



# XI ENCONTRO BRASILEIRO DE ECOLOGIA QUÍMICA XI BRAZILIAN MEETING ON CHEMICAL ECOLOGY

October 23-26, 2019

Maceió, Brazil

## DIFERENCIAÇÃO DE MURCOTT TANGOR COM E SEM INFECÇÃO POR *Alternaria alternata* POR RMN E MALDI MSI.

Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva; M.M. Isidoro; J.B. Fernandes; M.R. Forim; A.G. Ferreira; N.P. Lopes.

Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos/ São Paulo.

**PALAVRAS-CHAVE:** CITRU; MURCOTT; *Alternaria*.

**RESUMO:** A mancha marrom de alternaria (ABS), causada pelo fungo *Alternaria alternata*, é uma das mais graves doenças fúngicas de tangerinas e seus híbridos. O Murcott tangor é um dos mais suscetíveis a este fungo. Neste estudo, relatamos uma investigação sobre como *A. alternata* AT4303 influencia o perfil químico das folhas, caules e raízes de Murcott tangor. A quimiometria aplicada aos dados de HPLC-DAD foi utilizada para avaliar as semelhanças e diferenças entre os perfis cromatográficos. Os resultados indicaram que as maiores discriminações ocorreram nas folhas com sintomas comparados às sem sintomas após a infecção da cepa AT4303. Os espectros de  $^1\text{H}$  RMN obtidos a partir de extratos de folhas, utilizando um protocolo específico, mostraram que as concentrações das moléculas extraídas eram o suficiente para serem identificadas. Um exame mais detalhado dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  das folhas sintomáticas e controle negativo sugeriram a presença de quatro flavonoides. Tangeretina, nobiletina, apigenina-7-O-rutinosídeo e narirutina foram identificadas por comparação com padrões isolados de Murcott tangor no presente trabalho. Os sinais proeminentes de  $^1\text{H}$  para a apigenina-7-O-rutinosídeo sugeriram que ela exibiu um aumento significativo nas folhas sintomáticas em comparação com as plantas controle. Folhas com sintomas de ABS foram analisadas por espectrometria de massas por imagem com dessorção a laser/ionização assistida por matriz (MALDI MSI) para confirmar a presença de apigenina-7-O-rutinosídeo no local da infecção. As imagens construídas a partir de dados de MS/MS com um fragmento de diagnóstico específico também mostraram intensidades iônicas mais altas em plantas infectadas do que em plantas saudáveis. Estes dados sugerem que a apigenina-7-O-rutinosídeo desempenha um papel na interação planta-patógeno, provavelmente como uma fitoanticipina. Esta foi testada *in vitro* contra a cepa AT4303, e os resultados indicaram a inibição da germinação de conídios e o desenvolvimento de apressórios.

## DIFFERENTIATION OF MURCOTT TANGOR WITH AND WITHOUT *Alternaria alternata* INFECTION BY NMR AND MALDI MSI.

**KEYWORDS:** CITRU; MURCOTT; *Alternaria*.

**ABSTRACT:** Alternaria Brown Spot (ABS), caused by the fungus *Alternaria alternata*, is one of the most serious fungal diseases in tangerine and its hybrid. Murcott tangor is one of the most susceptible to this fungus. In this study, we report an investigation on the *A. alternata* f.sp. *citri* tangerine AT4303 strain influences to chemical profile of the leaves, stems and roots from the Murcott tangor. Chemometrics applied to HPLC-DAD data was used to evaluate the similarities and differences between the chromatographic profiles. The results indicated that the greatest discriminations were in the leaves exhibiting symptoms compared to leaves without symptoms after AT4303 strain infection. The  $^1\text{H}$  NMR spectra obtained from leaves extracts, using a specific protocol, showed that the concentrations of the extracted molecules were high enough to be clearly identified. Closer examination of the  $^1\text{H}$  NMR spectra of symptomatic leaves and negative control (the plants that were not inoculated with AT4303 strain) suggested the chemical shifts for four flavonoids. Tangeretin (4',5,6,7,8-Pentamethoxyflavone), nobiletin (3',4',5,6,7,8-hexamethoxyflavone), apigenin-7-O-rutinoside (3',5,7-trihydroxy-7-O-rutinosylflavone) and narirutin (3',5,7-trihydroxy-7-O-rutinosylflavanone) were identified by comparison with authentic standards isolated from Murcott tangor in the present work. The prominent  $^1\text{H}$  signals for apigenin-7-O-rutinoside suggested that it exhibited a significant increase in symptomatic leaves in comparison to control plants. Tissue sections of leaves with ABS symptoms were analyzed by *matrix-assisted laser desorption/ionization* mass spectrometry imaging (MALDI MSI) to confirm the presence of apigenin-7-O-rutinoside at the site of infection. The images constructed from MS/MS data with a specific diagnostic fragment ion also showed higher ion intensities for it in infected plants than in healthy ones. These data suggest that apigenin-7-O-rutinoside plays a role in the plant-pathogen interaction, probably as a phytoanticipin. Apigenin-7-O-rutinoside was tested for *in vitro* activity against AT4303 strain, and the results indicated that this inhibited conidial germination and appressorium development.