

Mecanismos moleculares e fisiológicos envolvidos na resposta de folhas de arroz (*Oryza sativa* L.) à infestação do ácaro fitófago *Schizotetranychus oryzae*

Édina Aparecida dos Reis Blasi¹, Raul Antonio Sperotto^{1,2}

¹Centro de Ciências Biológicas e da Saúde e ²Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PPGBiotec) – Centro Universitário UNIVATES



UFRGS
PROFESQ

XXV SIC
Salão Iniciação Científica

CB - Ciências Biológicas

INTRODUÇÃO

O arroz é um dos cereais mais consumidos no mundo com produção mundial anual de aproximadamente 610 milhões de toneladas. O Brasil produz cerca de 13 milhões de toneladas/ano, sendo o nono maior produtor. O Rio Grande do Sul cultiva em torno de um milhão de hectares/ano de arroz irrigado (62% da produção nacional). Mas a infestação do ácaro fitófago, *Schizotetranychus oryzae*, é um dos principais fatores que limitam o rendimento de cultivares de arroz. Este projeto tem como objetivo geral a elucidação dos mecanismos moleculares e fisiológicos envolvidos na resposta de plantas de arroz infestadas pelo ácaro, através da análise de folhas Controle (*Control*), Pouco Infestadas (*Early Infestation* – EI) e Muito Infestadas (*Late Infestation* - LI), conforme a Figura 1.

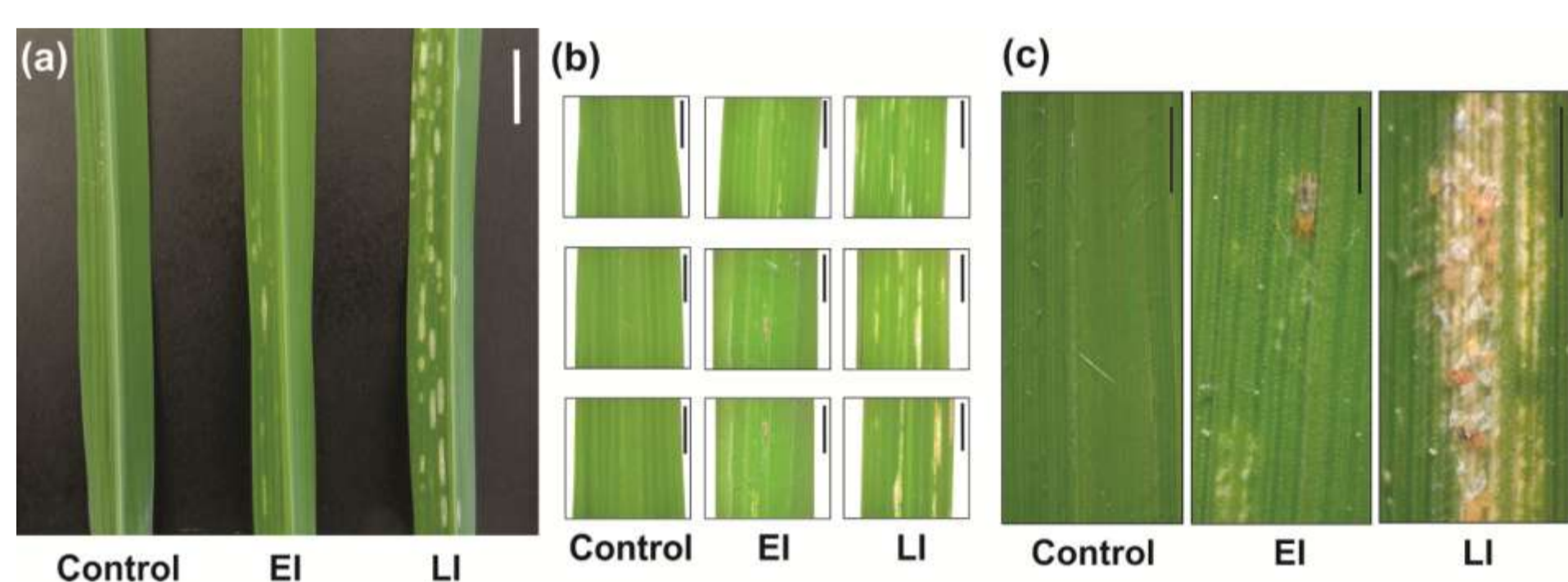


Figura 1: Características visuais das folhas analisadas.

RESULTADOS

Análises de fluorescência da clorofila

Folhas de arroz pouco infestadas apresentaram pequena redução em três parâmetros fotossintético: N, Sm e Pi ABS (Figura 2), envolvidos com absorção e utilização de energia pela cadeia transportadora de elétrons fotossintética. Entretanto, não foi verificada qualquer diferença estatística nestes três parâmetros ($p \leq 0,05$).

