

EFEITOS DE MEMÓRIA E TOLERÂNCIA CRUZADA NA HOMEOSTASE REDOX DE PLANTAS DE ARROZ (*Oryza sativa* cv. *Nipponbare*) SUBMETIDAS A ESTRESSES SUBSEQUENTES

AUDREY CHRISTINA DO NASCIMENTO¹, YUTCÉLIA CAROLINA GÁLVIZ
FAJARDO²; HELIUR ALVES DE ALMEIDA DELEVATTI³, GUSTAVO MAIA
SOUZA⁴

¹Laboratório de Cognição e Eletrofisiologia Vegetal, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pelotas – audreydadycn@hotmail.com

²Laboratório de Cognição e Eletrofisiologia Vegetal, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pelotas – yutcecarol@gmail.com

⁴Laboratório de Cognição e Eletrofisiologia Vegetal, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pelotas - heliur_bsb@hotmail.com

⁴Laboratório de Cognição e Eletrofisiologia Vegetal, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pelotas – gumaia.gms@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

As plantas são organismos sésseis e devido a isso estão expostas a diferentes estímulos, sejam eles de origem abiótica, como variações de temperatura e de disponibilidade de recurso hídrico, alta salinidade, alta ou baixa luminosidade, além de déficit nutricional; ou ainda, de origem biótica como herbivoria e ataque de patógenos (CRISP et al. 2016; HOSSAIN et al., 2018).

Sabe-se que a maioria das tensões ambientais é transitória, ou seja, após o estresse terminar, as plantas podem se recuperar e redefinir seu metabolismo; no entanto, a recuperação pode não ser completa. Mesmo quando o fator de estresse é imposto por um curto período de tempo, os efeitos podem ser duradouros na planta. Alguns estudos sugerem que o armazenamento de informações sobre um evento de estresse passado beneficia as plantas preparando-as para estímulos recorrentes, ou mesmo para estímulos de outra natureza no futuro, fenômeno denominado de memória em plantas (TREWAVAS, 2003; FROST et al., 2008; GAMIR et al., 2014; CONRATH et al., 2015; HILKER et al., 2015; MAUCH-MANI et al., 2017).

Além disso, na natureza as plantas estão sujeitas a uma série de estímulos estressores consecutivos; assim, uma interseção de respostas metabólicas nas plantas pode ocorrer, o que chamamos de *crosstalk* (WITZANY, 2006). A partir da sobreposição de sinais ocorre um fenômeno de tolerância cruzada a estresses ambientais, onde a exposição a um determinado tipo de estresse confere um aumento na tolerância a outro estresse de diferente natureza (PASTORI & FOYER, 2012; MITTLER, 2006; HOSSAIN et al., 2016).

Um dos processos fundamentais na tolerância ao estresse em plantas é a produção e eliminação de ROS (do inglês *Reactive Oxygen Species*), como o processo central que medeia as respostas de tolerância cruzada entre estresse abiótico e biótico (ATKINSON e URWIN, 2012). As ROS podem ser caracterizadas como moléculas primárias de resposta a estresse e desempenham um duplo papel nas plantas e outros organismos: ao mesmo tempo em que são sugeridas como fundamentais não apenas na defesa, aclimatação e tolerância mas, também, em processos biológicos básicos como proliferação, desenvolvimento e diferenciação; em quantidade acima de uma concentração ótima, são tóxicas para as células e seu acúmulo pode levar à oxidação de membranas, proteínas e DNA, causando estresse oxidativo e morte celular (MARGIS-PINHEIRO et al, 2012; MARINO et al., 2012; SEYBOLD et al., 2014).

No entanto, para evitar a toxicidade causada pelas moléculas de ROS quando produzidas em excesso, a célula vegetal possui uma complexa rede de sistemas antioxidantes constituída por componentes que tem como função a proteção oxidativa de modo a promover a eliminação de ROS e evitar a toxidez celular (ZHU et al., 1997; MITTLER 2002; SHARMA et al., 2012; GILROY et al., 2016). O sistema de eliminação de ROS é composto por enzimas antioxidantes como superóxido dismutases (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidases (APX), glutathione-S-transferase (GST) e glutathione peroxidase (GPX) e compostos não-enzimáticos, entre eles ácido ascórbico (AsA), glutathione reduzida (GSH), α -tocoferol, carotenoides, fenólicos, flavonoides e prolina (SCANDALIOS, 2002; GILL e TUTEJA, 2010; MILLER et al., 2010; GILL et al., 2011; CHOUDHURY et al., 2013; AULER et al., 2017).

Assim, em razão do papel chave das ROS em uma ampla gama de funções fisiológicas em plantas e sua integração em vias metabólicas de sinalização do estresse (MARINO et al., 2012), faz-se necessário estudar os aspectos que estejam relacionados à essas moléculas, a fim de elucidar os mecanismos que envolvem a manutenção de suas concentrações ideais para agirem como sinalizadores sem que haja dano celular. Dessa forma, o trabalho pretende avaliar os efeitos de memória e tolerância cruzada em plantas de arroz (*Oryza sativa* cv. *Nippombare*) submetidas a estresse por alta temperatura seguido de estresse por déficit hídrico (seca), analisando o sistema de homeostase redox.

