

ALTERAÇÕES NO ELECTROMA DE PLANTAS DE TRIGO CAUSADAS POR *Fusarium graminearum*

FRANCINE ZAIOSC SIMMI¹; PAULO CESAR PAZDIORA; GABRIEL RICARDO AGUILERA DE TOLEDO; LEANDRO JOSÉ DALLAGNOL²; GUSTAVO MAIA SOUZA³

¹Universidade Federal de Pelotas – francinezsimmi@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – paulo.pazdiora@yahoo.com.br;
gabriel.de.toledo@hotmail.com; leandro.dallagnol@ufpel.edu.br

³Universidade Federal de Pelotas – gumaia.gms@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Na interação planta-patógeno, logo após a percepção do patógeno pelos receptores da membrana celular da planta, ocorre uma cascata de sinalização, a qual inclui um rápido efluxo/influxo de diferentes íons, fosforilação de proteínas, produção e acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ROS), produção e acúmulo de fitohormônios, entre outras formas de transdução de sinais (MAFFEI et al., 2007, SHEN et al., 2017).

Imediatamente após a percepção de um patógeno pela planta, ocorre uma elevação do cálcio no citosol (GRANT; MANSFIELD, 1999; NOMURA; SHIINA, 2014). O cálcio é considerado como um provável “gatilho” molecular pós-reconhecimento na interação planta-patógeno. Uma vez que o influxo de cálcio induz a ativação do complexo NADPH-oxidase, gerando o ânion superóxido que são rapidamente convertidos pela ação da superóxido dismutase em H₂O₂. O H₂O₂ pode acumular-se na matriz extracelular ou entrar na célula, causando a despolarização da membrana celular (MAFFEI et al., 2007).

Além disso, o efluxo/influxo de íons que ocorre após a percepção do patógeno pela planta pode estar envolvido no desencadeamento de sinais elétricos nas plantas uma vez que, além dos sinais químicos, as plantas também produzem e transferem sinais elétricos, os quais são capazes de informar células distantes sobre um estímulo local, provocando respostas fisiológicas adequadas a uma infinidade de fatores ambientais (FROMM; LAUTNER, 2007).

Em plantas, diferentes tipos de sinais elétricos já foram reportados. Entre esses, encontram-se o potencial de ação, potencial de variação, potencial elétrico local e o potencial sistêmico (HUBER; BAUERLE, 2016; TOLEDO et al., 2019). No entanto, na maioria das vezes quando se faz o registro das variações de voltagens elétricas em nível de tecido, os diferentes tipos de sinais apresentam sobreposições, criando assim uma teia complexa de informações sistêmicas em que vários sinais elétricos podem ser colocados em camadas uns aos outros no tempo e no espaço (CHOI et al., 2016). E essa complexidade de sinais elétricos em plantas foi denominada como electroma vegetal (SOUZA et al., 2017). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar possíveis alterações no electroma de plantas de trigo (*Triticum aestivum* L.) causadas pela inoculação com o fungo *Fusarium graminearum*.

2. METODOLOGIA

Sementes de trigo da cultivar Tbio Toruk foram semeadas em vasos plásticos com capacidade de 1L contendo solo e as plantas cultivadas em casa de

vegetação. No estádio de antese, as plantas foram transferidas para o laboratório para que se aclimatassem as novas condições de cultivo antes de se dar inicio a realização da coleta dos dados bioelétricos.

O patógeno utilizado no experimento foi o fungo *Fusarium graminearum*, fornecido pelo Laboratório de Interação Planta-Patógeno (LIPP), pertencente ao Departamento de Fitossanidade da Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” da Universidade Federal de Pelotas (RS).

O patógeno foi cultivado em placas de petry contendo meio de cultura do tipo BDA (Batata-Dextrose-Agar) A concentração de conídios foi determinada em câmara de Neubauer, e ajustada para 1×10^5 conídios mL-1. A inoculação foi realizada pelo método de aspersão consiste em pulverizar a suspensão de conídios sobre todas as espiguetas da espiga do trigo até o ponto de pré-escorrimento. A pulverização da suspensão de conídios foi realizada com o auxílio de um atomizador do tipo spray manual (Tecblas, REF: 359 – 60 mL).

