



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS BACHARELADO

Geraldo Fernandes de Arruda

ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO GENE *OsREM* EM PALMA-FORRAGEIRA  
SOB INFESTAÇÃO DE COCHONILHA-DE-ESCAMAS

Recife

2025

Geraldo Fernandes de Arruda

**ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO GENE *OsREM* EM PALMA-FORRAGEIRA  
SOB INFESTAÇÃO DE COCHONILHA-DE-ESCAMAS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de  
Ciências Biológicas Bacharelado  
da Universidade Federal de  
Pernambuco, como requisito  
parcial para obtenção do título de  
Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Tercilio Calsa Junior

Coorientador: M.Sc. Larissa Nascimento da Silva

Recife,

2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Fernandes de Arruda, Geraldo.

Análise da expressão do gene OsREM em Palma-forrageira sob infestação de  
Cochonilha-de-escamas / Geraldo Fernandes de Arruda. - Recife, 2025.  
58 p.

Orientador(a): Tercilio Calsa Júnior

Coorientador(a): Larissa Nascimento da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de  
Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2025.

Inclui referências.

1. Genética. 2. Biologia molecular. 3. Fisiologia vegetal. 4. Transcriptômica.  
5. Estresses bióticos. 6. Biotecnologia. I. Calsa Júnior, Tercilio. (Orientação). II.  
Nascimento da Silva, Larissa . (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

Geraldo Fernandes de Arruda

**ANÁLISE DA EXPRESSÃO DO GENE *OsREM* EM PALMA-FORRAGEIRA  
SOB INFESTAÇÃO DE COCHONILHA-DE-ESCAMAS**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Ciências  
Biológicas Bacharelado da  
Universidade Federal de Pernambuco,  
como requisito parcial para obtenção do  
título de bacharel em Ciências  
Biológicas.

Aprovado em: 02/12/2025

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Tercilio Calsa Junior

(Orientador)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Dr. José Mogahid Fechine

(Examinador Interno)

Universidade Federal de Pernambuco

---

Dr. Amaro de Castro Lira Neto

(Examinador Externo)

Instituto Agronômico de Pernambuco

Dedico este trabalho ao meu avô paterno, Geraldo Pereira de Arruda, biólogo, entomólogo, professor da Universidade Federal Rural de Pernambuco e pesquisador, que me inspirou a seguir o caminho da Biologia e que tanto contribuiu para essa área com seu vasto conhecimento, amor pela ciência e dedicação exemplar.

Em memória do meu avô materno, Antônio de Pádua Maranhão Fernandes, agrônomo, produtor rural, professor da Universidade Federal Rural de Pernambuco e pesquisador, atuando em Zootecnia, fez da forragicultura sua paixão pelo ensino e pela pesquisa.

À minha família e a todos aqueles que eu amo.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela minha vida e por tudo. Sem Ele nada disso seria possível, e eu não teria forças para seguir nessa jornada.

Aos meus pais, Geraldo e Carolina, e à minha família por todo amor, incentivo e apoio incondicional, que sempre me sustentaram em cada etapa deste caminho.

Aos meus irmãos, Antônio de Pádua e Fernando Antônio, pelo companheirismo, amizade e presença constante em minha vida.

Agradeço também à minha namorada pela compreensão, apoio e carinho.

Aos meus primos e amigos que estiveram comigo em momentos de alegria e descontração.

Registro minha sincera gratidão ao meu orientador, Prof. Dr. Tercilio Calsa Júnior, pela orientação atenciosa, ensinamentos, paciência e confiança depositada em meu trabalho.

Agradeço aos meus “coorientadores” M.Sc. Larissa Nascimento da Silva e Dr. Lucas Carvalho de Freitas, pelo acompanhamento dedicado, pelos ensinamentos e apoio fundamental ao longo de todo o processo. Agradeço também aos demais companheiros do Laboratório de Genômica e Proteômica de Plantas, do Departamento de Genética, especialmente Maria Eduarda, Cássio, Gabriel, Jamily, Beatriz e todos os que passaram por lá nesse tempo em que estive presente, que contribuíram de alguma forma para o desenvolvimento deste trabalho e tornaram essa experiência mais rica e significativa.

Expresso meu agradecimento à Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e a Pró-reitoria de Pesquisa e Inovação (Propesqi) pela oportunidade de participar do PIBIC Voluntário.

Por fim, agradeço também ao IPA pela disponibilidade dos materiais para que esse trabalho pudesse ser realizado e ao CNPq pelo apoio financeiro.

“Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível,  
e de repente você fará o impossível.” - São Francisco de Assis

## RESUMO

O semiárido brasileiro apresenta longos períodos de estiagem e altas temperaturas, fatores que comprometem a disponibilidade de forragens para alimentação do gado. Nesse contexto, a palma-forrageira (*Opuntia* spp.) se tornou um recurso estratégico nesses ambientes por apresentar elevado teor de água e baixo custo de cultivo. Além disso, é uma espécie altamente adaptada às condições edafoclimáticas de regiões áridas e semiáridas, devido ao metabolismo fotossintético do tipo CAM e as modificações morfoanatômicas que contribuem para sua resistência ao déficit hídrico. Entretanto, sua produtividade é severamente afetada pela cochonilha-de-escamas (*Diaspis echinocacti* Bouché), inseto-praga que provoca *bleaching*, apodrecimento e queda dos cladódios. Diante disso, torna-se relevante a investigação de genes envolvidos na resposta da palma forrageira a cochonilha-de-escamas, com o intuito de identificar biomarcadores funcionais ligados à tolerância/resistência contra essa praga. O presente estudo avaliou a expressão do gene *OsREM*, codificante da proteína Remorina, envolvida em sinalização celular, transporte intercelular e resposta a estresses bióticos e abióticos. Para isso, foram coletados cladódios de palma forrageira com e sem infestação por cochonilha-de-escamas, a partir dos quais o RNA total foi extraído, convertido em cDNA. A extração de RNA foi bem-sucedida, com pureza adequada. Os iniciadores amplificaram dois produtos na RT-PCR: o esperado (186 pb), mais abundante em plantas infestadas, e outro (~500 pb), predominante em não infestadas, sugerindo possíveis isoformas ou variações transpcionais. A RT-qPCR apresentou um único pico de *melting*, indicando um produto principal, embora o gel mostrasse dois. O sequenciamento das bandas é recomendado para confirmação. Os resultados indicam que *OsREM* pode estar envolvido na resposta da palma-forrageira ao ataque da cochonilha.

**Palavras-chave:** Palma-forrageira; Cochonilha-de-escamas; Remorina; expressão gênica

## ABSTRACT

The Brazilian semiarid region is characterized by prolonged drought and high temperatures, which severely limit forage availability for livestock. In this context, prickly pear (*Opuntia* spp.) has become a strategic resource due to its high-water content, low production cost, and strong adaptation to arid environments. However, its productivity is significantly compromised by the armored scale *Diaspis echinocacti*, which causes bleaching, rot, and cladode loss. Understanding genes involved in the plant's response to this pest is essential for identifying functional biomarkers associated with tolerance or resistance. This study evaluated the expression of the *OsREM* gene, which encodes the Remorin protein, known to participate in cellular signaling, intercellular transport, and responses to biotic and abiotic stresses. Cladodes from infested and non-infested plants were collected, and total RNA was extracted and converted into cDNA. RNA extraction was successful and showed adequate purity. RT-PCR revealed two amplified products: the expected 186 bp fragment, more abundant in infested plants, and a ~500 bp fragment, predominant in non-infested plants, suggesting possible isoforms or transcriptional variants. RT-qPCR showed a single melting peak, indicating a predominant product, although gel electrophoresis revealed two bands. Sequencing these fragments is recommended for confirmation. Overall, the results suggest that *OsREM* may play a role in the response of prickly pear to armored scale infestation.

**Keywords:** Prickly pear; Armored scale; Remorin; Gene expression.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Variedades de palma-forrageira. A: Orelha-de-onça; B: Miúda; C: Orelha de Elefante Mexicana; D: Redonda. Fonte: Autoria própria (2025) ..... 23
- Figura 2.** À esquerda: ciclo de vida da cochonilha, mostrando os estágios de ovo, ninfas (1°, 2° e 3° estágios) e adultos (macho e fêmea); à direita: Morfologia da fêmea adulta da cochonilha-de-escamas, destacando regiões corporais (prosoma, metassoma e abdome) e detalhes marginais com lóbulos e glândulas espinhosas Fonte: Arruda Filho (2002) ..... 27
- Figura 3.** À esquerda infestação de *Diaspis echinocacti* em palma forrageira com presença de um de seus predadores, *Zagreus bimaculosus*. Fonte: adaptado de Arruda, (2002) e à direita cladódio de *Opuntia* sob infestação (imagem mais ampla) Fonte: Senar/SE (2020) ..... 29
- Figura 4.** As remorinas possuem um domínio C-terminal conservado que permite sua ancoragem à membrana e um N-terminal variável com potencial regulatório. Na membrana plasmática, elas se localizam em nano-domínios onde podem interagir com RLKs e podem influenciar a ativação de RBOH, gerando Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) como parte da sinalização de defesa. Também podem se associar a proteínas R e participar da integração de vias hormonais (SA, JA e ABA), além de modular o controle dos plasmodesmos durante a resposta imune. Fonte: Yuqing Yu (2020) ..... 32
- Figura 5.** A figura evidencia a posição dos *motiffs* 1 (vermelho) e 2 (azul) nas estruturas dímeras previstas pelo AF2 para a região C-terminal das proteínas REM. Também apresenta o alinhamento da região central do domínio de *coiled-coil* em torno do eixo de simetria do dímero, a quantificação dos contatos intermoleculares formados por cada homólogo REM e, por fim, destaca nas estruturas de AtREM1.2 e AtREM6.1 os resíduos que exibem o maior número de contatos. Fonte: Xu et al (2024) ..... 34
- Figura 6.** Cladódios de Orelha de elefante mexicana (*Opuntia stricta*) coletados. A: Cladódio não infestado; B: Cladódio infestado por cochonilha-de-escamas (*Diaspis echinocacti*). Fonte: Autoria própria (2025) ..... 37
- Figura 7.** Integridade do RNA total extraído da variedade Orelha de elefante mexicana (*Opuntia stricta*) verificada em gel de agarose. Amostras de palma infestadas por cochonilha-de-escamas (I01 e I02); Amostras de palma não infestadas (NI01 e NI02) ..... 41
- Figura 8.** Amplificação do gene alvo *OsREM* (Remorina) e gene de referência *Tub* (Tubulina) em gel de agarose 1,5%. M: marcador de peso molecular 100 pb; 1: Controle negativo (CN); 2: RI (*OsREM* infestada); 3: RNI (*OsREM* não infestada); 4: Controle negativo (CN); 5 TI (tubulina infestada); 6: TNI (tubulina não infestada). As setas indicam o tamanho das bandas amplificadas para *OsREM* ..... 42

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 9.</b> Primeiro teste de otimização com diferentes temperaturas de anelamento durante a amplificação do gene OsREM. M: marcador molecular; CN: controle negativo; 1: 58 °C; 2: 59 °C; 3: 60 °C..... | 44 |
| <b>Figura 10.</b> Segundo teste de otimização com diferentes temperaturas de anelamento durante a amplificação do gene OsREM. M: marcador molecular; 1 e 4: Controle Negativo; 2: 62 °C; 4: 63°C.....         | 44 |
| <b>Figura 11.</b> Curva de melting do gene OsREM. Amostras em vermelho: cDNA <i>O. stricta</i> ; Amostras em verde: DNA genômico de <i>O. stricta</i> .....   | 45 |

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1.</b> Quantificação de RNA total extraído de cladódios de palma forrageira infestados (amostras I 01 e I 02) e não infestados por cochonilha-de-escamas (amostras NI 01 e NI 02). .... | 40 |
| <b>Tabela 2.</b> Sequência dos iniciadores desenhados para o gene OsREM. ....   | 41 |