2. METODOLOGIA

O estudo foi realizado no Laboratório de Cognição e Eletrofisiologia Vegetal (LACEV), do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal (PPGFV) do Departamento de Botânica, Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). As sementes de arroz *Oryza sativa* cv. *Nippombare* utilizadas foram gentilmente cedidas pelo Prof. Dr. Joaquim Albenísio Gomes Silveira, do Departamento de Bioquímica e Biologia Celular da Universidade Federal do Ceará.

As plantas foram cultivadas em condições controladas em sala de crescimento com temperatura de 28 ± 2 °C, umidade relativa de 80%, e fotoperíodo de 10 h de luz com irradiância de $450 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com delineamento experimental casualizado.

Os tratamentos consistiram em plantas de arroz submetidas a 1- déficit hídrico; 2- submetidas a alta temperatura e subsequente déficit hídrico; 3- além da testemunha. Foram analisadas a atividade das enzimas antioxidantes APX, CAT e SOD bem como a produção de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica (MDA) em três períodos de coleta de amostras biológicas: após o primeiro estímulo, após o segundo estímulo e após a recuperação. A condutância estomática foi utilizada como parâmetro de demarcação da condição de seca e de recuperação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estímulo por alta temperatura resultou na ativação das três enzimas antioxidantes avaliadas (APX, CAT e SOD), sugerindo que as mesmas agem em conjunto na resposta a esse estímulo. Como consequência, estas plantas não apresentaram níveis alterados de H_2O_2 ou MDA após a aplicação do estímulo estressor, indicando que foram capazes de alcançar homeostase nos níveis de ROS.

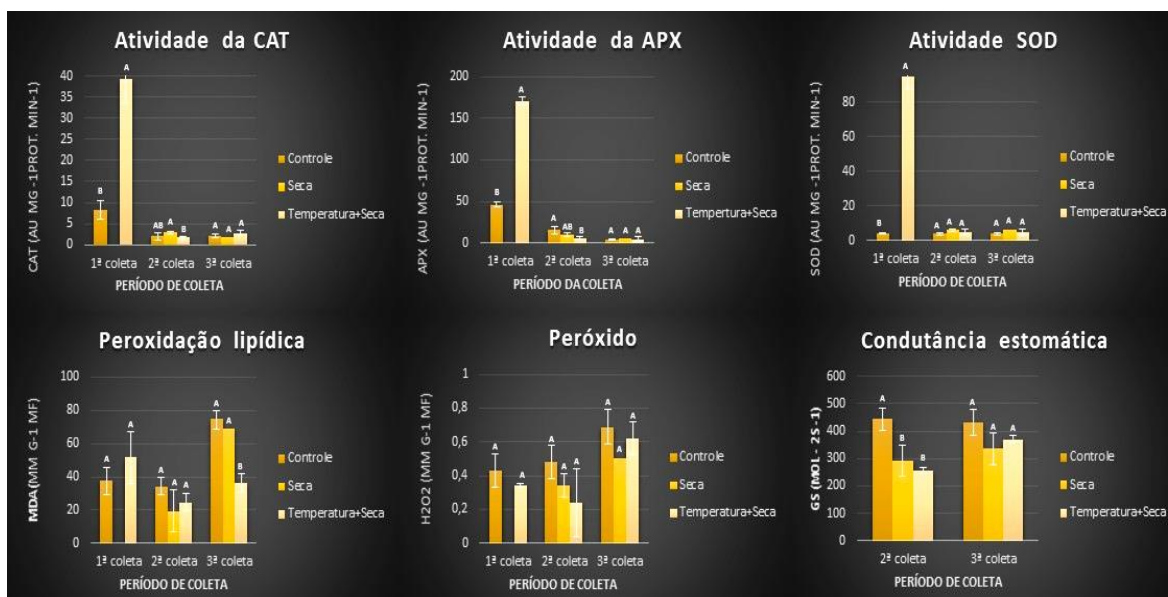


Figura 1 – Atividade das enzimas antioxidantes (APX, CAT e SOD) após o estímulo *priming* (alta temperatura), após déficit hídrico e após a recuperação. As letras maiúsculas indicam diferenças estatísticas ($p \leq 0,05$) entre as diferentes condições de cultivo (controle ou *priming* por alta temperatura) dentro de cada período de coleta.

O monitoramento da condutância estomática após a suspensão de irrigação revelou que as plantas tiveram uma redução da abertura estomática quando submetidas as duas condições de cultivo estressoras (estímulo de alta temperatura seguida de déficit hídrico ou apenas déficit hídrico) em relação à condição controle.

