responsabilidade dos autores
Coordenação de Diagramação: Laudeci Maria Maia Bravin
Coordenação de Revisão Textual: Marcos Roberto da Costa
Ficha Catalográfica: Eugenia Magna Broseguini Keys

Fotos e ilustrações: Crédito e elaboração pelos autores dos respectivos capítulos e trabalhos técnico-científicos.

Todos os direitos reservados nos termos da Lei 9.610/1998, que resguarda os direitos autorais. É proibida a reprodução total ou parcial por qualquer meio ou forma, sem a expressa autorização do Incaper e dos autores.

Incaper - Biblioteca Rui Tendinha
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S612a Simpósio do Papaya Brasileiro / (9. : 2024 : Vitória, ES).
Anais /9º Simpósio do Papaya Brasileiro, de 5 a 8 de novembro de 2024, em Linhares (ES). - Linhares (ES): Sesi, 2024.
588 p. ; il. color. ; 21,0 x 29,7 cm.

Tema: Produção Sustentável com Qualidade.

ISBN: 978-85-89274-50-0
DOI: 10.54682/livro.9788589274500

1. Mamão – Congressos. 2. Mamão – Cultivo – Brasil. 3. Mamão – Pesquisa, ensino e extensão – Espírito Santo. 4. Mamão - Exportação. 5. Mamão – Produção sustentável. 6. Mamão – Comercialização. 7. *Carica Papaya*. I. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper). II. Centro de Desenvolvimento do Agronegócio (Cedagro). III. Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Papaya (Brapex). IV. Martins, David dos Santos (Org.). V. Ventura, José Aires (Org.). VI. Vinagre, Danieltom Ozéias Vandermas Barbosa (Org.). VII. Título.

CDU 634.651

Ficha catalográfica elaborada por Eugenia Magna Broseguini Keys – CRB-6/MG nº 408-ES.

Como citar esta publicação:
MARTINS, D. S.; VENTURA, J. A; VINAGRE, D. O. V. B. (Org.) SIMPÓSIO DO PAPAYA BRASILEIRO: Produção sustentável com qualidade. 9, 2024. Vitória-ES: Incaper, Cedagro e Brapex, 2024, 588p. (ISBN: 978-85-89274-50-0; DOI: 10.54682/livro.9788589274500).

ANÁLISE METABOLÔMICA DO LÁTEX DE *Carica papaya* L. INFECTADO PELO COMPLEXO PAPAYA MELEIRA VÍRUS (PMeV)

João Henrique Leite Mendes[1], Nicole Rosa Alves Moreira[1], Gisele Amorim[1], Maíra Fasciotti[2], José Aires Ventura[3], Patrícia Machado Bueno Fernandes[4], Silas Pessini Rodrigues[1]

[1]Núcleo Multidisciplinar de Pesquisa em Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Duque de Caxias, RJ; E-mail: profjoaoleite.bio@gmail.com; [2] Laboratório de Análise Orgânica, Instituto de Metrologia (Inmetro). Duque de Caxias, RJ; [3]Instituo Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper). Vitória, ES; [4]Núcleo de Biotecnologia, Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Vitória, ES.

INTRODUÇÃO

O mamão (*Carica papaya* L.) é um dos principais frutos tropicais exportados mundialmente (FAO, 2022). No Brasil, sua produção é concentrada na Bahia e no Espírito Santo (IBGE, 2022), mas enfrenta desafios devido à meleira do mamoeiro, uma doença causada pelo complexo Papaya meleira virus (PMeV), que envolve os vírus PMeV (dsRNA de ~8 Kb) e PMeV2 (ssRNA de ~4,5 Kb) (Sá Antunes *et al*., 2020). Esses vírus foram purificados a partir do látex de plantas sintomáticas e são encontrados nos laticíferos.

O látex, um fluido leitoso rico em proteases, é produzido e armazenado em células chamadas laticíferos. Em plantas afetadas pela meleira, o látex exsuda espontaneamente e apresenta menor viscosidade em comparação com plantas saudáveis. No entanto, o mecanismo de movimentação dos vírus entre os tecidos ainda não é claro (Merchán-Gaitán, 2023), sugerindo que os laticíferos possam atuar como vias de transporte e transmissão de partículas virais. O látex possui uma complexa composição bioquímica, incluindo macromoléculas (proteínas e açúcares) e diversos metabólitos secundários, como fenóis, terpenos, cardenolídeos e alcaloides (Merchán-Gaitán, 2023). Entretanto, o metaboloma do látex de *C. papaya* e as variações na abundância de seus metabólitos em resposta ao estresse, especialmente durante a meleira, são desconhecidos.