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

**CAM** – Metabolismo Ácido das Crassuláceas

**cDNA** – DNA complementar

**CO<sub>2</sub>** – Dióxido de carbono

**DNA** – Ácido desoxirribonucleico

**FTs** – Fatores de transcrição

**IPA** – Instituto Agronômico de Pernambuco

**JA** – Ácido Jasmônico

**MIP** – Manejo integrado de pragas

**REM** – Remorinas

**RNA** – Ácido ribonucleico

**ROS** – Espécies Reativas de Oxigênio

**RT-PCR** – Reação em Cadeia da Polimerase com Transcrição Reversa

**RT-qPCR** – Reação Quantitativa em Cadeia da Polimerase com Transcrição Reversa

**SA** – Ácido Salicílico

**SDTFs** – Florestas Tropicais Sazonalmente Secas

**NILs** – Linhagens quase isogênicas

**QDR** – Resistência quantitativa a doenças

**PVX** – Vírus X da batata

**pb** – Pares de base

**TSA** - *Transcriptome Shotgun Assembly*

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>  | 14 |
| <b>2 OBJETIVOS .....</b>   | 17 |
| <b>2.1 Geral: .....</b>  | 17 |
| <b>2.2 Específicos:.....</b>                                       | 17 |
| <b>3 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>                               | 18 |
| <b>3.1 Semiárido e forragicultura .....</b>                        | 18 |
| <b>3.2 Palma forrageira.....</b>                                   | 19 |
| <b>3.2.1 Aspectos gerais.....</b>                                  | 19 |
| <b>3.2.2 Principais variedades .....</b>                           | 21 |
| <b>3.2.3 Adaptações morfofisiológicas ao clima semiárido .....</b> | 24 |
| <b>3.3 Aspectos fitossanitários da palma .....</b>                 | 24 |
| <b>3.3.1. Principais doenças e pragas .....</b>                    | 24 |
| <b>3.4. Resposta à herbivoria .....</b>                            | 29 |
| <b>3.4.1. Alterações morfofisiológicas .....</b>                   | 29 |
| <b>3.4.2 Respostas moleculares .....</b>                           | 31 |
| <b>3.4.2 Biomarcadores em resposta ao estresse biótico.....</b>    | 34 |
| <b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>                                  | 37 |
| <b>4.1 Material vegetal .....</b>                                  | 37 |
| <b>4.2 Desenho de iniciadores.....</b>                             | 37 |
| <b>4.3 Extração de RNA total .....</b>                             | 38 |
| <b>4.4 RT-PCR .....</b>  | 38 |
| <b>4.5 RT-qPCR .....</b>   | 39 |
| <b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                              | 40 |
| <b>5.1 Extração de RNA total .....</b>                             | 40 |
| <b>5.2 Desenho dos iniciadores .....</b>                           | 41 |
| <b>5.3 RT-PCR .....</b>  | 42 |
| <b>5.5 RT-qPCR .....</b>   | 44 |
| <b>6 CONCLUSÕES .....</b>  | 47 |
| <b>7 REFERÊNCIAS.....</b>  | 48 |

## 1 INTRODUÇÃO

A região semiárida brasileira caracteriza-se por longos períodos de estiagem associados a temperaturas elevadas, condições que comprometem, entre outros aspectos, a disponibilidade de recursos hídricos e alimentares destinada à pecuária. A escassez hídrica, somada aos impactos causados pelas mudanças climáticas, intensifica esse cenário, impondo desafios significativos às atividades agropecuárias da região (Silva *et al.*, 2020). A fim de mitigar esses efeitos, destaca-se a importância do uso de espécies de plantas forrageiras adaptadas às condições edafoclimáticas dessa região, entre as quais a palma-forrageira (*Opuntia spp.*) se sobressai por sua tolerância à seca e relevância na alimentação animal.

As principais estruturas biológicas da palma-forrageira são os cladódios, caules modificados, que além de possuírem função fotossintética, exercem um papel na adaptação às condições adversas típicas do clima de semiárido. Nessas estruturas ocorrem os processos fotossintéticos característicos do metabolismo ácido das crassuláceas (CAM), o qual, aliado a atributos anatômicos e fisiológicos, como a densidade estomática reduzida, a presença de cutícula cerosa e a maior espessura da epiderme, asseguram alta eficiência no uso e armazenamento de água. Além disso, os cladódios acumulam biomassa e teor de água próximo a 90%, o que os torna relevantes tanto como fonte alimentar quanto como recurso para hidratação dos animais.

A palma também possui um fruto arredondado, carnoso e de coloração vermelha, denominado figo-da-Índia (Alves *et al.*, 2019). Esses frutos se destacam pelo elevado teor de água e pelos nutrientes que contêm, como açúcares, fibras, vitamina C e carotenoides. Em diversas regiões do mundo, incluindo Estados Unidos, México, Itália e China, o figo-da-Índia é amplamente consumido e apreciado como alimento de valor nutricional reconhecido (Santos Nunes, 2011).

Apesar de sua importância socioeconômica e agroecológica, muitos cultivos de palma-forrageira vêm sendo afetados pela infestação de cochonilha-de-escamas (*Diaspis echinocacti* Bouché), considerada uma das principais pragas da cultura. Esses insetos se instalaram na superfície dos cladódios,

alimenta-se da seiva e provocando sintomas como clorose e amolecimento dos tecidos, tornando-os mais suscetíveis ao ataque de microrganismos e outras pragas. As fêmeas adultas dessa espécie são sésseis e se fixam sobre os cladódios da planta hospedeira, onde formam uma cobertura cerosa protetora. Essa característica, aliada à sua elevada capacidade reprodutiva, favorece a sobrevivência e a ampla disseminação dessa praga (Barros; Arruda Filho; Arruda, 2001; Barbosa *et al.*, 2007).

Para minimizar os danos provocados pela cochonilha-de-escamas, são empregadas práticas de manejo integrado de pragas (MIP), como pulverizações com óleos vegetais e/ou minerais e o uso de controle biológico com joaninhas das espécies *Zagreus bimaculosus* e *Coccidophilus citrícola*, predadoras naturais das ninfas (Chagas, 2018). No entanto, a resistência vegetal não se restringe a barreiras físicas ou a práticas externas de manejo. As plantas dispõem de mecanismos internos de defesa em diferentes níveis, que vão desde barreiras estruturais até respostas moleculares. Esses mecanismos incluem a ativação de rotas hormonais e a expressão de genes associados à resistência, explicando a variação entre genótipos no nível de tolerância ao ataque da praga. A sinalização nas plantas também depende de estratégias moleculares que são mediadas por proteínas localizadas na membrana celular (Taiz *et al.*, 2017).

A sinalização nas plantas também é regida por mecanismos moleculares, os quais são mediados por proteínas que se encontram na membrana celular, que funcionam como elementos essenciais na coordenação das respostas defensivas. Nesse contexto, destacam-se as remorinas (REM), proteínas exclusivas de plantas, localizadas na membrana plasmática e envolvidas em diversos processos de sinalização relacionados à resposta a estresses. Sua estrutura molecular, associada ao controle por fosforilação e à capacidade de formar complexos em nano domínios da membrana, possibilita o desempenho de funções cruciais na resposta a estresses bióticos e abióticos, relatados em várias espécies vegetais (Raffaele *et al.*, 2007; Jarsch & Ott, 2011; Legrand *et al.*, 2023). As remorinas também podem atuar no controle dos plasmodesmos, regulando sua abertura e permeabilidade; por exemplo, em *Nicotiana benthamiana*, proteínas como NbREM1.5 e NbREM1.1 foram descritas como

capazes de modular o movimento célula a célula de vírus ao afetarem diretamente a função plasmodesmal (Fu *et al.*, 2018; Ma *et al.*, 2022).

Além da relevância das remorinas já descritas na literatura em resposta a estresses bióticos, uma análise proteômica prévia (Carmo, 2019), conduzida em palma-forrageira sob o ataque de cochonilha-de-escamas, identificou essa proteína como diferencialmente acumulada nessa condição. Tal achado sugere que as remorinas podem constituir potenciais biomarcadores funcionais de tolerância/resistência da palma-forrageira a essa praga. Assim, optou-se por aprofundar sua investigação no presente estudo, considerando que essas proteínas podem ajudar a esclarecer os mecanismos envolvidos na resistência da palma forrageira à cochonilha-de-escamas. Portanto, acredita-se que o gene *OsREM* (codificador da proteína remorina) seja responsável ao ataque da cochonilha-de-escamas, indicando uma possível participação em vias de defesa ativadas durante a infestação. A análise da expressão desse gene busca ampliar a compreensão dos mecanismos moleculares relacionados à resistência da palma-forrageira e contribuir para estratégias de melhoramento voltadas ao desenvolvimento de genótipos mais tolerantes à cochonilha-de-escamas.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral:

Avaliar a expressão de gene *OsREM* em palma-forrageira (*Opuntia stricta* Haw.) em resposta ao ataque da cochonilha-de-escamas (*Diaspis echinocacti* Bouché.).

### 2.2 Específicos:

- Extrair RNA total de qualidade de cladódios de palma-forrageira com e sem infestação por cochonilha-de-escamas;
- Desenhar iniciadores específicos para amplificação do gene *OsREM*;
- Avaliar a expressão diferencial do gene *OsREM* por meio de RT-qPCR.
- Associar os níveis de expressão observados e o grau de infestação da planta pela praga.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Semiárido e forragicultura

A região semiárida brasileira é reconhecida como a mais povoada do mundo, destacando-se, entretanto, por apresentar o maior volume de precipitações pluviométricas entre as regiões de clima semiárido do planeta (Brito; Mora; Silva, 2007). Apesar disso, o semiárido brasileiro é marcado por períodos prolongados de estiagem e altas temperaturas, condições que elevam a evaporação da água nas bacias hidrográficas e reduzem a disponibilidade hídrica (Santos *et al.*, 2010).

Dentro desse cenário, insere-se o bioma Caatinga, exclusivo do Brasil e ocupando cerca de 85000000 ha. Estima-se que sua origem ocorreu entre 10 e 2,5 milhões de anos, proveniente dos processos de aridificação, exposição de solos ricos em nutrientes e da imigração de comunidades vegetais do cerrado e de remanescentes isolados de Florestas Tropicais Sazonalmente Secas (SDTFs) da Mata Atlântica (Fernandes *et al.*, 2022). A delimitação oficial do semiárido brasileiro, estabelecida em 2005 e atualizada em 2017 e 2021, incorporou parâmetros climáticos e ambientais mais precisos, como índices de aridez e risco de seca, permitindo um mapeamento mais preciso e dinâmico das áreas afetadas (Silva *et al.*, 2025). As projeções climáticas indicam que, ao longo do século XXI, o semiárido brasileiro poderá sofrer com intensificação da aridez, expansão das zonas áridas e maior frequência de eventos extremos, como secas prolongadas e chuvas torrenciais concentradas em curtos períodos de tempo. Tais mudanças comprometem a biodiversidade, favorecem maior risco de erosão e desertificação e impactam diretamente a produção agropecuária (Cunha; Braga, 2022).

Nesse contexto, a forragicultura assume papel estratégico para a sustentabilidade da pecuária na região. De modo geral, plantas que são consumidas por herbívoros podem ser definidas como forrageiras (Pereira *et al.*, 2001). Entretanto, apenas algumas espécies apresentam características agronômicas que as tornam amplamente cultiváveis, como alta produtividade e a tolerância a diversos estresses bióticos e abióticos. Entre os exemplos mais

notáveis, destacam-se as espécies de clima temperado, como a alfafa (*Medicago sativa*) e os trevos (*Trifolium spp.*), e as de clima tropical, especialmente gramíneas originárias da África, como *Panicum*, *Brachiaria* e *Pennisetum*, amplamente utilizadas em pastagens e silagens. Além de culturas como o milho e o sorgo por exemplo. Essas culturas são normalmente conservadas em volume através da silagem, porém, as condições adversas do semiárido acabam por limitar a produtividade de silo para forragem (Alves *et al.*, 2015), a escassez de água e forragem reduz o peso dos animais, diminui a produção de leite e pode levar à mortalidade do rebanho, gerando prejuízos aos produtores e impactos socioeconômicos (Farias *et al.*, 2000)

Diante disso, uma alternativa utilizada é o plantio de espécies da família Cactaceae, em especial a palma forrageira (*Opuntia spp.*), que surgem como alternativas altamente eficientes às condições dessa região. Naturalmente adaptadas à escassez hídrica, essas plantas apresentam metabolismo ácido das crassuláceas (CAM), elevado teor de água nos cladódios e alta eficiência no uso hídrico, características que asseguram sua sobrevivência e produtividade em climas áridos. A introdução da palma-forrageira ocorreu inicialmente com intuito de viabilizar a criação da cochonilha-do-carmim (*Dactylopius coccus*), inseto utilizado para produção do corante natural avermelhado chamado de corante carmim, de alto valor comercial na época. Contudo, com o avanço da indústria do petróleo e de seus derivados, foram criados diversos pigmentos sintéticos, o que reduziu o interesse da produção do corante carmim para tingimento de tecidos em larga escala (Frota *et al.*, 2015).

### **3.2 Palma forrageira**

#### **3.2.1 Aspectos gerais**

A palma forrageira (*Opuntia spp.*), pertencente à família Cactaceae, ordem Caryophyllales, é uma espécie amplamente cultivada nas regiões áridas e semiáridas do Brasil e de outros países. *Opuntia* Mill. é o gênero da família Cactaceae mais comum e amplamente distribuído no mundo. A origem

etimológica do seu nome remete à antiga região de Lócris Opúntia, na Grécia, onde eram comuns plantas espinhosas. O termo *Opuntia* foi utilizado pela primeira vez por Joseph Pitton de Tournefort, por volta de 1700, ao descrever cerca de 11 espécies. No entanto, a validação oficial do nome ocorreu apenas em 1754, quando Philip Miller o publicou na obra *Species Plantarum*, de Lineu (Anderson, 2001).