A aquisição dos dados bioelétricos foi realizada utilizando o amplificador de sinais MP36 (Biopac Systems, Goleta, CA, EUA). Um dia antes do início da captação dos dados, eletrodos de agulha foram inseridos logo abaixo da espiga das plantas para a aclimatação. Os eletrodos foram inseridos aproximadamente 1 cm de distância um do outro. Os sinais foram adquiridos fixando uma frequência de amostragem de $fs=62,5\text{Hz}$. A captação dos dados foi realizada dentro de um dispositivo de blindagem eletrostática (Gaiola de Faraday) para eliminar os ruídos do ambiente.

A coleta dos dados bioelétricos foi realizada antes da inoculação (controle) e após a inoculação em uma mesma planta. Os dados foram coletados por uma hora antes da inoculação e duas horas após a inoculação. As mensurações bioelétricas foram realizadas em 12 plantas distintas, totalizando 12 medidas completas (antes e depois a inoculação).

Os dados foram analisados por diferentes métodos, buscando caracterizar a dinâmica temporal dos sinais, focando na comparação entre a dinâmica antes e após a aplicação do estímulo. Primeiramente se fez a análise visual das séries temporais e posteriormente, com o intuído de verificar a ocorrência de frequências dominantes, o sinal foi passado do domínio do tempo para o domínio da frequência via Transformada Rápida de Fourier, e também foi realizada a análise de Wavelet, a qual fornece informação no domínio do tempo e da frequência simultaneamente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analizando visualmente as séries temporais, observa-se diferenças qualitativas entre os sinais elétricos antes e depois da inoculação das plantas com *Fusarium graminearum*, este com maior módulo de amplitude de “disparos” da variação de voltagem (ΔV) (Figura 1).

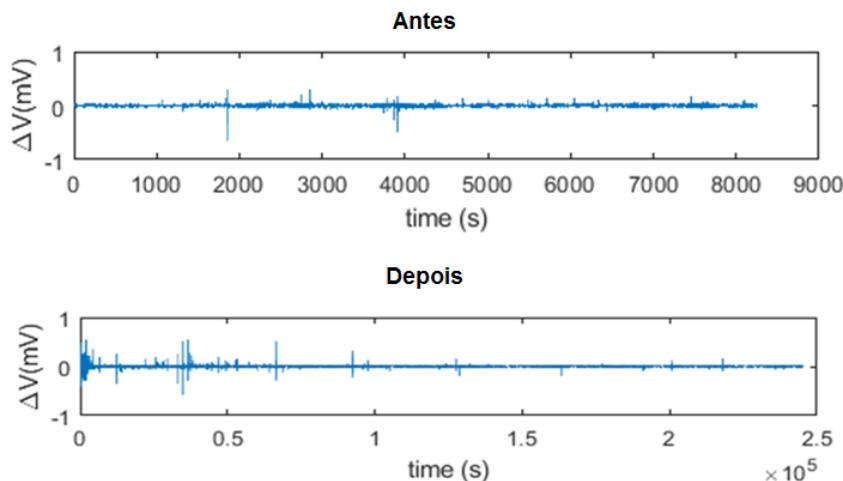


Figura 1. Exemplos de uma série temporal antes e depois da inoculação. Pode-se notar uma atividade elétrica mais intensa após a inoculação com o fungo.

Para a análise da Transformada Rápida de Fourier, quando comparado as séries temporais das plantas antes e após a inoculação, não foram encontradas padrões comuns nas frequências, apresentando aspectos singulares em cada planta, mas com curta duração (Figura 2 a). Já nas análises de Wavelet, pode-se perceber diferenças entre as séries temporais antes e após a inoculação (Figura 2 b).