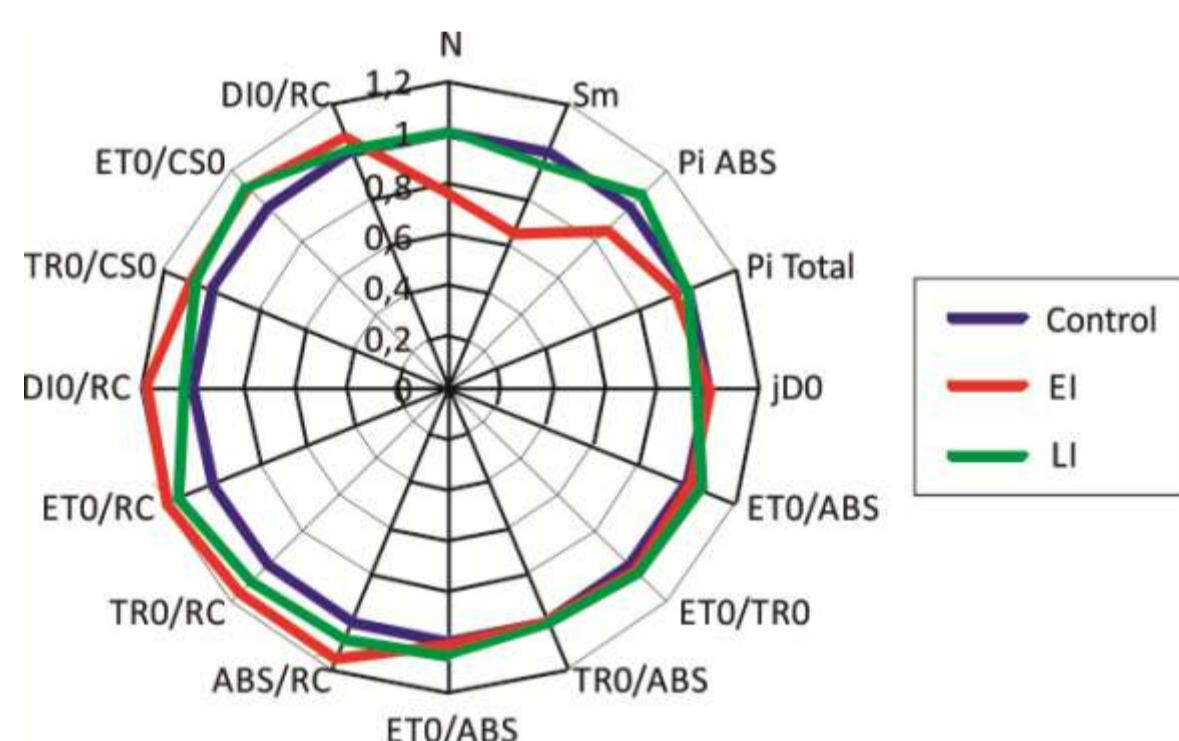


Figura 2: Análises de fluorescência da clorofila.

Quantificação de clorofila

Folhas de arroz muito infestadas apresentaram redução significativa nos níveis de clorofila (Figura 3), sugerindo que estas folhas apresentam um processo de senescência causado pela infestação do ácaro. A confirmação deste dado foi realizada através da análise da expressão do gene marcador de senescência *OsSGR* (Figura 4), por PCR em Tempo Real (qRT-PCR).