Originária do México, a palma forrageira constitui a base da culinária de povos tradicionais da região por séculos. Posteriormente, foi introduzida na Europa pelos espanhóis no século XVI e, desde então, vem sendo difundida globalmente, sendo utilizada tanto para alimentação humana quanto animal (Inglese, 2010). No México, o cultivo de palma ocupa cerca de 70 mil hectares destinados à produção de frutos (predominantemente nas regiões de Durango, Zacatecas e Saltillo) e mais de um milhão voltados para a forragicultura (Padrón Pereira, 2012; Kiesling, 2013). Essa ampla distribuição reflete sua elevada estabilidade produtiva e notável capacidade de adaptação, características que a tornam uma excelente alternativa para o semiárido (Albuquerque *et al.*, 2005).

No Brasil, a palma forrageira é cultivada predominantemente na Região Nordeste, onde às condições climáticas e a escassez hídrica justificam sua importância como base alimentar dos animais. A área de cultivo estimada é de mais de 600 mil hectares segundo o Ministério da Agricultura e Pecuária (2022). Mesmo durante os períodos de estiagem mais prolongada, a cultura consegue suprir a necessidade alimentar das criações de gado, garantindo a continuidade da produção pecuária (Silva; Santos, 2006).

O fator-chave que faz com que essa espécie seja bem adaptada ao clima semiárido se deve ao fato de seu metabolismo CAM (Metabolismo Ácido das Crassuláceas), o que possibilita maior eficiência no uso da água. Contudo, fatores como as baixas altitudes e as elevadas temperaturas noturnas podem comprometer a produtividade dos plantios em determinadas regiões (Santos *et al.*, 2006). Apesar de apresentar menor produção de matéria seca em comparação com outras plantas com potencial aplicação na forragicultura no semiárido (Oliveira *et al.*, 2010), a palma destaca-se por sua estabilidade produtiva e alta eficiência hídrica.

De acordo com Frota *et al.* (2015), observa-se que a palma forrageira, independentemente do gênero avaliado, caracteriza-se por apresentar baixo teor de matéria seca (variando aproximadamente de 6% a 17%), além de reduzidos níveis de proteína bruta (cerca de 3% a 6%) e fibra, tanto em detergente neutro (aprox. 20% a 33%) quanto em detergente ácido (cerca de 10% a 23%). Em contraste, a espécie destaca-se pelos elevados conteúdos de carboidratos totais (entre 74% e 85%) e carboidratos não fibrosos (aprox. 42% a 65%), além de apresentar proporções expressivas de matéria mineral (cerca de 8% a 18%). Além do baixo teor proteico, o uso exclusivo da palma forrageira na alimentação animal pode ocasionar distúrbios fisiológicos no processo de ruminação, devido ao desequilíbrio nutricional provocado pelo excesso de carboidratos solúveis e pela baixa fibra efetiva. Entre os principais problemas relatados estão diarreia, timpanismo gasoso, acidose ruminante e redução do teor de gordura no leite, comprometendo a saúde e o desempenho produtivo dos animais. (Aguiar *et al.*, 2015). Dessa forma, recomenda-se o uso da palma em associação com outras espécies forrageiras de maior teor proteico, como Moringa (*Moringa oleifera*), Gliricídia (*Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud.) e Eufórbia (*Manihot sp.*). Além disso, a cultura é frequentemente utilizada em consórcio com outras culturas, como Sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), feijão-de-corda (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), algaroba (*Prosopis juliflora* (Sw.) D.C.), umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arruda Câmara), algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.), gergelim (*Sesamum indicum* L.), pornunça (*Manihot sp.*), cunhã (*Clitoria ternatea* L.), capim-buffel (*Cenchrus ciliaris* L.), sabiá (*Mimosa caesalpiniæfolia* Benth.), feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e milho (*Zea mays* L.) (Voltolini *et al.*, 2016).

### **3.2.2 Principais variedades**

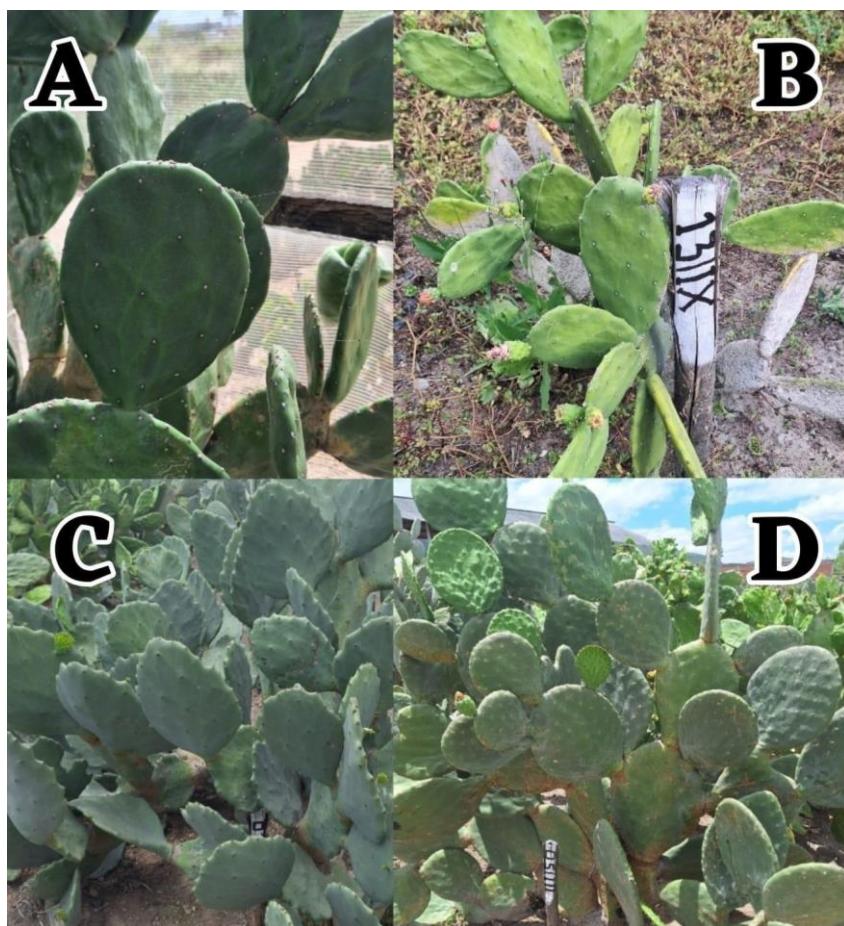
No semiárido brasileiro, diversas variedades de palma forrageira são cultivadas, apresentando diferenças morfofisiológicas e níveis distintos de resistência à seca e a pragas (Figura 1). As Palma redonda (*Opuntia ficus-indica*) e Orelha de onça (*Opuntia cochenillifera*) apresentam semelhanças com a variedade Gigante, diferenciando-se principalmente pelo formato das raquetes e pelo crescimento mais inclinado da planta. Já a Palma miúda, doce, língua de

vaca ou Palmepa-PB4 (*Opuntia cochenillifera*) destaca-se pelo crescimento vertical, maior percentual de matéria seca, elevada concentração de carboidratos e resistência à cochonilha-do-carmim, embora apresente menor tolerância à seca. (Santos *et al.*, 1999; Farias *et al.*, 2005; Silva; Santos, 2006).

O extinto gênero *Nopalea*, tradicionalmente separado de *Opuntia* por características morfológicas como flores tubulares adaptadas à polinização por beija-flores e ausência de estames sensíveis (movimento tigmonástico), deixou de ser reconhecido como gênero independente após estudos filogenéticos baseados em dados moleculares demonstraram que suas espécies estão fortemente alinhadas dentro de *Opuntia*. Pesquisas conduzidas por Wallace e Dickie (2002), Griffith e Porter (2009) e Majure *et al.* (2012) confirmaram que *Nopalea* forma um clado interno em *Opuntia* sensu stricto, levando à junção de suas espécies. Dessa forma, *Nopalea cochenillifera* passou a ser tratada como *Opuntia cochenillifera* (L.) Mill., assim como outras espécies do antigo gênero *Nopalea*, como *Nopalea dejacta*, *Nopalea guatemalensis*, *Nopalea escuintlensis*, *Nopalea lutea* e *Nopalea auberi*, que agora correspondem, respectivamente, a *Opuntia dejacta*, *Opuntia velizii*, *Opuntia escuintlensis*, *Opuntia lutea* e *Opuntia auberi* (Griffith & Porter, 2009; Majure *et al.*, 2012; Vázquez-Sánchez *et al.*, 2013).

A variedade IPA Sertânia, também denominada mão de moça, palma baiana ou Palmepa-PB1 (*Opuntia cochenillifera*), por sua vez, também é produtiva e rica em carboidratos, possuindo resistência à cochonilha, porém com menor tolerância à seca em comparação à palma gigante (Vasconcelos *et al.*, 2009). A Palma Orelha de Elefante Mexicana (*Opuntia stricta* Haw.) é amplamente utilizada devido à sua resistência à cochonilha-do-carmim, apresentando caule pouco ramificado, com grandes raquetes que podem pesar até 1 kg e atingir 50 cm de comprimento crescimento horizontal e raquetes largas, o que exige maior espaçamento no cultivo (Farias *et al.*, 2005; Silva; Santos, 2006). Por fim, a palma gigante ou grande (*Opuntia ficus-indica* Mill.) é reconhecida pela alta produtividade e boa resistência à seca, contudo é suscetível ao ataque da cochonilha-do-carmim, além de ser menos palatável, motivo pelo qual seu cultivo não é recomendado em determinadas regiões. (Vasconcelos *et al.*, 2009; Silva; Santos, 2006)

Além disso da variedade, as estratégias de propagação também influenciam na condução do palmal. Essa cultura pode ser propagada tanto de forma sexuada quanto assexuada (propagação vegetativa), sendo preferível o segundo método, por ser mais simples e rápido. Contudo, essa prática resulta em populações geneticamente homogêneas, o que, por sua vez, facilita a disseminação de diversas pragas e doenças. Diante dessa limitação, o melhoramento genético da palma forrageira surge como alternativa estratégica, com o objetivo de desenvolver genótipos mais produtivos e resistentes a estresses abióticos e bióticos como a cochonilha-de-escama, a principal praga que ataca os palmais. Essa praga pode ser manejada por controle genético, e cultivares tolerantes tendem a ser facilmente adotadas pelos produtores, por aliarem menor custo de produção à ausência de contaminação ambiental (Rocha, 2012).



**Figura 1.** Variedades de palma-forrageira. A: Orelha-de-onça; B: Miúda; C: Orelha de Elefante Mexicana; D: Redonda. Fonte: Autoria própria (2025).

### **3.2.3 Adaptações morfofisiológicas ao clima semiárido**

De uma maneira geral, as plantas possuem diversos tipos de adaptações morfofisiológicas que as favorecem em condições de clima semiárido, dentre as principais, podem ser citadas a redução da razão superfície/volume, presença de cutícula espessa, proteção dos estômatos, parênquima paliçádico bastante desenvolvido, células espessadas da epiderme, idioblastos com compostos fenólicos e presença de cristais (Burrows, 2001; Fahmy, 1997; Fahn; Cutler, 1992; Rotondi *et al.*, 2003). Os tricomas desempenham um papel importante ao limitar o aquecimento das folhas e a transpiração. Além disso, a presença de lipídios nas paredes das células basais desses tricomas atua como uma barreira que restringe o movimento da água pelo apoplasto (Barros; Soares, 2013).

As plantas do tipo CAM (sigla em inglês para Crassulacean Acid Metabolism ou, em português, MAC – Metabolismo Ácido das Crassuláceas) apresentam um mecanismo fotossintético especializado, característico de espécies suculentas de ambientes áridos ou sujeitos a secas periódicas. Nesse tipo de metabolismo, o CO<sub>2</sub> atmosférico é inicialmente fixado pela enzima fosfoenolpiruvato carboxilase (PEPcase), formando ácido oxalacético, que posteriormente é convertido em ácido málico e armazenado nos vacúolos durante a noite, período em que os estômatos permanecem abertos. (Taiz *et al.*, 2017).

Durante o dia, com os estômatos fechados para reduzir a perda de água, ocorre a descarboxilação do ácido málico, liberando CO<sub>2</sub>, que é então assimilado pela enzima Ribulose 1,5 bifosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO) no Ciclo de Calvin-Benson. Esse arranjo metabólico permite que as plantas CAM minimizem a transpiração diurna e aumentem a eficiência no uso da água, garantindo sua sobrevivência em ambientes com severas restrições hídricas (Taiz *et al.*, 2017).

## **3.3 Aspectos fitossanitários da palma**

### **3.3.1. Principais doenças e pragas**

A fusariose, causada pelo fungo *Fusarium solani*, desenvolve-se principalmente em solos ácidos, pouco permeáveis e com alta umidade causando podridão na base dos cladódios, que adquirem consistência mole e coloração esverdeada. Os cladódios primários e secundários murcham e tombam poucos dias após a infecção, e os tecidos afetados tornam-se aquosos, escurecendo até expor as estruturas internas lenhosas. Além disso, as raízes também apodrecem, apresentando coloração marrom-avermelhada (Santos *et al.*, 2006).