Elucidar os componentes químicos do látex e suas rotas bioquímicas pode oferecer uma compreensão mais aprofundada dos eventos biológicos em plantas afetadas pela meleira, além de contribuir para o desenvolvimento de métodos de diagnóstico precoce e acessível. Assim, este estudo visa analisar o metaboloma qualitativo e quantitativo do látex de *C. papaya* com e sem sintomas de meleira, utilizando técnicas de ressonância magnética nuclear (RMN) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS). O objetivo é construir um banco de dados de metabólitos secundários de *C. papaya* e identificar biomarcadores ou rotas metabólicas que respondam à infecção pelo complexo Papaya meleira virus.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta: O látex foi coletado de frutos de *C. papaya* com e sem sintomas de meleira, em fazendas produtoras de mamão no norte do Espírito Santo. O látex exsudado foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido. No laboratório, as amostras foram liofilizadas e armazenadas em refrigerador até a análise.

RMN: Foram utilizados 30 mg de látex liofilizado, suspensos em 1 ml de tampão fosfato (90 mM, pH 6,0). As suspensões foram agitadas em vórtex por 1 minuto, seguidas por ultrassom por 15 minutos à temperatura ambiente (25 ºC). Em seguida, os tubos foram centrifugados a 17.000 g por 10 minutos. Foram transferidos 480 µl do sobrenadante para tubos de RMN de 5 mm (Bruker), contendo 60 µl de D_2O e 60 µl de DSS (referência). O espectrômetro de 500 MHz (Bruker Advanced), localizado no Centro Nacional de Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Rio de Janeiro (CNRMN / UFRJ), foi utilizado para adquirir espectros de ^1H e ^1H - ^{13}C. O processamento dos espectros foi realizado no software TopSpin (Bruker).

GC-MS: Para a extração de compostos orgânicos voláteis, 10 mg de látex foram suspensos em 1 ml de metanol (100%). As suspensões foram agitadas em vórtex por 1 minuto e submetidas a ultrassom por 5 minutos à temperatura ambiente (25 ºC). Posteriormente, as amostras foram centrifugadas a 12.000 g por 5 minutos antes da análise cromatográfica em GCMS-QP2010 Ultra (Shimadzu) do Instituto de Metrologia (Inmetro), equipado com uma coluna CP-WAX 52CB (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, Agilent). A corrida cromatográfica durou 70 minutos por amostra, com split 2:1 e volume de injeção de 2 µl.

Todos os experimentos de GC-MS e RMN foram realizados em triplicata (n = 3) para cada amostra de látex (saudável e doente).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os espectros de RMN oferecem uma análise detalhada dos núcleos de hidrogênio em moléculas orgânicas, refletindo a complexidade de suas ligações químicas e auxiliando na elucidação de componentes em misturas (Callaghan, 1991). Para traçar o perfil metabólico do látex de *C. papaya*, amostras saudáveis foram submetidas a um campo magnético de 500 MHz. Na Figura 1, o espectro 1D de ^1H do látex revela três regiões principais: compostos alifáticos predominantes entre 0,5 e 3,0 ppm; carboidratos distribuídos entre 3,0 e 5,8 ppm; e compostos aromáticos menos prevalentes entre 5,9 e 8,6 ppm. Essa distribuição é similar à observada por Maravi *et al.* (2022) em folhas de feijão infectadas com o vírus do mosaico amarelo. Gogna *et al.* (2015) também relataram espectros 1D de ^1H de RMN em sementes de mamoeiro, com poucos sinais na região aromática, sugerindo uma baixa presença de compostos fenólicos, similar ao observado no látex. Em contrapartida, a abundância de cadeias alifáticas e carboidratos pode indicar potenciais diferenças metabólicas entre mamoeiros saudáveis e afetados pela meleira.