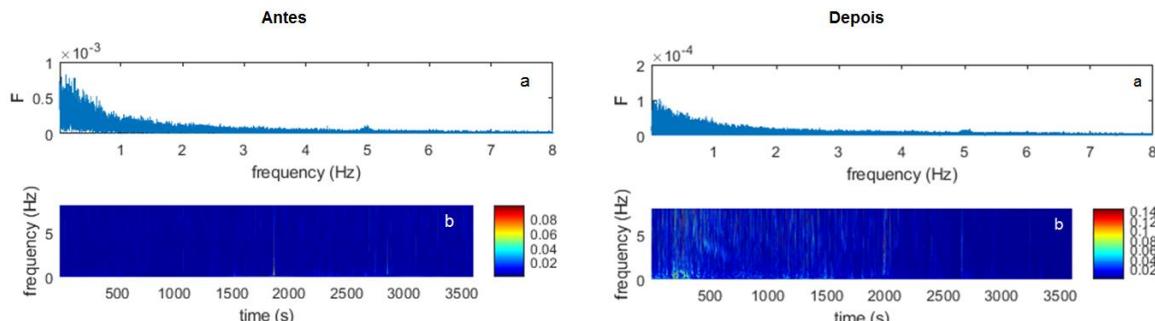


Figura 2. Análise do domínio de frequência. Em **a** estão representadas as análises de Transformada rápida de Fourier antes e após a inoculação das plantas, onde F indica a dominância da frequência (Hz). Em **b** estão representadas as análises de Wavelete, no qual o espectro de cores indica o grau de correlação das frequências no tempo (próximas ao azul escuro = menor correlação, enquanto mais próximo do vermelho = maior correlação).

Dessa forma, os dados coletados durante a realização deste estudo, corroboram com a hipótese inicial de que existe alteração no electroma de plantas após a inoculação dessas com fungo patogênico.

As alterações no electroma encontradas nas análises das séries temporais, podem ser atribuídas ao fato de que, uma das primeiras respostas fisiológicas à percepção de um patógeno pelos receptores da membrana celular da planta é uma explosão de cálcio (Ca^{2+}) (influxo de Ca^{2+}) extracelular no citosol, a qual ocorre poucos minutos após a percepção do patógeno (NOMURA; SHIINA, 2014). Esse influxo de Ca^{2+} induz a abertura de canais de transportadores de membrana (influxo de H^+ , efluxo de K^+ , Cl^- e NO_3^-) que levam a uma alcalinização extracelular e uma despolarização da membrana plasmática (JEWORUTZKI et al., 2010), levando a propagação dos sinais elétricos (CHOI et al., 2016).

4. CONCLUSÕES

Há alteração no electrome das plantas de trigo após a inoculação das espigas com o fungo *Fusarium graminearum*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHOI, W.-G.; HILLEARY, R., SWANSON, S. J., KIM, S. H., GILROY, S. Rapid, Long-Distance Electrical and Calcium Signaling in Plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 67, n. 1, p. 287–307, 2016.

FROMM, J.; LAUTNER, S. Electrical signals and their physiological significance in plants. **Plant, Cell and Environment**, v. 30, n. 3, p. 249–257, 2007.

GRANT, M. MANSFIELD, J. Early events in host-pathogen interactions. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 2, p. 312-319. 1999.

HUBER, A. E.; BAUERLE, T. L. Long-distance plant signaling pathways in response to multiple stressors: The gap in knowledge. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 7, p. 2063–2079, 2016.

JEWORUTZKI, E.; ROELFSEMA, M. R. G.; ANSCHUTZ, U.; KROL, E.; ELZENGA, J. T. M.; FELIX, G.; BOLLER, T.; HEDRICH, R.; BECKER, D. Early signaling through the *Arabidopsis* pattern recognition receptors FLS2 and EFR involves Ca^{2+} -associated opening of plasma membrane anion channels. **The plant journal**, v. 62, p. 367–378, 2010.

MAFFEI, M. E., MITHÖFER, A., BOLAND, W. Before gene expression: early events in plant-insect interaction. **Trends in Plant Science**, v.12, p. 310–316. 2007.

NOMURA, H.; SHIIINA, T. Calcium Signaling in Plant Endosymbiotic Organelles: Mechanism and Role in Physiology. **Molecular Plant**, v. 7, n. 7, p. 1094–1104, 2014.

SHEN, Y., LIU, N., LI, C., WANG, X., XU, X., CHEN, W., XING, G., ZHENG, W. The early response during the interaction of fungal phytopathogen and host plant. **Open Biol**, v. 7, p. 1-8, 2017.

SOUZA, G. M.; FERREIRA A. S.; SARAIVA, G. F.; TOLEDO, G. R. Plant “electrome” can be pushed toward a self-organized critical state by external cues: Evidences from a study with soybean seedlings subject to different environmental conditions. **Plant signaling & behavior**, v. 12, n. 3, p. e1290040, 2017.

TOLEDO, G. R. A.; PARISE, A. G.; SIMMI, F. Z.; COSTA, A. V. L.; SENKO, L. G. S. DEBONO, M. W.; SOUZA, G. M. Plant electrome: the electrical dimension of plant life. **Theor. Exp. Plant Physiol**, v. 31, p. 21-46, 2019.