Outro exemplo bastante conhecido é a gomose, causada pelo fungo *Dothiorella ribis* (Fuck.) Sacc. Essa doença manifesta-se nos cladódios por meio de manchas circulares em formato de cancros, cujas superfícies tornam-se rachadas devido à esporulação do fungo. O nome “gomose” deriva do fato de que, nas lesões mais recentes, ocorre uma liberação abundante de goma (exsudato polissacarídico produzido em resposta a estresses bióticos ou abióticos), enquanto as camadas mais externas adquirem coloração marrom-acinzentada e textura coriácea. Em casos mais severos, a infecção pode evoluir para podridão dos tecidos e morte da planta (Santos *et al.*, 2006).

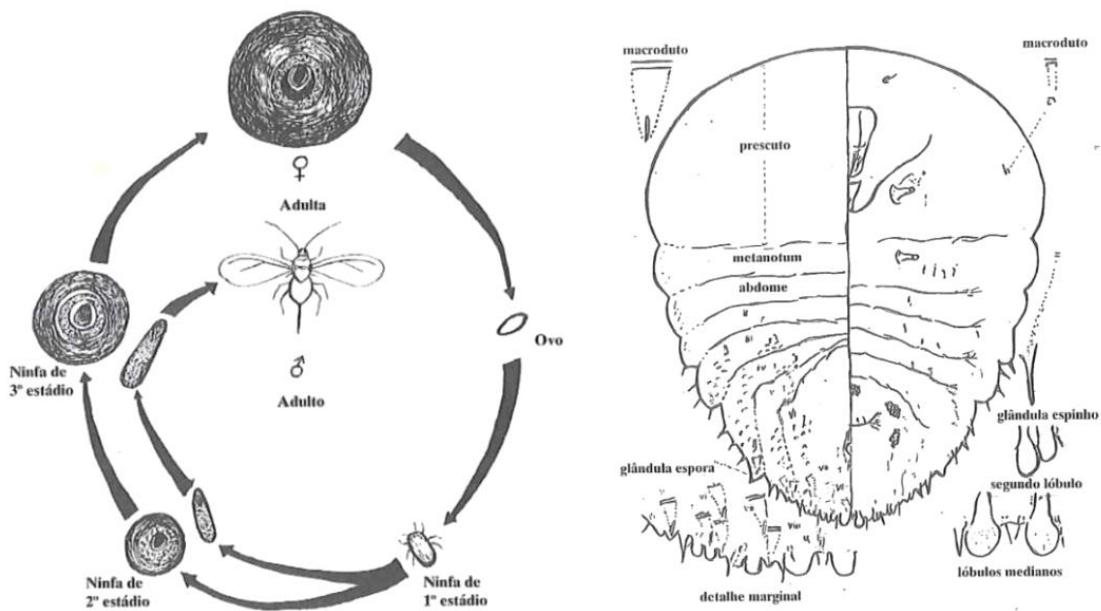
A podridão de Macrophomina, provocada pelo fungo *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid., é considerada uma das doenças mais graves que acometem a palma forrageira comum, especialmente no México, onde pode resultar na morte de até 50% das plantas. No Brasil, sua ocorrência já foi registrada nos estados de Alagoas e Pernambuco. Os cladódios infectados apresentam manchas escuras rodeadas por uma borda amarelada e com pequenos pontos escuros na superfície. Com o avanço da infecção, os tecidos necrosados caem, formando perfurações nos cladódios (Santos *et al.*, 2006). Outro tipo de podridão que acomete a palma é a podridão escamosa, outra doença de origem fúngica causada por *Scytalidum lignicola*. Caracteriza-se pela formação de manchas onduladas, semelhantes a escamas, que surgem principalmente na base das raquetes e se espalham por todo o cladódio, comprometendo de forma significativa a produtividade agrícola da planta (Souza *et al.*, 2010).

### 3.3.2. Insetos-praga: Cochonilhas

Dentre os insetos que atacam cactáceas do gênero *Opuntia* destacam-se as cochonilhas, insetos de pequeno porte e hábito alimentar sugador de seiva das plantas hospedeiras. Muitas espécies apresentam o corpo recoberto por secreções cerasas produzidas por glândulas localizadas na epiderme, presentes tanto nas ninfas quanto nos indivíduos adultos. Esses insetos podem infestar troncos, ramos, folhas e frutos, fixando-se sobre os tecidos vegetais e provocando desequilíbrio fisiológico nas plantas. Quando a infestação é intensa, observa-se um enfraquecimento generalizado, com redução do vigor e comprometimento do desenvolvimento vegetativo. A presença de focos da praga em caules, ramos, folhas ou cachos, como no caso da videira, já indica que o nível de ação para o controle deve ser considerado (Moreira; Paranhos; Oliveira, 2021).

O termo “cochonilha” tem origem associada à espécie *Dactylopius coccus*, conhecida como cochonilha do carmim. As fêmeas desse inseto secretam um pigmento vermelho intenso, o ácido carmínico, amplamente utilizado desde a antiguidade pela indústria têxtil e artística. Esse pigmento é chamado de “kermes” em inglês, “Cochenille” em alemão e francês, “kokkinili” em grego e “Cok-neal” em árabe. O próprio nome “cochonilha” deriva do latim *coccinus* (“escarlate”) e *coccum* (“baga vermelha”), em referência à coloração extraída do inseto, semelhante ao vermelho obtido das bagas do *Quercus coccifera*. Assim, o nome passou a designar tanto o pigmento quanto os insetos produtores dessa cor, o que explica por que essas espécies são chamadas popularmente assim (Akçay, 2024).

As cochonilhas apresentam dimorfismo sexual, enquanto as fêmeas normalmente movimentam-se de maneira bastante lenta ou são sésseis, além de serem ápteras, os machos são alados (Figura 2). As fêmeas depositam em torno de 80 a 100 ovos para cada geração e vivem aproximadamente 80 dias. As ninfas e os ovos ficam seguros numa estrutura similar a uma cauda e com carapaça cerosa chamada ovissaco, essa disposição dificulta a penetração de produtos agrícolas que venham a matar esses insetos ali protegidos (Brito *et al.*, 2007).



**Figura 2.** À esquerda: ciclo de vida da cochonilha, mostrando os estágios de ovo, ninfas (1º, 2º e 3º estádios) e adultos (macho e fêmea); à direita: Morfologia da fêmea adulta da cochonilha-de-escamas, destacando regiões corporais (prosoma, metassoma e abdome) e detalhes marginais com lóbulos e glândulas espinhosas Fonte: Arruda Filho (2002).

Nos estados da Paraíba, Alagoas e Pernambuco, os ataques da cochonilha-de-escamas (*Diaspis echinocacti* Bouché) têm provocado severos prejuízos econômicos e sociais, em razão das perdas produtivas que podem alcançar até 100% das plantações. Essa praga se destaca pela alta capacidade de multiplicação e pela agressividade do ataque, formando colônias densas que sugam a seiva dos cladódios e comprometem gradualmente o metabolismo da planta, até levá-la à morte (Figura 3). A intensidade e rapidez da infestação fazem da cochonilha um dos principais fatores limitantes ao cultivo da palma-forrageira no semiárido nordestino (Santos *et al.*, 2006).

As plantas infestadas por esses insetos apresentam coloração amarronzada clara e presença de escamas excretadas pelos insetos na superfície dos cladódios. Sob essas escamas encontram-se as fêmeas em fase adulta, sésseis, realizando succção da seiva e se reproduzindo. Portanto, essas estruturas cerasas aderidas aos cladódios também facilitam a dispersão da praga (Carvalho *et al.*, 1978).

As elevadas temperaturas do semiárido, embora possam reduzir a sobrevivência de ovos e ninfas devido às alterações na atividade enzimática de proteínas desnaturantes reguladoras do processo de desenvolvimento e sobrevivência, também aceleram o desenvolvimento dos indivíduos sobreviventes. Como os insetos não conseguem regular internamente sua temperatura, o calor encurta o ciclo de vida, aumentando o número de gerações em menor tempo. Além disso, em faixas térmicas próximas a 28 °C, observa-se uma predominância de fêmeas, potencializando assim a capacidade reprodutiva da praga. O calor também intensifica o metabolismo, contribuindo para o aumento da mobilidade, da fecundidade e da dispersão desses insetos, embora reduza sua longevidade. Assim, apesar de afetar negativamente alguns estágios de desenvolvimento, as condições térmicas do semiárido favorecem a rápida multiplicação e a intensidade dos surtos populacionais desse inseto-praga, sobretudo em hospedeiros como a palma forrageira, onde as variações ambientais e as características da planta influenciam diretamente sua dinâmica (Albuquerque Jr. *et al.*, 2023).

Diversos inimigos naturais têm sido registrados como agentes de controle biológico de cochonilhas. Um inseto nativo da Austrália da espécie *Cryptolaemeus montrouzieri* é bastante utilizado em citrus para controlar infestação de cochonilhas, tendo um foco maior no combate da espécie *Planococcus citri* (Mani, 1989; Copland *et al.*, 1985). Outros insetos predadores relevantes incluem *Coccidophillus citricola* (Brèthes), *Chilocorus nigrita* (Fabricius), *Pentilia egena* (Mulsant), *Zagreus bimaculosus* (Mulsant), *Calloeneis* sp. e *Zagloba* sp., todos pertencentes à família Coccinellidae (Coleoptera). Além desses, também foi registrado o díptero *Salpingogaster conopida* (Diptera: Syrphidae) (Arruda, 2002).



**Figura 3.** À esquerda infestação de *Diaspis echinocacti* em palma forrageira com presença de um de seus predadores, *Zagreus bimaculosus*. Fonte: adaptado de Arruda, (2002) e à direita cladódio de *Opuntia* sob infestação (imagem mais ampla) Fonte: Senar/SE (2020).

### 3.4. Resposta à herbivoria

#### 3.4.1. Alterações morfofisiológicas

Por serem organismos sésseis, as plantas permanecem continuamente expostas às variações ambientais e não podem se deslocar para evitar condições desfavoráveis. Assim, ao longo de seu ciclo de vida, precisam lidar diretamente com diversos estresses bióticos e abióticos ou reduzir os efeitos provocados por eles. Em resposta a esses estresses, as plantas desenvolveram, ao longo da evolução, um conjunto de estratégias adaptativas, que incluem modificações morfoanatômicas e a ativação de vias químicas e bioquímicas especializadas, permitindo-lhes minimizar os danos e assegurar sua sobrevivência, crescimento e reprodução. (Du *et al.*, 2024)

Além de ativar mecanismos moleculares de defesa, as plantas também recorrem a respostas estruturais e químicas frente ao ataque de herbívoros. A herbivoria, por sua vez, pode induzir uma série de respostas estruturais e químicas, tais como o espessamento da cutícula, a produção de tricomas e a liberação de compostos voláteis que atraem inimigos naturais dos insetos-praga (War *et al.*, 2012). Apesar de não apresentarem danos visíveis inicialmente,

infestações intensas por insetos sugadores comprometem significativamente o crescimento da planta, reduzindo a biomassa, acelerando a senescência foliar e o aumento a suscetibilidade à infecção por vírus e outros agentes patogênicos, frequentemente transmitidos por esses insetos durante a alimentação (Vizzoto, Krolow & Weber, 2010)

Quando atacadas, as plantas respondem através de estímulos por diferentes vias de sinalização que provocam resposta a nível celular e molecular. Esses mecanismos dependem do reconhecimento de sinais bióticos e abióticos por receptores específicos, resultando em alterações no perfil transcripcional e metabólico da planta (Jan *et al.*, 2021). A sinalização inicial envolve moléculas como espécies reativas de oxigênio (ROS) e íons de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), que funcionam como segundos mensageiros na ativação de genes de defesa (Sharma *et al.*, 2012).

A resposta a esses estresses envolve a produção de dois grupos de metabólitos: os primários e os secundários. Os metabólitos primários consistem em compostos que possuem funções vitais e fundamentais para as plantas, tanto para seu crescimento quanto para seu desenvolvimento, como por exemplo lipídeos, carboidratos e proteínas (Salam *et al.*, 2023). Já os secundários não possuem papéis fundamentais para o organismo vegetal, isto é, as plantas não precisam deles necessariamente para que elas possam funcionar plenamente em sua fisiologia. O entendimento sobre esses metabólitos (primários e secundários) nos fornecem bases quanto aos estudos sobre os processos que acontecem bioquimicamente nesses organismos (Sung *et al.*, 2015)

Os metabólitos secundários das plantas podem ser classificados em três grupos principais, de acordo com sua estrutura química: terpenos, compostos fenólicos e componentes contendo nitrogênio (Taiz; Zeiger, 2006). Dentro desses grupos destacam-se compostos como os alcaloides, fenilpropanóides e terpenóides, dos quais já foram identificadas aproximadamente 12.000, 8.000 e 40.000 substâncias, respectivamente. Além de atuarem como importantes mecanismos de defesa contra herbívoros e patógenos, esses metabólitos também podem ser utilizados como marcadores químicos capazes de distinguir diferentes famílias, gêneros e espécies vegetais (Elshafie *et al.*, 2023). Esses metabólitos não apenas conferem proteção contra pragas e patógenos, mas

também estão envolvidos na comunicação entre plantas e micro-organismos benéficos, além de possuírem potencial farmacológico e biotecnológico (Verpoorte *et al.*, 2000).