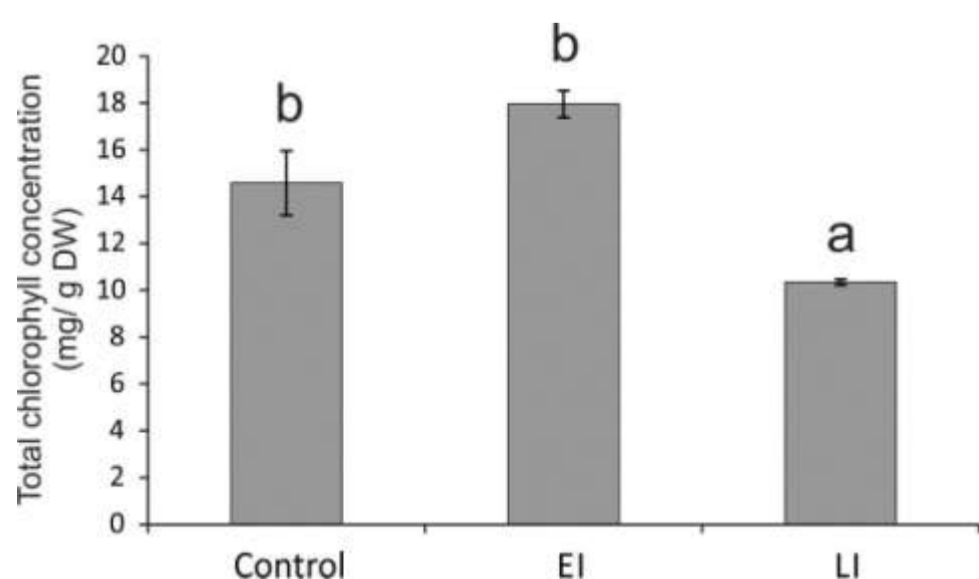


Figura 3: Níveis de clorofila total.

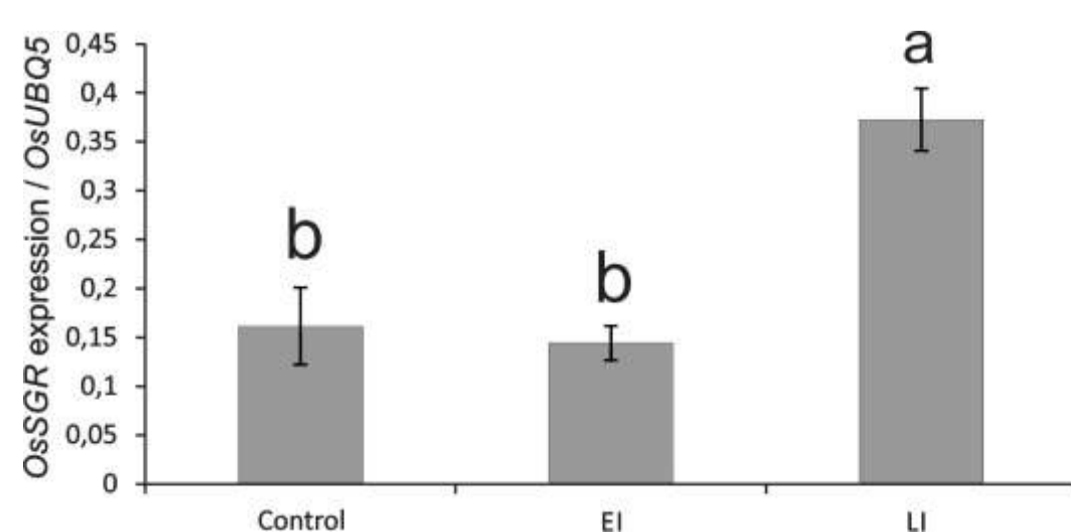


Figura 4: Expressão do gene *OsSGR*.

Localização histoquímica *in situ* de espécies reativas de oxigênio (O_2^- e H_2O_2)

O acúmulo de O_2^- e H_2O_2 foi detectado por marcação histoquímica utilizando os reagentes NBT (*nitroblue tetrazolium*) e DAB (*diaminobenzidine*). Foi verificado que as folhas infestadas apresentam maiores níveis de estresse oxidativo (Figura 5), apresentando maiores níveis detectáveis de O_2^- e H_2O_2 .

