# EXPRESSÃO DOS GENES PR3 E PR5 EM LINHAGENS DE MILHO RESISTENTES À ANTRACNOSE DO COLMO

Felipe Emannuel Dolenkei Muraro (PROVIC), Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues Matiello (Orientador), e-mail: rrmatiel@uepg.br, Profa. Dra. Caroline de Jesus Coelho Donha (Coorientadora)
Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade

**Ciências Agrárias (5.00.00.00-4) / Agronomia (5.01.00.00-9)**
Palavras-Chave: *Expressão gênica, Colletotrichum graminicola, PR3, PR5*

## Resumo

Os objetivos do trabalho foram quantificar a expressão diferencial de genes de resistência à antracnose do colmo em linhagens endogâmicas de milho e verificar o período após a inoculação onde ocorre a expressão máxima destes genes. No estádio vegetativo (V6) as linhagens L04-2 (resistente) e L99-4 (suscetível) foram inoculadas com 1mL da suspensão de conídios de *C. graminicola*. Nos períodos de 0, 6, 12, 24, 48, 96, 168 e 336 horas após a inoculação, foram coletados tecidos do colmo para a extração do RNA total. Após a síntese dos cDNAs, a expressão diferencial foi validada pela reação qRT-PCR. Os resultados demonstram maior expressão dos genes *PR3* e *PR5* para a linhagem resistente se comparada à suscetível. Entretanto, devido a baixa quantidade de transcritos sugere-se maiores investigações com o propósito de identificar outros genes envolvidos no processo de resistência à antracnose do colmo.

## Introdução

A antracnose do colmo causada por *Colletotrichum graminicola* (Ces) Wils, promove danos diretos à planta de milho pela colonização dos tecidos vasculares, levando ao acamamento, à redução do enchimento de grãos e até a morte prematura das plântulas (DENTI; REIS, 2001). Por ser um fungo hemibiotrófico, é esperado que grupos específicos de genes de resistência sejam expressos na planta em função do estádio de desenvolvimento em que o patógeno se encontra (VARGAS et al., 2012).

As proteínas PRs (Pathogenesis Related Proteins) podem estar envolvidas na adaptação de plantas ao estresse biótico, sendo a expressão dos genes que as codificam regulado pela presença do patógeno, não sendo restrita ao local de infecção e podendo ser expresso sistematicamente associado ao desenvolvimento da resistência sistêmica adquirida (RSA). A herança da resistência comporta-se independentemente na planta pela infecção do patógeno na folha e no colmo, sugerindo que genes diferentes e mecanismos de resistência estejam envolvidos para as duas fases da infecção pelo patógeno.

## Material e Métodos

As linhagens L04-2 e L99-4 (resistente e suscetível à antracnose do colmo) pertencentes ao programa de melhoramento de milho da UEPG, foram cultivadas em câmara de crescimento. No estádio V6 as plantas foram inoculadas com 1 mL da suspensão de conídios ($5 \times 10^5$) do patógeno. Nos períodos de 0, 6, 12, 24, 48, 96, 168 e 336 horas após a inoculação, amostras de tecido do colmo foram coletadas para extração do RNA total utilizando o kit RNAspin Mini RNA Isolation Kit.

A síntese de cDNAs, foi realizada com 1,5 µg de RNA para a transcrição reversa, utilizando o kit First-Strand cDNA Synthesis Kit. A expressão diferencial dos genes *PR3* e *PR5* foi validada pela reação qRT-PCR no equipamento Agilent AriaMx Real-Time PCR. Os níveis de expressão diferencial de cada gene foram calculados pelo método ddCT.

## Resultados e Discussão

Para os genes *PR3* e *PR5*, a linhagem resistente L04-2 apresentou maior expressão quando comparada à suscetível (L99-4) em todos os períodos avaliados (Figura 1). De modo geral, os níveis de expressão foram relativamente baixos. Segundo Balmer et al. (2013) infecções locais podem induzir respostas transcricionais sistêmicas. Após realizar a inoculação com o patógeno em raízes de milho, os autores puderam verificar elevada expressão dos genes *PR3* e *PR5* nas folhas, confirmando a resposta sistêmica na planta. Neste sentido, uma vez que a inoculação com o patógeno ocorreu nos colmos, pode-se inferir que a maior expressão destes genes especificamente pode estar acontecendo nas folhas. Avaliações fenotípicas demonstraram elevada resistência da linhagem L04-2 à inoculação com *C. graminicola*, o que pode sugerir que outros genes podem estar sendo expressos no colmo, ativando mecanismos de defesa da planta e restringindo a ação do patógeno.

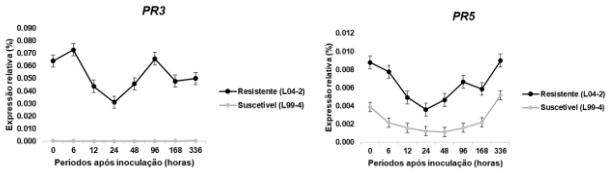



**Figura 1.** Expressão relativa dos genes *PR3* e *PR5* nas linhagens L99-4 e L04-2, em função dos períodos após a inoculação com C. graminicola no colmo. Ponta Grossa, 2021.

## Conclusão

A expressão dos genes *PR3* e *PR5* foi superior na linhagem L04-2 (resistente) em relação à L99-4 (suscetível). Entretanto, maiores investigações deverão ser realizadas para confirmar a ação de outros genes na expressão da resistência à antracnose do colmo em milho.

## Agradecimentos

Agradeço ao CNPq pela concessão da bolsa de IC, a Universidade Estadual de Ponta Grossa e a equipe do Laboratório de Genética e Melhoramento de Plantas.

---

BALMER, D.; PAPAJEWSKI, D.V.; PLANCHAMP, C.; GLAUSER, G.; MAUCH-MANI, B. Induced resistance in maize is based on organ-specific defense response. **The Plant Journal**, v. 74, p. 213-225. 2013.

DENTI, E. A.; REIS, E.M. Levantamento de fungos associados às podridões do colmo e quantificação de danos em lavouras de milho do Planalto Médio gaúcho e dos Campos Gerais do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 6, p. 585-590, 2003.

VARGAS, W. A. et al. Plant defense mechanisms are activated during biotrophic and necrotrophic development of Colletotricum graminicola in maize. Plant Physiology, v. 158, n. 3, p. 1342, 2012.