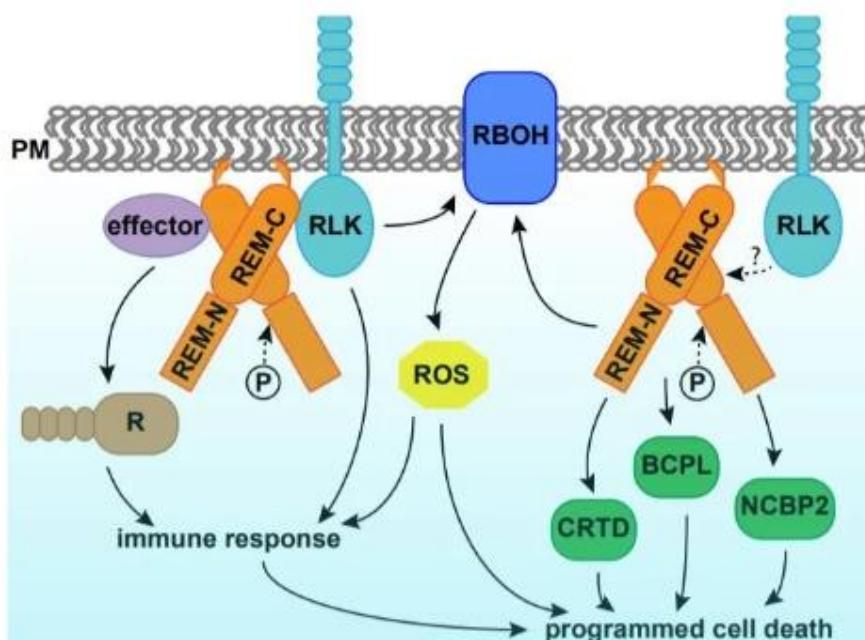
Dentre as principais vias hormonais utilizadas associadas à defesa a vegetal, destaca-se a via do ácido jasmônico, fundamental na ativação de genes que estejam relacionados com mecanismos de defesa, e na indução da síntese de fitoalexinas e inibidores de protease (Saddique; Kamran; Shahbaz, 2018; Wasternack, 2014) O ácido salicílico também desempenha papel relevante, especialmente na defesa, promovendo a expressão de genes/proteínas relacionadas à patogênese (Hao *et al.*, 2014). Adicionalmente, outros hormônios estão envolvidos na modulação das respostas de defesa, incluindo o etileno, cujo nível aumenta significativamente em situações de estresse biótico (Watkins *et al.*, 2014), o ácido abscísico, as auxinas, hormônios peptídicos, brassinosteroides, citocininas e giberelinas, todos atuando de forma integrada na regulação das respostas da planta ao ataque de pragas e patógenos (Saddique *et al.*, 2018; Bari & Jones, 2009; Islam *et al.*, 2019; Cai *et al.*, 2020).

### **3.4.2 Respostas moleculares**

A compreensão dos mecanismos de defesa vegetal evidência que a resposta das plantas ao ataque de patógenos e insetos depende de complexas redes de sinalização e de proteínas estruturais ou regulatórias que modulam tais vias. Nesse contexto, as remorinas destacam-se como componentes fundamentais da arquitetura e da dinâmica da membrana plasmática, desempenhando papéis relevantes na percepção de sinais, no direcionamento de respostas imunes e na mediação de interações planta-microrganismos. As remorinas constituem uma família de proteínas divididas em seis subgrupos, todos associados à membrana plasmática em microdomínios especializados (Jarsch & Ott, 2011; Rafaelle *et al.*, 2009; Lefebvre *et al.*, 2010). Essas proteínas estão amplamente distribuídas em plantas, desde briófitas até angiospermas, e foram inicialmente descobertas em tomateiros, correspondendo a polipeptídeos que podem ser fosforilados na presença de poligalacturonídeos. A participação

dessas proteínas nas interações planta–microrganismo tem despertado crescente interesse, e pesquisas realizadas entre 1989 e 1996 contribuíram significativamente para a caracterização funcional das remorinas, evidenciando seu papel nos processos de sinalização celular e transporte molecular (Jacinto *et al.*, 1993; Reymond *et al.*, 1996; Checker & Khurana, 2013).

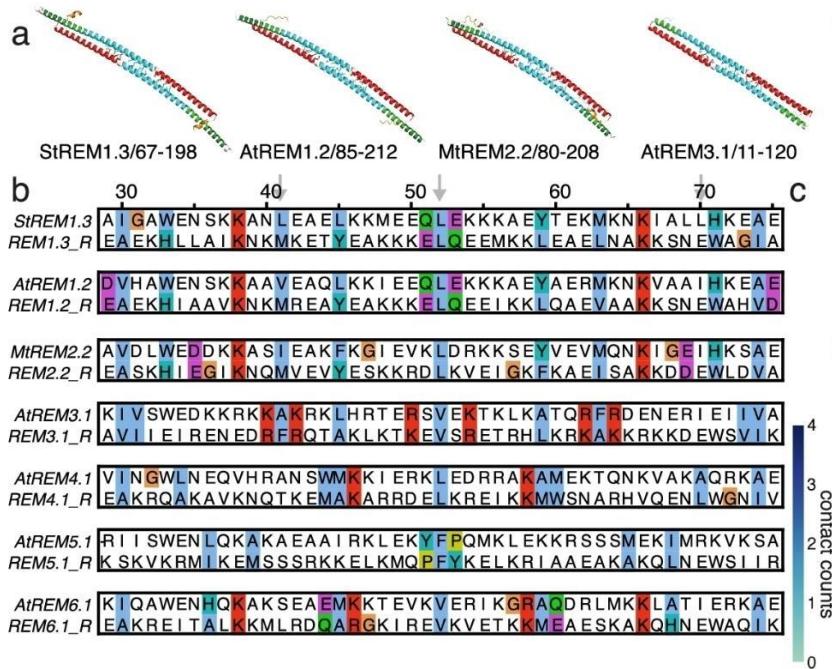
Estruturalmente, essas proteínas apresentam uma região C-terminal altamente conservada, que contém um *motif* em forma de hélice e um *motif* de ancoragem de membrana dinâmico, associados à estabilidade estrutural e à interação com membranas (Perraki *et al.*, 2012) (Figura 4 e 5). Em contrapartida, a região N-terminal apresenta-se bastante variável e frequentemente desordenada, contendo diversos sítios de fosforilação, característica que confere às remorinas alta plasticidade funcional e potencial de regulação pós-traducional (Marín *et al.*, 2012).



**Figura 4.** As remorinas possuem um domínio C-terminal conservado que permite sua ancoragem à membrana e um N-terminal variável com potencial regulatório. Na membrana plasmática, elas se localizam em nano-domínios onde podem interagir com RLKs e podem influenciar a ativação de RBOH, gerando Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) como parte da sinalização de defesa. Também podem se associar a proteínas R e participar da integração de vias hormonais (SA, JA e ABA), além de modular o controle dos plasmodesmos durante a resposta imune. Fonte: Yuqing Yu (2020)

Na espécie *Solanum tuberosum* (batata), por exemplo, a isoforma StREM1.3 interage com galacturonídeos derivados da parede celular vegetal, participando do reconhecimento de sinais de dano e ativação de defesas (Marín et al., 2012). Outro exemplo é a AtREM1.3, presente em *Arabidopsis thaliana*, que é altamente expressa, forma filamentos e desempenha papel essencial na imunidade inata da planta, sendo regulada por fosforilação durante o reconhecimento de elicitores bacterianos e funcionando como um possível andaime de sinalização. Além disso, AtREM1.3 foi candidata proeminente para o estudo de domínios intrinsecamente desordenados devido à sua associação com vias de resposta a estresses (Raffaele et al., 2007; Bariola et al., 2004; Benschop et al., 2007; Jarsch e Ott, 2011).

Estudos recentes demonstraram que essa proteína se liga à membrana plasmática das células vegetais na região onde ocorre a infecção pelo rizóbio, participando dos processos de entrada e liberação da bactéria no citoplasma do hospedeiro. Além disso, a remorina interage com receptores quinases (RLKs), que são importantes mediadores da sinalização celular, o que sugere que ela atua como uma proteína de andaime específica de plantas. Dessa forma, a remorina auxilia na organização e coordenação das vias de sinalização envolvidas na comunicação entre a planta e o microrganismo simbionte (Lefebvre et al. 2010).



**Figura 5.** A figura evidencia a posição dos *motiffs* 1 (vermelho) e 2 (azul) nas estruturas dímeras previstas pelo AF2 para a região C-terminal das proteínas REM. Também apresenta o alinhamento da região central do domínio de *coiled-coil* em torno do eixo de simetria do dímero, a quantificação dos contatos intermoleculares formados por cada homólogo REM e, por fim, destaca nas estruturas de AtREM1.2 e AtREM6.1 os resíduos que exibem o maior número de contatos. Fonte: Xu et al (2024)

### 3.4.2 Biomarcadores em resposta ao estresse biótico

As plantas estão constantemente expostas a fatores ambientais que podem afetar seu desenvolvimento e produtividade. Para compreender essas respostas e aprimorar estratégias de seleção genética, o uso de biomarcadores tem se tornado cada vez mais relevante. Biomarcadores são moléculas ou compostos produzidos por organismos que funcionam como indicadores biológicos mensuráveis de determinados processos fisiológicos ou respostas a estímulos externos. No caso das plantas, esses biomarcadores refletem as alterações metabólicas, bioquímicas e moleculares que ocorrem diante de fatores ambientais, como seca, salinidade, ataque de patógenos ou exposição a substâncias tóxicas. Podem ser substâncias diversas, incluindo fitormônios, enzimas, proteínas e ácidos nucleicos, cuja presença, concentração ou padrão de expressão fornece informações sobre o estado funcional e o equilíbrio interno da planta. Assim, além de sinalizar quando um estresse está em andamento, os

biomarcadores permitem detectar precocemente desequilíbrios fisiológicos, contribuindo de maneira significativa para o monitoramento da saúde vegetal e para o melhoramento genético voltado à tolerância a estresses (Steinfath et al., 2010; Alharbi, 2020).

O estresse biótico ocorre quando organismos vivos, como fungos, bactérias, vírus, nematoides, pragas e ervas daninhas, interferem negativamente no desenvolvimento e na produtividade das plantas. Esses agentes podem provocar doenças, danificar tecidos vegetais e competir por recursos essenciais, como água, luz e nutrientes, comprometendo o crescimento e a qualidade dos cultivos (Rezvi et al., 2023). A resposta a esses agentes envolve a ativação coordenada de vias de sinalização que regulam de forma precisa a expressão de genes de defesa. Esses mecanismos incluem a ação de proteínas cinases e fosfatases, que estimulam proteínas-alvo e promovem a síntese de fitormônios, como o ácido salicílico e o ácido jasmônico, fundamentais na modulação da expressão gênica durante infecções e herbivoria (Chi et al., 2019; Tuteja; Sopory, 2008).

Entre os reguladores moleculares mais importantes, destacam-se os fatores de transcrição NAC, que controlam genes associados à tolerância e são ativados em diversas respostas de defesa (Nurunzzaman; Sharoni; Kikuchi, 2013). A modificação da expressão desses fatores de transcrição tem se mostrado uma estratégia eficaz para aprimorar a resistência das plantas a patógenos (Hoang et al., 2017). Em nível molecular, os fatores de transcrição ligam-se a sequências cis-regulatórias nos promotores gênicos, integrando redes regulatórias complexas que determinam quais genes são expressos diante de diferentes estresses bióticos (Li et al., 2021; Priest; Filichkin Mockler, 2009; Kaur; Pati 2016).

Estudos conduzidos por Wang et al. (2019) investigaram linhagens endogâmicas de milho resistentes (P178) e suscetíveis (Lx9801) à ferrugem-daspiça (*Puccinia polysora*) por meio de análises proteômicas, diante disso, observou-se que a abundância das subunidades dos fotossistemas I e II, assim como aquelas do complexo antena de ligação à clorofila a/b, diminuiu no genótipo suscetível após a infecção por *Puccinia polysora*, já na linhagem resistente, a superexpressão da proteína remorina ZmREM1.3 conferiu

resistência à planta, possivelmente por meio da ativação de vias de defesa reguladas pelos hormônios ácido salicílico (SA) e ácido jasmônico (JA).

Complementarmente, Jamann et al. (2016) demonstraram que a resistência quantitativa a múltiplas doenças no milho é controlada por vários genes, sendo necessária uma abordagem integrativa para identificar os candidatos relevantes. A análise de expressão diferencial entre linhagens quase isogênicas (NILs) resistentes e suscetíveis permitiu identificar genes associados à resistência, mesmo em regiões que não haviam sido detectadas pelo mapeamento de associação. Dentre esses genes, a remorina ZmREM6.3 foi caracterizada como um novo fator envolvido na resistência quantitativa a doenças (QDR), revelando seu potencial como biomarcador para programas de melhoramento genético focados na seleção de genótipos mais resistentes.