As plantas apresentaram resposta similar frente ao estresse por seca tendo ou não sido submetidas previamente ao estímulo por alta temperatura, no que se refere à atividade das enzimas APX e SOD. A única diferença observada foi na atividade da enzima CAT, a qual foi reduzida nas plantas submetidas ao *Priming* em relação às submetidas apenas a seca.

Apesar disso, plantas submetidas à alta temperatura seguida de seca apresentaram redução no conteúdo de MDA, sugerindo menor dano oxidativo. Estes resultados indicam que houve um efeito de memória do *Priming* nestas plantas, porém, fortalecem a ideia de que a resposta ao estresse por seca pode ser dependente também de outras vias, envolvendo outras enzimas e/ou compostos antioxidantes não analisados no presente estudo, como componentes do ciclo ASC-GSH, monodeidro ascorbato redutase (MDHR), diidro ascorbato redutase (DHAR), glutathione-S-transferase (GST) e glutathione redutase (GR), que trabalham sinergicamente (TRCHOUNIAN et al, 2016).

Após a aplicação dos estímulos, as plantas foram reidratadas e novamente monitoradas com o porômetro a fim de estabelecer o momento em que se encontrassem recuperadas do déficit hídrico. Neste momento, as plantas voltaram a um estado redox semelhante à antes dos estímulos estressores, considerando a atividade das enzimas antioxidantes e ao conteúdo de H_2O_2 . Quanto ao MDA durante a recuperação as plantas que apresentaram um menor nível em relação ao controle foram aquelas submetidas a alta temperatura seguida de seca. Segundo Mittler e Fichman (2019), ondas de ROS na planta poderiam ter o papel de sinal de “alerta” quanto a percepção de uma perturbação local. Assim, esse sinal passaria de local para sistêmico à medida que as ondas de ROS se propagassem de célula a célula. Menores níveis de MDA sugerem que, embora as plantas que receberam ambos os estímulos tenham apresentado altos níveis de ROS durante os eventos

estressores, provavelmente o peróxido de hidrogênio desempenhou seu papel sinalizador, permitindo desencadear respostas com maior rapidez, de modo a garantir uma melhor recuperação das plantas e um menor dano oxidativo aos lipídeos de membrana.

4. CONCLUSÕES

O efeito de memória por tolerância cruzada pôde ser evidenciado pelo fato das plantas submetidas a ambos os estímulos estressores terem, provavelmente, apresentado pior desempenho durante o estresse, mas após a recuperação tiveram condições fisiológicas e metabólicas semelhantes às plantas do grupo controle. Dessa forma, nossos resultados indicam que um efeito de memória não necessariamente vai levar a uma melhor performance das plantas em situações de estresse futuras, mas que diferentes eventos preliminares podem ter diferentes efeitos posteriores nas respostas das plantas às variações ambientais (Galviz et al., 2020).

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AULER, P. A., DO AMARAL, M. N., RODRIGUES, G. DOS S., BENITEZ, L. C., DA MAIA, L. C., SOUZA, G. M., & BRAGA, E. J. B. (2017). *Molecular responses to recurrent drought in two contrasting rice genotypes*. **Planta**, 246(5), 899–914. doi:10.1007/s00425-017-2736-2.
- CAVERZAN, A., BONIFACIO, A., CARVALHO, FEL, ANDRADE, CMB, PASSAIA, G., SCHÜNEMANN, M., ... MARGIS-PINHEIRO, M. (2014). O knockdown de ascorbato peroxidases cloroplásticas revela seu papel regulador na fotossíntese e proteção sob estresse foto-oxidativo no arroz. *Plant Science*, 214, 74-87. doi: 10.1016 / j.plantsci.2013.10.001
- CRISP PA, GANGULY D, EICHTEN SR, BOREVITZ JO, POGSON BJ (2016) Reconsidering plant memory: intersections between stress recovery, RNA turnover, and epigenetics. *Sci Adv* 2:e1501340.
- HOSSAIN, M. A., LAHOZ-MONFORT, J. J., BURGMAN, M. A., BÖHM, M., KUJALA, H., & BLAND, L. M. (2018). **Assessing the vulnerability of freshwater crayfish to climate change**. *Diversity and Distributions*.
- SOUZA G.M., TOLEDO G.R.A., SARAIVA G.F.R. (2018) **Towards Systemic View for Plant Learning: Ecophysiological Perspective**. In: Baluska F., Gagliano M., Witzany G. (eds) *Memory and Learning in Plants. Signaling and Communication in Plants*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75596-0_9
- THELLIER, M., & LÜTTGE, U. (2012). **Plant memory: a tentative model**. *Plant Biology*, 15(1), 1–12. doi:10.1111/j.1438-8677.2012.00674.x.
- TREWAVAS, A. **Aspects of Plant Intelligence**, *Annals of Botany*, Volume 92, Issue 1, July 2003, Pages 1–20, <https://doi.org/10.1093/aob/mcg101>.