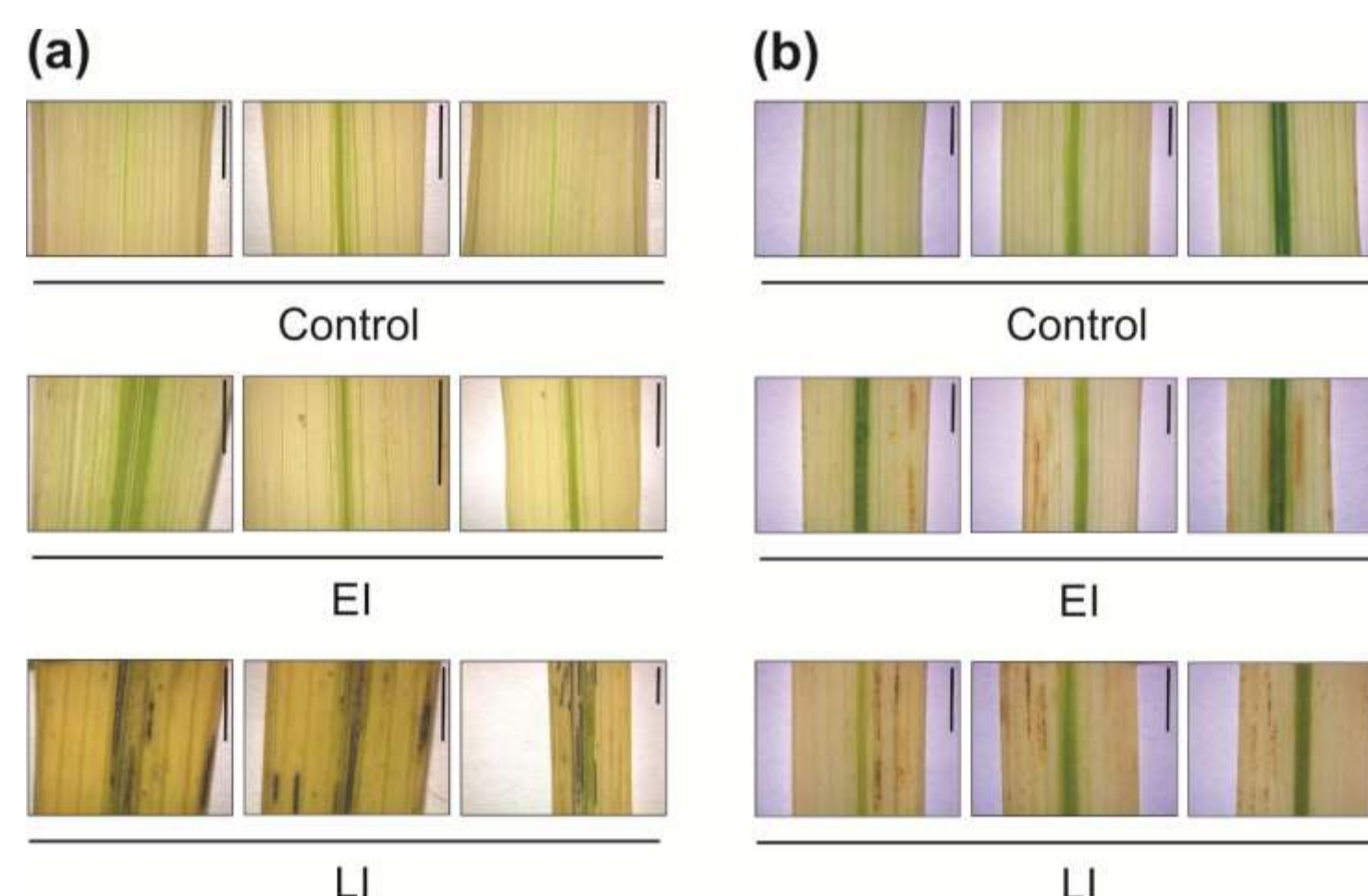


Figura 5: Localização *in situ* de O_2^- (a) e H_2O_2 (b).

Localização da perda de integridade da membrana plasmática

A perda de integridade da membrana plasmática (típico de morte celular) foi verificada por marcação histoquímica *in situ*, utilizando o reagente Evans Blue. Folhas infestadas pelo ácaro apresentam marcações azuis mais intensas (Figura 6), mostrando que apresentam maiores níveis de morte celular.