Estudos adicionais, como o de Perraki *et al.* (2014), mostram que a infecção pelo vírus X da batata (PVX) aumentou a mobilidade da proteína REM1.3 e estimulou a formação de nano domínios maiores na membrana plasmática, evidenciando que a reorganização destes microdomínios está associada à resposta da planta a patógenos. Esse comportamento é coerente com o observado por Huang et al. (2019), que demonstraram que altas concentrações de ácido salicílico (SA) ou a infecção por vírus também promovem o agrupamento de remorinas e o consequente fechamento dos plasmodesmos, limitando o movimento intercelular de agentes infecciosos, sendo assim, esses resultados reforçam o papel das remorinas como componentes-chave das respostas de defesa celular, participando da sinalização dependente de SA e da restrição física da propagação de patógeno.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material vegetal

Foram coletados cladódios de palma forrageira variedade Orelha de Elefante Mexicana (*Opuntia stricta* Haw.), variedade suscetível ao ataque da cochonilha-de-escamas, cedidos pelo Programa de Melhoramento de Palma-forrageira do Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA), localizado na Estação Experimental de Arcoverde - PE. Os cladódios secundários possuíam mais de 1 ano de idade, com e sem infestação por cochonilha-de-escamas (*Diaspis echinocacti* Bouché) (Figura 6). A classificação do nível de infestação foi feita conforme descrito por Carmo (2019). As amostras foram coletadas e congeladas em nitrogênio líquido, transportadas em gelo seco e armazenadas em ultra freezer -80°C até as análises experimentais.



**Figura 6.** Cladódios de Orelha de elefante mexicana (*Opuntia stricta*) coletados. A: Cladódio não infestado; B: Cladódio infestado por cochonilha-de-escamas (*Diaspis echinocacti*). Fonte: Autoria própria (2025).

### 4.2 Desenho de iniciadores

Os iniciadores para o gene *OsREM* foram desenhados a partir da sequência de RNA mensageiro de *Opuntia streptacantha*, utilizando o software

Primer3 Plus. Os iniciadores foram desenhados com os seguintes parâmetros ajustados: tamanho do iniciador entre 20 e 24 pb (ótimo a 22 pb); temperatura de *melting* (Tm) entre 58 e 62 °C (ótimo a 60 °C); diferença máxima entre a Tm dos primers direto e reverso igual a 4; conteúdo %GC entre 45 e 55% (ótimo a 50%); foi selecionado o par de iniciadores mais concordantes com os parâmetros ajustados e analisados no programa NetPrimer (<https://www.premierbiosoft.com/netprimer>) para predição de autoanelamento, formação de dímeros e outras estruturas secundárias.

#### **4.3 Extração de RNA total**

A extração de RNA total dos 2 cladódios foi realizada utilizando TransZol (TransGen), seguindo as instruções do fabricante. A integridade do RNA extraído foi verificada em gel de agarose 1% corado com Sybr TM Green (Applied BiosystemsTM) e, posteriormente, quantificadas em espectrofotômetro NanoDrop (ND-1000 Spectrophotometer, Peqlab). As reações de síntese de cDNA foram realizadas com o NZY First-Strand cDNA Synthesis Kit (NZYTech®), seguindo as instruções do fabricante.

#### **4.4 RT-PCR**

A especificidade e eficiência dos iniciadores desenhados foram testadas através da RT-PCR. As reações foram realizadas em volume final de 25 uL, contendo 12,5 uL de NZYtaq 2x Green MasterMix, 0,6 uL de primer forward (5 pmol/uL), 0,6 uL de primer reverse (5 pmol/uL), 10,3 uL de água ultrapura e 1,0 uL de cDNA (6,25 ng/uL). Para o preparo em triplicata (3x), os volumes foram ajustados proporcionalmente e para o controle negativo (CN) utilizou-se água no lugar do cDNA. As condições de amplificação incluíram a desnaturação inicial a 96 °C por 1 min, seguida de 35 ciclos de 96 °C por 1 min, anelamento a 57 °C por 30s, extensão a 72 °C por 1 min e extensão final a 72°C por 5 min.

#### **4.5 RT-qPCR**

A avaliação da expressão de *OsREM* foi feita por Reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa em tempo real (RT-qPCR) utilizando o kit NZYSupreme qPCR Green Master Mix (2x) ROX (NZYTech), conforme metodologia estabelecida por Calsa Jr. e Figueira (2007), para determinação da associação entre os níveis transcripcionais e o estresse aplicado. A reação foi realizada em equipamento QuantStudio1 Real-Time PCR (Thermo Fisher Scientific®), utilizando triplicatas biológicas e técnicas (amostrais) e detecção por SYBR Green.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

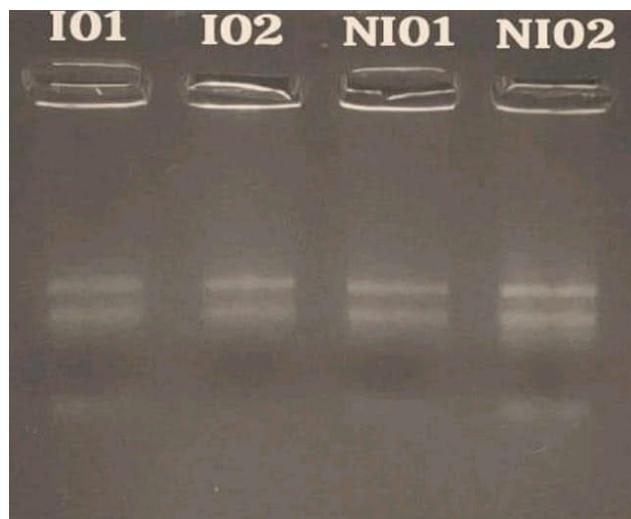
### 5.1 Extração de RNA total

A quantificação do RNA total extraído das amostras, tanto em quantidade (ng/µL), quanto em nível de pureza (A260/280), se encontram descritos na Tabela 1. As amostras apresentaram concentrações variáveis de RNA total, com valores entre 162,4 ng/µL para amostra Não Infestada (NI 01) e 307,3 ng/µL para amostra Infestada (I 01). As amostras do grupo “Infestado” (I01 e I02) possuem concentrações maiores (em média) em comparação ao grupo “Não Infestado” (NI01 e NI02). Com relação a pureza das amostras (A260/A280), todas apresentam um valor aproximado de 1,8, que está dentro da faixa aceitável para RNA de boa qualidade, indicando que não há contaminação significativa por proteínas. Vale ressaltar a dificuldade de se conseguir realizar uma extração íntegra do RNA total de cladódios de palma-forrageira, visto que essa espécie possui altas quantidades de polissacarídeos que dificulta a precipitação de ácidos nucleicos puros e íntegros (Queiroga., *et al* 2020). Além disso, a alta quantidade de mucilagem dos cladódios compromete a eficiência da pipetagem, já que o material apresenta adesão contínua às superfícies de contato. Apesar dessas dificuldades na extração de ácidos nucleicos dos cladódios de palma-forrageira, conseguiu-se RNA total íntegros (figura 7).

**Tabela 1.** Quantificação de RNA total extraído de cladódios de palma forrageira infestados (amostras I 01 e I 02) e não infestados por cochonilha-de-escamas (amostras NI 01 e NI 02).

| Amostra | ng/uL | A260/A280 |
|---------|-------|-----------|
| I01     | 307,3 | 1,78      |
| I02     | 201,8 | 1,79      |
| NI01    | 162,4 | 1,76      |
| NI02    | 231,6 | 1,79      |

Fonte: Autoria própria



**Figura 7.** Integridade do RNA total extraído da variedade Orelha de elefante mexicana (*Opuntia stricta*) verificada em gel de agarose. Amostras de palma infestadas por cochonilha-de-escamas (IO1 e IO2); Amostras de palma não infestadas (NI01 e NI02).

## 5.2 Desenho dos iniciadores

Para o desenho dos iniciadores, considerou-se os melhores alinhamentos com as sequências depositadas no GenBank para a família Cactaceae e o gênero *Opuntia*. Como até o momento não há genomas de espécies de *Opuntia* depositados nesse banco, utilizou-se o repositório *Transcriptome Shotgun Assembly* (TSA) para identificar sequências de *Opuntia* que apresentassem melhor correspondência com a proteína de interesse. Com isso, o melhor alinhamento obtido com acesso foi GISG01178247.1. O organismo com melhor alinhamento para o gene alvo foi *Opuntia streptacantha* (Tabela 2).

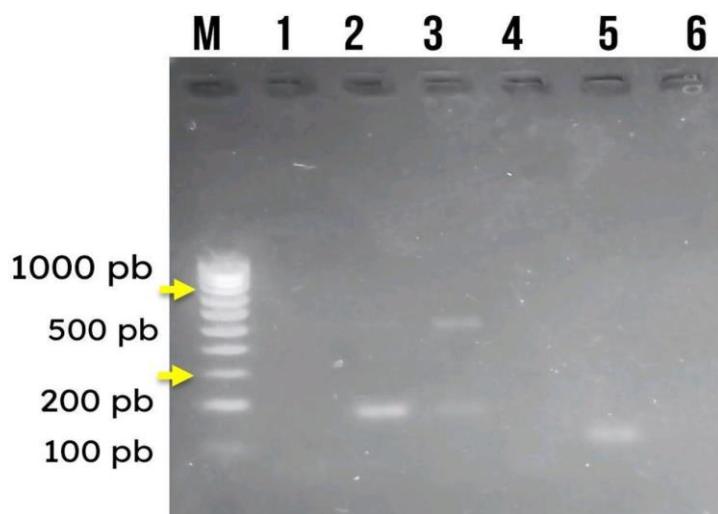
**Tabela 2.** Sequência dos iniciadores desenhados para o gene *OsREM*.

| Gene  | Proteína | Sentido | Sequência (5' -> 3')  | Amplicon<br>(pb) | Tm°C |
|-------|----------|---------|-----------------------|------------------|------|
| OsREM | Remorina | F       | CAGAGGGTGGTGCAGAAAGAT | 186 pb           | 60,0 |
|       |          | R       | TCTTCAGCTCGGCCTCAATG  |                  |      |

**Fonte:** autoria própria.

### 5.3 RT-PCR

Na análise da especificidade dos iniciadores desenhados via RT-PCR, observou-se que o gene *OsREM* foi amplificado em ambos os tratamentos, no entanto, com dois produtos de tamanhos diferentes: o de tamanho esperado (186pb) e outro de tamanho maior (~500pb) (Figura 8). Em uma análise semiquantitativa, foi observado que o *amplicon* de 186pb apresentou maior expressão no tratamento das amostras infestadas (amostra 2) em comparação ao não infestadas (amostra 3). Comportamento contrário é observado com o *amplicon* de ~500 pb, que mostrou maior expressão em amostras não infestadas, indicando possível resposta diferencial desses produtos sob a infestação.



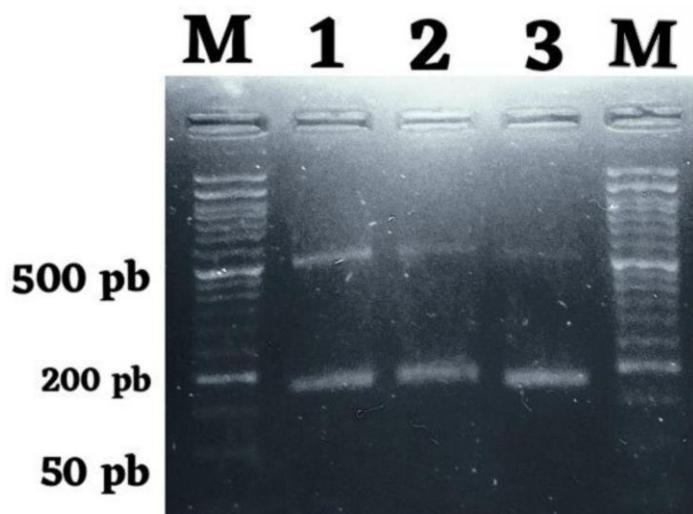
**Figura 8.** Amplificação do gene alvo *OsREM* (Remorina) e gene de referência *Tub* (Tubulina) em gel de agarose 1,5%. M: marcador de peso molecular 100 pb; 1: Controle negativo (CN); 2: RI (*OsREM* infestada); 3: RNI (*OsREM* não infestada); 4: Controle negativo (CN); 5: TI (tubulina infestada); 6: TNI (tubulina não infestada). As setas indicam o tamanho das bandas amplificadas para *OsREM*.