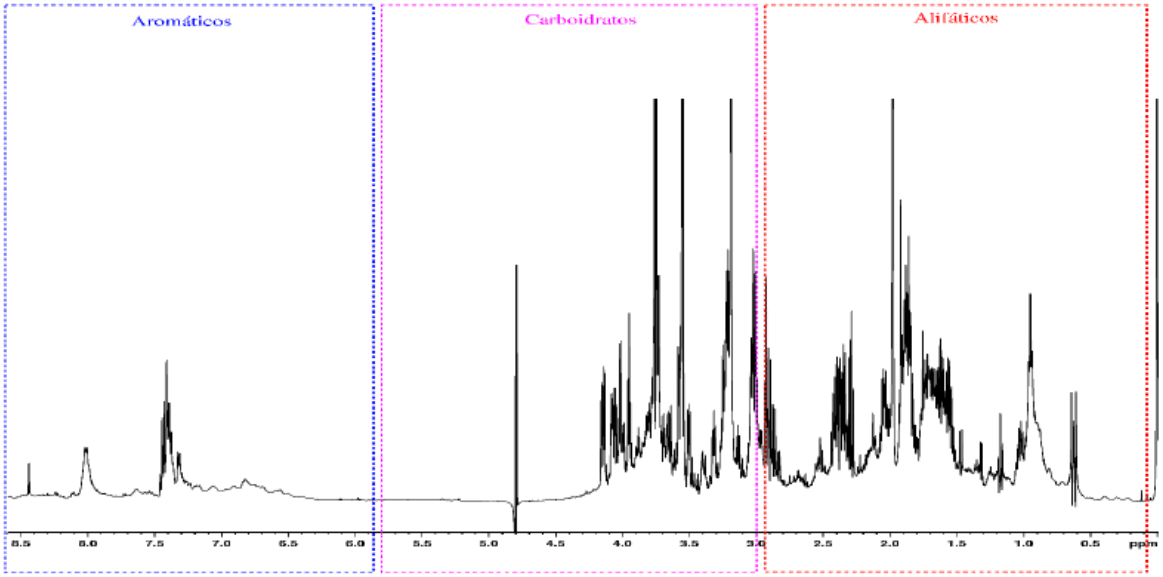

Figura 1 - Espectro de RMN 1D de ¹H do látex saudável de *Carica papaya*, demonstrando a distribuição e identificação de grupos orgânicos extraídos com solvente aquoso.

A comparação dos espectros 1D de ¹H de RMN entre plantas saudáveis e doentes (Figura 2) mostrou que, apesar das diferenças fisiopatológicas, os perfis de metabólitos extraídos são bastante semelhantes. Isso sugere que as diferenças entre as amostras podem ser muito pequenas. No entanto, as intensidades dos compostos parecem ser mais altas no látex de mamoeiros doentes em comparação com os saudáveis. Para entender melhor as rotas bioquímicas afetadas, é essencial identificar os compostos presentes. A identificação e análise detalhada dos compostos está em andamento.

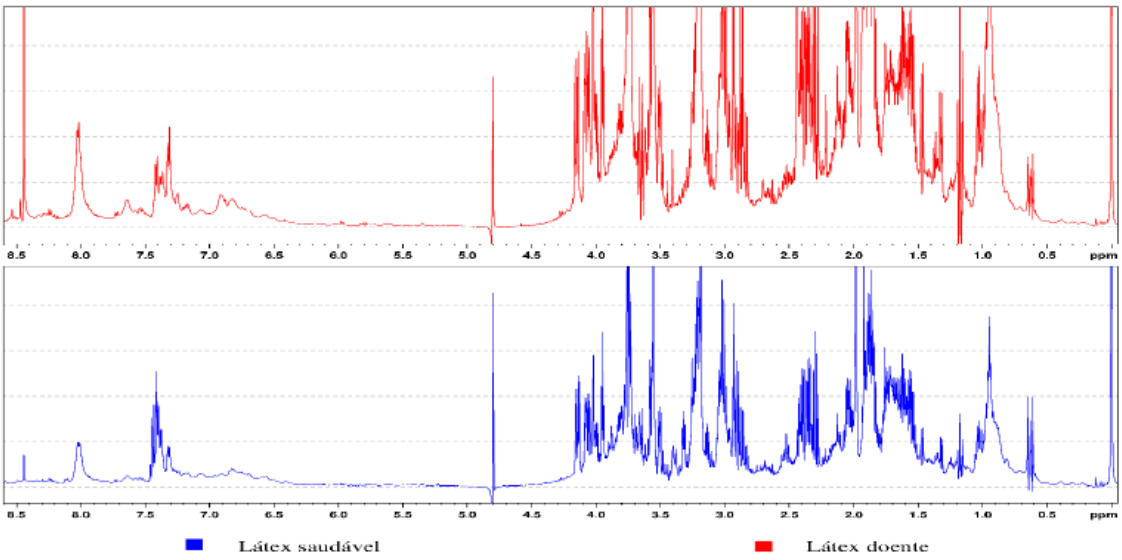

Figura 2 - Espectro de RMN 1D de ¹H mostrando um comparativo entre amostras saudáveis e doentes do látex de *Carica papaya*.