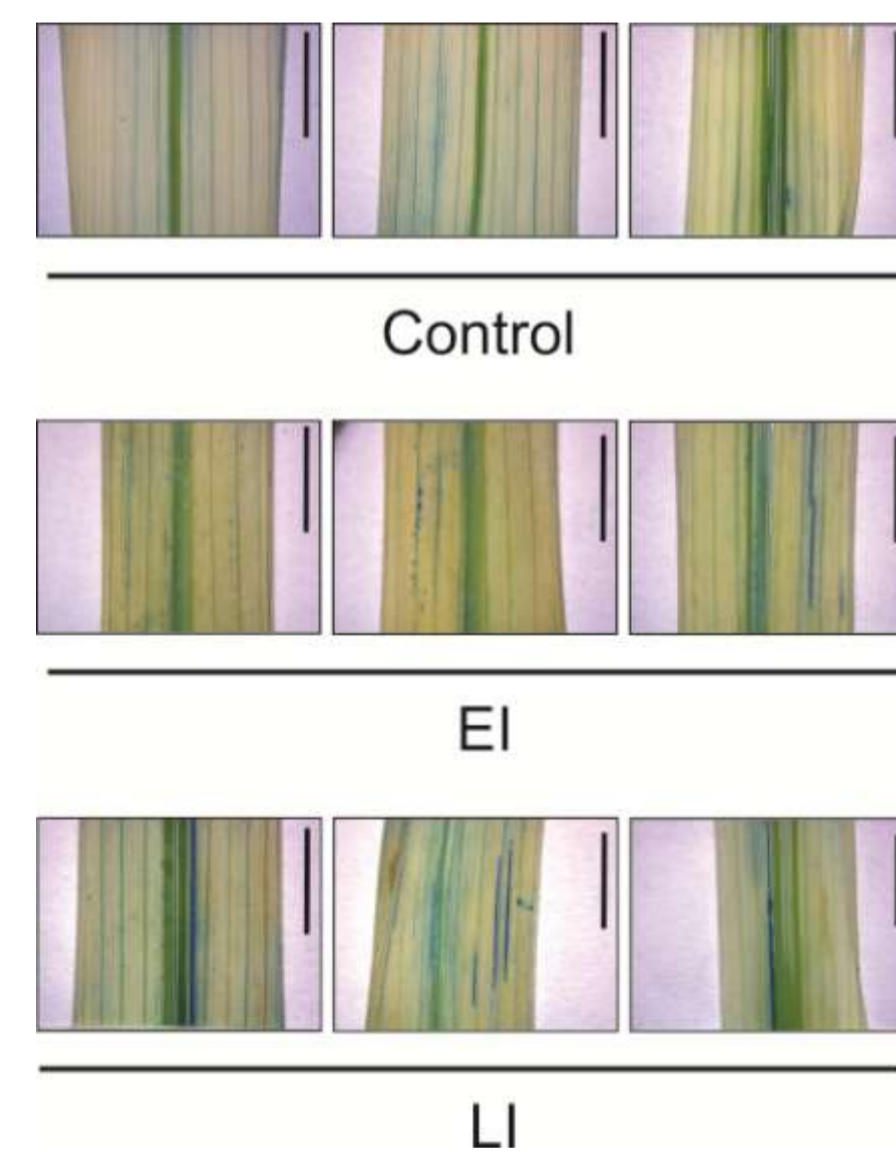


Figura 6: Localização *in situ* da perda de integridade da membrana plasmática.

Aumento nos níveis de degradação proteica

Folhas infestadas apresentaram maiores níveis de expressão no gene *OsFBX235*, relacionado com o processo de degradação proteica via ubiquitinação (Figura 7), sugerindo que a infestação dos ácaros promove maior degradação de proteínas do arroz.

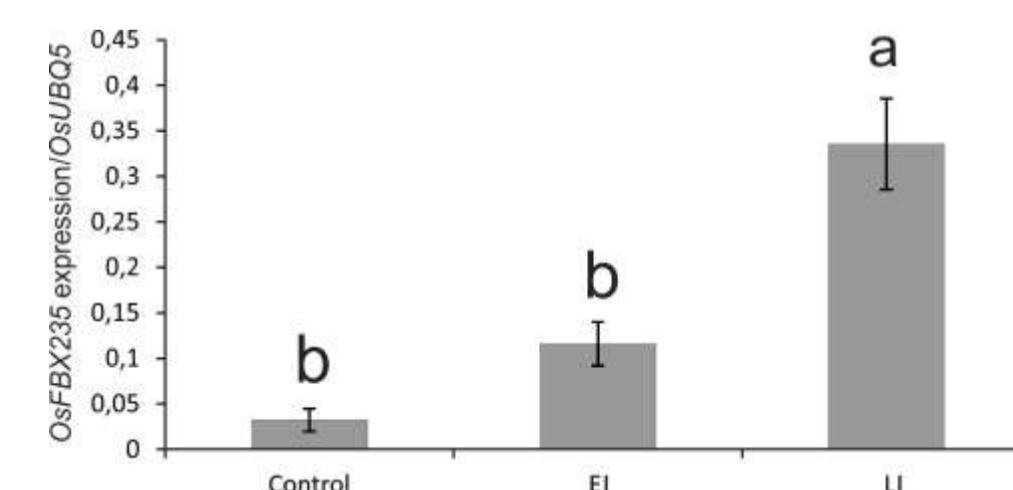


Figura 7: Expressão do gene *OsFBX235*.

Perspectivas

- análise da atividade de enzimas antioxidantes (APX, SOD, Catalase) – Colaboração Fisiologia Vegetal/UFRGS
- identificação de genes diferencialmente expressos em folhas de arroz infestadas - UNIVATES
- identificação dos níveis de proteínas ubiquitinadas, através da técnica de Western Blot – Colaboração Universidade de Durham - UK
- identificação de proteínas diferencialmente expressas em folhas de arroz infestadas, utilizando a técnica MudPIT (*multidimensional protein identification technology*) – Colaboração The Scripps Research Institute - EUA



MODALIDADE
DE BOLSA

Bolsista de Iniciação Científica do Centro
Universitário UNIVATES – Lajeado/RS