Considerando a recorrência da amplificação de dois produtos para o gene *OsREM*, foram conduzidos testes adicionais com temperaturas de anelamento

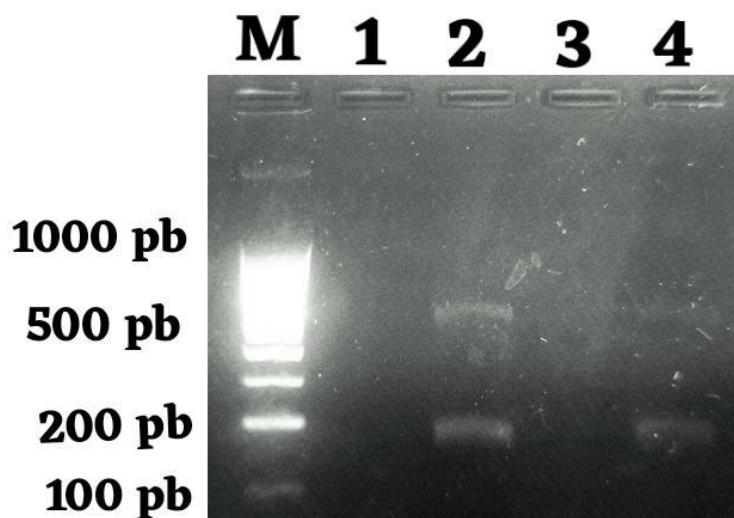
mais elevadas, com o intuito de aumentar a especificidade da reação de RT-PCR e restringir a amplificação ao produto gênico esperado. Entretanto, o padrão de duplicidade dos produtos manteve-se, embora tenha sido observada uma discreta redução na intensidade do produto de ~500pb (Figuras 9 e 10).

A amplificação consistente de dois produtos distintos para *OsREM* sugere que esse gene apresenta uma complexidade estrutural e/ou regulatória que não é detectável apenas pela análise *in silico* e RT-PCR. A coexistência de um *amplicon* de 186pb (o produto esperado) e um maior de ~500pb pode refletir diferentes origens biológicas, incluindo: amplificação de transcritos alternativos; retenção parcial de íntrons em isoformas menos processadas; e co-amplificação de sequências parálogas. A persistência da duplicidade mesmo após o aumento da temperatura de anelamento, associada à redução apenas moderada do produto de maior tamanho, reforça a hipótese de que o produto de ~500pb não é exclusivamente um artefato da técnica, mas que pode representar uma isoforma ou variante genômica biologicamente existente.

Além disso, a diferença de intensidade entre os dois produtos também é biologicamente relevante. O produto de 186pb apresentou maior acúmulo nas plantas infestadas, enquanto o produto de ~500pb predominou em condições não infestadas. Esse padrão sugere que a infestação por cochonilha-de-escamas pode modular diferencialmente a abundância dessas possíveis isoformas ou variantes transpcionais. Se o produto de 186pb corresponder à isoforma funcional predominante, seu aumento em plantas infestadas pode indicar ativação de uma resposta transcrecional associada ao estresse biótico. Por outro lado, a maior intensidade do produto de ~500pb em plantas não infestadas pode refletir uma isoforma basal, potencialmente regulada negativamente sob estresse ou competindo com a forma curta por componentes da maquinaria de processamento de RNA. Embora essas interpretações sejam coerentes com padrões de resposta ao estresse descritos em outras espécies, a identificação conclusiva da natureza desses produtos exige análises adicionais.



**Figura 9.** Primeiro teste de otimização com diferentes temperaturas de anelamento durante a amplificação do gene *OsREM*. M: marcador molecular; CN: controle negativo; 1: 58 °C; 2: 59 °C; 3: 60 °C.



**Figura 10.** Segundo teste de otimização com diferentes temperaturas de anelamento durante a amplificação do gene *OsREM*. M: marcador molecular; 1 e 4: Controle Negativo; 2: 62 °C; 4: 63°C.

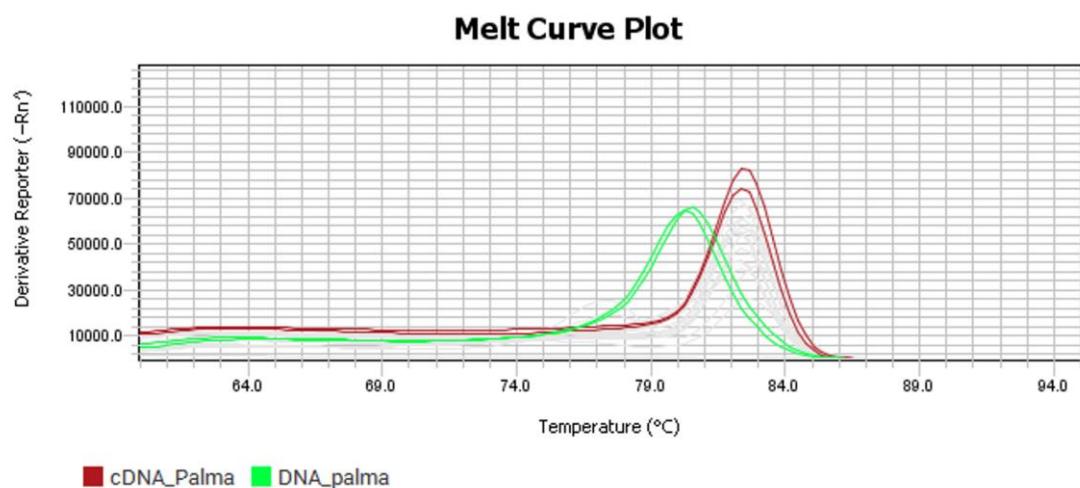
### 5.5 RT-qPCR

A análise da curva de *melting* (Figura 11) apresentou, para as amostras de cDNA, um pico único de dissociação com Tm próximo a 79°C, sugerindo a presença de um produto amplificado majoritário para o gene *OsREM*. A ausência de picos secundários indica que, sob as condições de detecção do equipamento,

não foram identificadas quantidade significativas de dímeros de primers ou produtos inespecíficos. Contudo, a eletroforese em gel das reações de RT-PCR revelou duas bandas distintas nas amostras de cDNA, indicando a amplificação de mais de um produto. Essa discrepância entre o *melting* e a separação em gel é típica em situações em que produtos apresentam Tm muito próximos ou são amplificados em proporções desiguais, dificultando a resolução térmica. Nesses casos, a análise da curva de *melting* tende a subestimar produtos minoritários ou estruturalmente semelhantes.

A curva de dissociação é sensível à composição e estrutura dos produtos (conteúdo GC, comprimento, estruturas secundárias) e tem resolução limitada quando produtos possuem Tm próximos ou quando um produto está presente em proporção menor que os outros. Assim, a ausência de picos secundários para o cDNA na figura 11 não descarta a presença de um produto minoritário, como observado no gel de agarose, e nem invalida a especificidade da reação para o produto predominante.

Entre as hipóteses mais prováveis estão a amplificação de diferentes isoformas do gene decorrentes de *splicing* alternativo ou inespecificidade dos iniciadores desenhados. A última possibilidade se depara com a limitação de dados genômicos e transcriptômicos de espécies de *Opuntia*, especialmente a *Opuntia stricta* (espécie utilizada neste trabalho), apesar do desenho ter sido feito especificamente para *O. streptacantha*. Diante do exposto, é necessário determinar com precisão a identidade dos produtos amplificados. O sequenciamento individual das bandas permitirá distinguir entre isoforma alternativa, possível amplificação de gDNA ou paralogias. Essa etapa será relevante para validar a especificidade dos iniciadores em amplificar o gene alvo ou orientar o redesenho, se for necessário. A confirmação das identidades dos produtos e a caracterização das possíveis isoformas são passos críticos para compreender o papel de *OsREM* na resposta da palma-forrageira ao ataque por cochonilha-de-escamas.



**Figura 11.** Curva de melting do gene *OsREM*. Amostras em vermelho: cDNA de *O. stricta*; Amostras em verde: DNA genômico de *O. stricta*.

## 6 CONCLUSÕES

- Os resultados obtidos demonstram que o método de extração de RNA total a partir de cladódios de palma-forrageira (*Opuntia stricta*) foi eficiente, permitindo análises subsequentes.
- Na RT-PCR, a presença de duas bandas distintas (~186 pb e ~500 pb) sugere a possível existência de isoformas ou variantes transpcionais do gene *OsREM*.
- A análise da curva de *melting* na RT-qPCR para as amostras de cDNA exibiu um único pico de dissociação (79 °C), sugerindo especificidade dos primers e ausência de produtos inespecíficos.
- Em conjunto, os resultados apontam que o gene *OsREM* pode participar de mecanismos resposta ao estresse biótico, apresentando maior acúmulo do produto esperado em plantas infestadas e sugerindo modulação diferencial sob o ataque por cochinilha-de-escamas.

## 7 REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, S. G. de; SANTOS, D. C. dos. Palma-forrageira. In: KIILL, L. H. P.; MENEZES, E. A. (Ed.). Espécies vegetais exóticas com potencialidades para o semiárido brasileiro. Petrolina: Embrapa Semi-Árido; Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. cap. 3, p. 91–127.
- ALBUQUERQUE JUNIOR, P. S.; SILVA, C. A. D.; RAMOS, R. S.; ZANUNCIO, J. C.; CASTELLANI, M. A. *Diaspis echinocacti* (Hemiptera: Diaspididae) on cactus pear cladodes: biological aspects at different temperatures. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, e274016, 2023.
- ALVES, A. A.; REIS, E. M.; SILVA NETO, M. F. Forrageiras indicadas para a alimentação animal no Semiárido brasileiro. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2015. p. 1-62
- ALVES, Marta Assunção et al. *Opuntia ficus-indica* (L.) Miller: caracterização física, físico-química e química de frutos produzidos no estado de Pernambuco – Brasil. **Arquivos Brasileiros de Alimentação**, v. 4, n. 2, p. 398–415, 2019.
- AKÇAY, A. The use of insect pigment in art works. **European Journal of Science and Technology**, v. 15, n. 7, p. 519, 2024.
- ANDERSON, E. F. The Cactus Family. Portland: Timber Press, 2001.
- ARRUDA FILHO, G. P. Manejo integrado da cochonilha *Diaspis echinocacti* praga da palma-forrageira em Brasil. **Manejo Integrado de Plagas y Agroecología**, n. 64, p. 1–5, 2002.
- BARBOSA, F. R.; LEMOS, W. P.; SILVA, P. A.; SOUZA, I. V. Biología da cochonilha-de-escama *Diaspis echinocacti* Bouché (Hemiptera: Diaspididae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 51, n. 3, p. 321–326, 2007.

BARI, R.; JONES, J. D. G. Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Molecular Biology*, v. 69, p. 473–488, 2009.

BARIOLA, P. A.; RETELSKA, D.; STASIAK, A.; et al. Remorins form a novel family of coiled coil-forming oligomeric and filamentous proteins associated with apical, vascular and embryonic tissues in plants. *Plant Molecular Biology*, v. 55, p. 579–594, 2004.

BARROS, I. O.; SOARES, A. A. Adaptações anatômicas em folhas de marmeiro e velame da caatinga brasileira. *Revista Ciência Agronômica*, Fortaleza, v. 44, n. 1, p. 186–193, mar. 2013.

BARROS, R.; ARRUDA FILHO, G. P.; ARRUDA, E. M. Aspectos bioecológicos da cochonilha *Diaspis echinocacti* Bouché (Hemiptera: Diaspididae) em palma-forrageira. *Revista Caatinga*, v. 14, n. 1/2, p. 39–44, 2001.

BENSCHOP, J. J.; MOHAMMED, S.; O'FLAHERTY, M.; et al. Quantitative phosphoproteomics of early elicitor signaling in *Arabidopsis*. *Molecular & Cellular Proteomics*, v. 6, p. 1198–1214, 2007.

BRITO, L. T. M.; MORA, J. A. de; SILVA, A. de S. Clima e água de chuva no Semiárido. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2007.

BURROWS, G. E. Comparative anatomy of the photosynthetic organs of 39 xeromorphic species from subhumid New South Wales, Australia. **International Journal of Plant Sciences**, v. 162, n. 2, p. 411–430, 2001.

CAI, J.; CHEN, T.; WANG, Y.; QIN, G.; TIAN, S. SIREM1 triggers cell death by activating an oxidative burst and other regulators. **Plant Physiology**, v. 183, p. 717–732, 2020.

CARVALHO, M. B. de; ARRUDA, G. P. de; ARRUDA, E. C. de. A cochonilha da palma-forrageira *Diaspis calyptroides* (Homoptera, Diaspididae) e seus inimigos naturais em Pernambuco e Alagoas. Recife, 1978.

CHAGAS, M. C. M. et al. Cochonilha de escama na palma forrageira: aspectos biológicos e estratégias de manejo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Natal: EMPARN, 2018.

CHECKER, V. G.; KHURANA, P. Molecular and functional characterization of mulberry EST encoding remorin (*MiREM*) involved in abiotic stress. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 32, n. 11, p. 1729–1741, 2013.

CHI, Y. H. et al. The physiological functions of universal stress proteins and their molecular mechanism to protect plants from environmental stresses. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 750, 2019.

CUNHA, D. A. da; BRAGA, M. J. Mudanças climáticas e convivência com o semiárido brasileiro. Viçosa: UFV, 2022.

DOS SANTOS NUNES, Cleonice. Usos e aplicações da palma forrageira como uma grande fonte de economia para o semiárido nordestino. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 1, p. 8, 2011.

ELSHAFIE, H. S.; CAMELE, I.; MOHAMED, A. A. A. A comprehensive review on the biological, agricultural and pharmaceutical properties of secondary metabolites based-plant origin. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 4, p. 3266, 2023.