Uma análise 2D de RMN em busca de perfis oscilantes foi realizada. Espectros 2D de ^{13}C - ^{1}H mostram a correlação entre os hidrogênios (^{1}H) e os carbonos (^{13}C) ligados a eles, em abundância natural, nas cadeias orgânicas presentes na amostra analisada. A Figura 3 compara os espectros 2D de látex saudável e doente, mostrando pequenas diferenças nos sinais. Deslocamentos químicos de 29,22 ppm x 2,1 ppm e 34,40 ppm x 2,4 ppm foram encontrados nas amostras saudáveis e estão ausentes nas doentes, sugerindo pequenas diferenças no látex. No entanto, mais repetições e uma identificação precisa desses compostos são necessárias para confirmar essas diferenças.

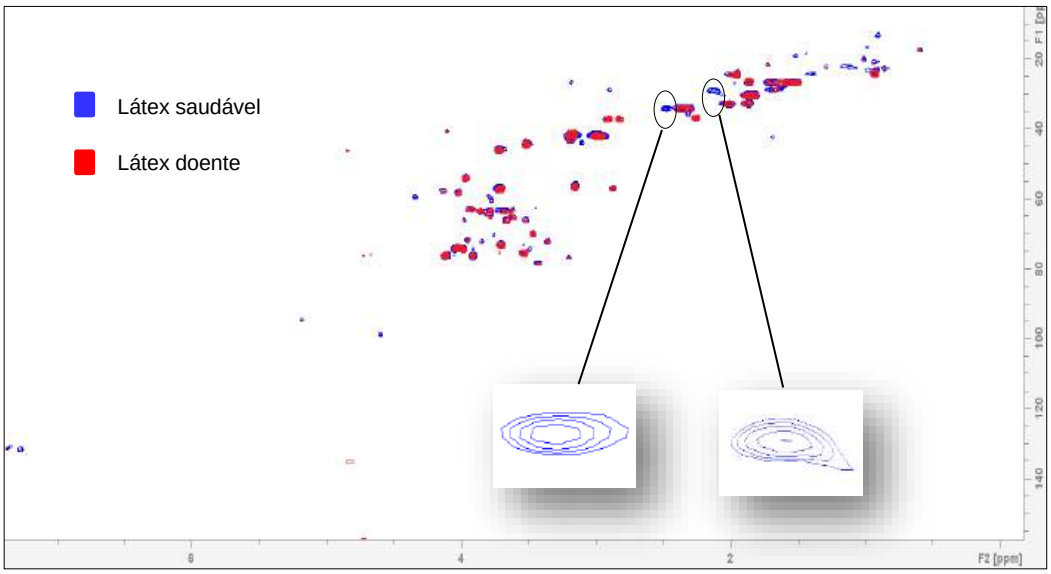

Figura 8 - Espectro de RMN 2D de ^{13}C - ^{1}H, mostrando alguns picos que diferem nas amostras de látex saudáveis e doentes de *Carica papaya*. O eixo F1 equivale ao deslocamento químico do carbono e o F2 corresponde ao deslocamento químico do hidrogênio.

A técnica de GC-MS foi empregada para se obter um perfil de metabólitos no látex de mamoeiro, visando a identificação de moléculas que podem não ter sido detectadas por RMN, ou para complementar as informações obtidas com a combinação das duas técnicas. Abarca *et at*. (2020) combinaram GC-MS e RMN e identificaram metabólitos da classe dos ácidos orgânicos que podem estar relacionados com a coagulação rápida do látex de diversas famílias de plantas. Neste sentido, a Figura 4 demonstra os cromatogramas de amostras de mamoeiros saudáveis (A) e doentes (B), sinais dos compostos químicos e seus tempos de retenção na coluna cromatográfica. Foram observados perfis cromatográficos bastante semelhantes entre as amostras, com exceção de um pico distinto (seta vermelha) observado no minuto 70 da corrida cromatográfica da amostra doente (B). A identificação dos sinais obtidos ainda está em andamento.