FAHMY, G. M. Leaf anatomy and its relation to the ecophysiology of some non-succulent desert plants from Egypt. **Journal of Arid Environments**, v. 36, p. 499–525, 1997.

FAHN, A. Structural and functional properties of trichomes of xeromorphic leaves. **Annals of Botany**, v. 57, p. 631–637, 1986.

FARIAS, Iderval; LIRA, Mário de Andrade; SANTOS, Djalma Cordeiro dos; TAVARES FILHO, José Jorge; SANTOS, Mércia Virgínia Ferreira dos; FERNANDES, Antônio de Pádua Maranhão; SANTOS, Venésio Felipe dos. Manejo de colheita e espaçamento da palma-forrageira, em consórcio com sorgo granífero, no Agreste de Pernambuco. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 2, p. 1, fev. 2000.

FERNANDES, M.; CARDOSO, D.; PENNINGTON, R. T.; QUEIROZ, L. P. The Origins and Historical Assembly of the Brazilian Caatinga Seasonally Dry Tropical Forests. **Frontiers in Ecology and Evolution**, [S. l.], v. 10, 23 fev. 2022.

FERRO, J. A.; BARROS, N. M.; DABBAS, K. M. Biossíntese de jasmonatos em plantas: aspectos bioquímicos e fisiológicos. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 19, n. 2, p. 121–134, 2007.

FROTA, M. N. L. et al. Palma forrageira na alimentação animal. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2015.

FU, S.; XU, Y.; LI, C.; LI, Y.; WU, J.; ZHOU, X. The rice stripe virus interferes with remorin S-acylation and induces its autophagic degradation to facilitate viral infection. **Molecular Plant**, v. 11, p. 269–287, 2018.

GOUGUET, P.; GRONNIER, J.; LEGRAND, A.; et al. Connecting the dots: from nanodomains to physiological functions of REMORINs. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 1–20, 2021.

GRIFFITH, M. Patrick; PORTER, J. Mark. Phylogeny of Opuntioideae (Cactaceae). **International Journal of Plant Sciences**, v. 170, n. 1, p. 107–116, 2009.

HAO, Qunqun; WANG, Wenqiang; HAN, Xiuli; WU, Jingzheng; LYU, Bo; CHEN, Fengjuan; CAPLAN, Allan; LI, Caixia; WU, Jiajie; WANG, Wei; XU, Qian; FU, Daolin. Isochorismate-based salicylic acid biosynthesis confers basal resistance to *Fusarium graminearum* in barley. **Molecular Plant Pathology**, v. 19, p. 1995–2010, 2018.

HOANG, X. L. T. et al. Transcription factors and their roles in signal transduction in plants under abiotic stresses. **Current Genomics**, v. 18, n. 6, p. 483–497, 2017.

HUANG, D. et al. Salicylic acid-mediated plasmodesmal closure via Remorin-dependent lipid organization. **PNAS**, v. 116, n. 42, p. 21274–21279, 2019.

INGLESE, P. Cactus pear, *Opuntia ficus-indica* L. (Mill.) for fruit production: an overview. **Cactusnet Newsletter**, Tunis, n. 12, p. 19-22, May 2010.

ISLAM, W. et al. Plant defense against virus diseases: growth hormones in highlights. **Plant Signaling & Behavior**, v. 14, p. 1596719, 2019.

JACINTO, T.; FARMER, E.; RYAN, C. Purification of potato leaf plasma membrane protein pp34, a protein phosphorylated in response to oligogalacturonide signals for defense and development. **Plant Physiology**, v. 103, p. 1393–1397, 1993.

JAMANN, T. M. et al. Identification of quantitative trait loci for resistance to multiple diseases in maize. **Phytopathology**, v. 106, n. 6, p. 624–633, 2016.

JAN, R.; ASAFAW, S.; NUMAN, M.; LUBNA; KIM, K. M. Plant secondary metabolite biosynthesis and transcriptional regulation in response to biotic and abiotic stress conditions. **Agronomy**, v. 11, n. 5, p. 1–31, 2021.

JARDIM, F. C. et al. Crescimento e produção de clones de palma forrageira em diferentes idades de corte no semiárido. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 15, n. 2, p. 1–10, 2020.

JARSCH, I. K.; OTT, T. Perspectives on remorin proteins, membrane rafts, and their role during plant-microbe interactions. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 24, p. 7–12, 2011.

KAUR, G.; PATI, P. K. The analysis of cis-acting regulatory elements of respiratory burst oxidase homolog (Rboh) gene families in *Arabidopsis* and rice provides clues about their diverse functions. **Computational Biology and Chemistry**, v. 62, p. 104–118, 2016.

KIESLING, R. Historia e prehistoria de la tuna o cactus, *Opuntia ficus-indica*: presente y futuro. **Cactus Newsletter**, Tunis, n. 13, p. 13-18, Jan. 2013.

LEFEBVRE, V.; TIMMERS, A. C. J.; OLDROYD, G. E. D.; SCHULTZE, M.; D'HAEZE, W.; DE RUIJTER, N. C. A.; MAAG, D.; RIVAS-SAN VICENTE, M.; MUNNIK, T.; GADELLA, T. W. J.; CULLIMORE, J. V.; RAMEAU, C.; GEURTS, R. A remorin protein interacts with symbiotic receptors and regulates bacterial infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, D.C., v. 107, n. 47, p. 20267-20272, 2010.

LEGRAND, A. et al. Structural determinants of remorin nanodomain formation in anionic membranes. **Biophysical Journal**, v. 122, n. 3, p. 445–458, 2023.

LI, L. et al. OsNAC109 regulates senescence, growth and development by altering the expression of senescence- and phytohormone-associated genes in rice. **Plant Molecular Biology**, v. 105, n. 6, p. 637–654, 2021.

MA, T.; FU, S.; WANG, K.; WANG, Y.; WU, J.; ZHOU, X. Palmitoylation is indispensable for remorin to restrict Tobacco Mosaic Virus cell-to-cell movement in *Nicotiana benthamiana*. **Viruses**, v. 14, n. 6, p. 1324, 2022.

MARÍN, M.; OTT, T. Phosphorylation of intrinsically disordered regions in remorin proteins. **Frontiers in Plant Science**, v. 3, p. 86, 2012.

MAJURE, Lucas C.; PUENTE, Raúl; GRIFFITH, M. Patrick; JUDD, Walter S.; SOLTIS, Pamela S.; SOLTIS, Douglas E. Phylogeny of *Opuntia* s.s. (Cactaceae): clade delineation, geographic origins, and reticulate evolution. **American Journal of Botany**, v. 99, n. 5, p. 847–864, 2012.

MOREIRA, Andréa Nunes; PARANHOS, Beatriz Aguiar Jordão; OLIVEIRA, José Eudes de Morais. Cochonilhas. In: **EMBRAPA. Agência de Informação Tecnológica (AGEITEC)**. Uva de mesa: produção: pragas, 2021.

MULSANT, E. Field evaluation of *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) as biological control agent of the mealybug *Delottococcus aberiae* De Lotto (Hemiptera: Pseudococcidae). **Biological Control**, v. 138, p. 104027, 2019.

NURUNZZAMAN, M.; SHARONI, A. M.; KIKUCHI, S. Roles of NAC transcription factors in the regulation of biotic and abiotic stress responses in plants. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, p. 248, 2013.

PADRÓN PEREIRA, C.A. Innovaciones en el agrodesarrollo de las cactáceas. **Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, Caracas, v. 3, n. 1, p. 38-79, 2012.

PEREIRA, A. V.; VALLE, C. B. do; FERREIRA, R. P.; MILES, J. W. Melhoramento de forrageiras tropicais. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S. de; VALADARES-INGLIS, M. C. (eds.). **Recursos genéticos & melhoramento – plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 549-602.

PERRAKI, A.; CACAS, J. L.; CROWET, J. M.; et al. Plasma membrane localization of *Solanum tuberosum* remorin from group 1, homolog 3 is mediated

by conformational changes in a novel C-terminal anchor and required for the restriction of potato virus X movement. **Plant Physiology**, v. 160, p. 624–637, 2012.

PERRAKI, A.; GRONNIER, J.; GOFF, M. L.; et al. REM1.3 remorin clusters and restricts PVX movement at plasmodesmata. **Plant Cell**, v. 26, n. 5, p. 1988–2001, 2014.

PRIEST, H. D.; FILICHKIN, S. A.; MOCKLER, T. C. Cis-regulatory elements in plant cell signaling. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 12, n. 5, p. 643–649, 2009.

QUEIROGA, V. de P.; LOPES, E. B.; GIRÃO, E. G.; FIGUEIRÊDO NETO, A.; ALBUQUERQUE, E. M. B. (ed. téc.). Palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill): Tecnologias de plantio e utilização. Campina Grande: AREPB, 2020.

RAFFAELE, S.; MONGRAND, S.; GAMAS, P.; et al. Genome-wide annotation of remorins a plant-specific protein family: evolutionary and functional perspectives. **Plant Physiology**, v. 145, p. 593–600, 2007.

REYMOND, P.; KUNZ, B.; PAUL-PLETZER, K.; et al. Cloning of a cDNA encoding a plasma membrane-associated, uronide binding phosphoprotein. **Plant Cell**, v. 8, p. 2265–2276, 1996.

REZVI, H. U. A. et al. Rice and food security: climate change implications and the future prospects for nutritional security. **Food & Energy Security**, v. 12, art. e430, 2023.

ROCHA, J. E. da S. Palma forrageira no Nordeste do Brasil: estado da arte. **Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos**, 2012. p. 1-40

ROTONDI, A.; ROSSI, F.; ASUNIS, C.; CESERACCIO, C. Leaf xeromorphic adaptations of some plants of a coastal Mediterranean macchia ecosystem. **Journal of Mediterranean Ecology**, v. 4, n. 3–4, p. 25–35, 2003.

SADDIQUE, M.; KAMRAN, M.; SHAHBAZ, M. Plant metabolites and regulation under environmental stress. **Cambridge, MA: Academic Press**, 2018.

SANTOS, D. C. dos; FARIAS, I.; LIRA, M. de A.; et al. Manejo e utilização da palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*) em Pernambuco. Recife: IPA, 2006. (Documentos, 30).

SILVA, M. de M. et al. Semiárido brasileiro: um território de três biomas. **Revista AREV**, v. 7, n. 3, 2025.

SILVA, T. et al. Impactos das mudanças climáticas no semiárido brasileiro: desafios para a produção agrícola. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 13, n. 5, p. 2503–2518, 2020.

SOUZA, A. E. F. de et al. Ocorrência e identificação dos agentes etiológicos de doenças em palma forrageira. **Revista Biotemas**, v. 23, n. 3, p. 11–20, set. 2010.

SHARMA, P.; JHA, A. B.; DUBEY, R. S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, Cairo, v. 2012, p. 1-26, 2012.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TUTEJA, N.; SOPORY, S. K. Chemical signaling under abiotic stress environment in plants. **Plant Signaling & Behavior**, v. 3, n. 8, p. 525–536, 2008.

VASCONCELOS, A. G. V. de; LIRA, M. de A.; CAVALCANTI, V. L. B.; SANTOS, M. V. F. dos; WILLADINO, L. Seleção de clones de palma forrageira resistentes à cochonilha do carmin (*Dactylopius spp.*). **Revista Brasileira Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 5, p. 827- 831, 2009.

VÁZQUEZ-SÁNCHEZ, Monserrat; TERRAZAS, Teresa; ARIAS, Salvador; OCHOTERENA, Helga. Molecular phylogeny, origin and taxonomic implications of the tribe Cacteae (Cactaceae). **Systematics and Biodiversity**, v. 11, n. 1, p. 103–116, 2013.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C. R.; WEBER, G. E. B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. p. 1-16 (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 316).

VOLTOLINI, T. V.; MIRANDA, J. E. C.; SANTOS, R. D.; MUNIZ, E. N.; FERNANDES, E. N.; MAGALHÃES, V. M. A. Plantio e manejo da palma forrageira no Semiárido: cartilhas elaboradas conforme a metodologia e-Rural. Brasília, DF: Embrapa, 2016.

WANG, Y.; LI, X.; ZHANG, H.; et al. Comparative proteomics reveals that ZmREM1.3 mediates maize resistance to southern corn rust. **Plant Biotechnology Journal**, v. 17, n. 6, p. 1152–1166, 2019.

WAR, A. R. et al. Mechanisms of plant defense against insect herbivory. **Plant Signaling & Behavior**, v. 7, n. 10, p. 1306–1320, 2012

WASTERNACK, C. Action of jasmonates in plant stress responses and development: applied aspects. **Biotechnology Advances**, v. 32, p. 31–39, 2014.

WATKINS, J. M.; HECHLER, P. J.; MUDAY, G. K. Ethylene-induced flavonol accumulation in guard cells suppresses reactive oxygen species and moderates stomatal aperture. **Plant Physiology**, v. 164, p. 1707–1717, 2014.

WALLACE, Robert S.; DICKIE, Steven L. Systematic implications of chloroplast DNA sequence variation in the Opuntioideae. 2002.