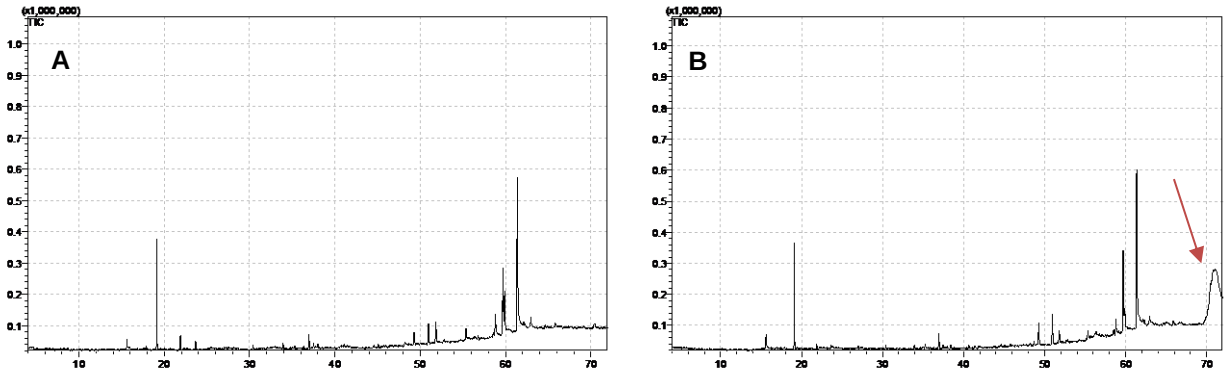

Figura 9 - Cromatograma de GC-MS obtidos para amostra de látex de *Carica papaya*. Amostras de látex de plantas sem (A) ou com (B) sintomas de meleira foram comparados.

CONCLUSÃO

De uma forma geral, a análise do látex de *Carica papaya* por RMN revelou a predominância de moléculas de cadeias alifáticas, seguidas por carboidratos. Já os compostos aromáticos apareceram com menor abundância. A comparação dos espectros 1D de RMN de mamoeiros sadios x doentes, revelou muita semelhança entre eles. A diferenças entre eles esteve relacionada a intensidade dos sinais, mostrando um acúmulo diferencial de compostos. Os espectros 2D de RMN mostraram algumas diferenças tanto na ocorrência, quanto na abundância entre as amostras. Através de GC-MS, alguns picos específicos para as amostras de látex sadio ou doente foram observados nos 70 minutos de separação cromatográfica. A identificação específica dos compostos detectados por RMN e GC-MS está em andamento.

AGRADECIMENTOS

Fundação de Amparo à pesquisa do Rio de Janeiro (FAPERJ) pela bolsa TCT 5 (E-26/201.986/2022 -275813) de JHLM e pelo Auxílio à Pesquisa (APQ 1) (SPR nº 210.334/2024).

REFERÊNCIAS

ABARCA, L. F. S.; KLINKHAMER, P. G. L.; CHOI, Y. H. Plant Latex, from ecological interests to bioactive chemical resources. **Planta Med**, v. 85, p. 856-868, 2019.

CALLAGHAN, P. T. **Principles of nuclear magnetic resonance microscopy**. Oxford: Oxford University Press, 1991.

GOGNA, N.; HAMID, N.; DORAI, K. Metabolomic profiling of the phytomedicinal constituents of *Carica papaya* L. leaves and seeds by ^{1}H NMR spectroscopy and multivariate statistical analysis. **Journal of**

Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 114, p. 106-116, 2015.

MARAVI, D. K.; KUMAR, S.; SAHOO, L. NMR-based metabolomic profiling of mungbean infected with Mungbean yellow mosaic India virus. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 194, p. 5808-5826, 2022.

MERCHÁN-GAITÁN, J. B.; MENDES, J. H. L.; NUNES, L. E. C.; BUSS, D. S.; RODRIGUES, S. P.; FERNANDES, P. M. B. The role of plant latex in virus biology. **Viruses**, v. 16, n. 1, p. 47, 2023.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção agropecuária de mamão**. Rio de Janeiro. 2022. Disponível em: https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/mamao/br. Acesso em: 30 ago. 2024.

FAO - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. **Principais frutas tropicais**: análise do mercado. Resultados preliminares. 2022. Disponível em: https://www.fao.org/publications/foa. Acesso em: 30 ago. 2024.

SÁ ANTUNES, T. F.; MAURASTONI, M.; MADROÑERO, L. J.; FUENTES, G.; SANTAMARIA, J. M.; VENTURA, J. A.; ABREU, E. F.; FERNANDES, A. A. R.; FERNANDES, P. M. B. Battle of three: the curious case of papaya sticky disease. **Plant Disease**, St. Paul, v. 104, n. 11, p. 2754-2763, 2020.