

## BIOESTIMULANTE COMO PRIMING DE SEMENTES: EFEITO EM PLANTAS DE SOJA SOB ESTRESSE TÉRMICO EM FASE VEGETATIVA

HELENA CHAVES TASCA<sup>1</sup>; DOUGLAS ANTÔNIO POSSO<sup>2</sup>; RAFAELA NUNES DEVES<sup>3</sup>; NÍCOLAS XAVIER DE CASTRO<sup>4</sup>, ANNA CAROLINA COSTA ARAÚJO<sup>5</sup>, GUSTAVO MAIA SOUZA<sup>6</sup>

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas – hctasca@gmail.com*

<sup>2</sup>*Universidade Federal de Pelotas – douglasposso@hotmail.com*

<sup>3</sup>*Universidade Federal de Pelotas – rafaeladeves@gmail.com*

<sup>4</sup>*Universidade Federal de Pelotas – nicolascastr@hotmail.com*

<sup>5</sup>*Universidade Federal de Pelotas – annacosta5566@gmail.com*

<sup>6</sup>*Universidade Federal de Pelotas – gmsouza@ufpel.edu.br*

### 1. INTRODUÇÃO

Ao longo da evolução, as plantas desenvolveram memória como um mecanismo adaptativo fundamental para enfrentar os desafios ambientais. Essa memória é proveniente da capacidade das plantas de gerar e armazenar informações de experiências ambientais passadas, a fim de usar essa informação na aclimatação a estresses seguintes (GALVIZ et al., 2020). Este processo envolve ajustes metabólicos, sistemas de defesa antioxidante, cascadas de sinalização, redes de transcrição de genes, modificações epigenéticas, alterações na cromatina e ajustes na sinalização hormonal. Todas essas alterações podem ser decisivas para aclimatação e sobrevivência das plantas, através de uma resposta mais rápida e eficaz em eventos subsequentes ao estresse (LIU et al., 2022).

Uma das formas de indução de uma memória é através do efeito priming, termo usado para descrever a resistência aprimorada a estresses abióticos e bióticos (CONRATH et al. 2006). O priming pode ser desencadeado biologicamente, por estímulos ambientais (estresses abióticos e bióticos), ou quimicamente, como baixas doses dos hormônios de defesa ou bioestimulantes, e aplicado em qualquer fase do desenvolvimento das plantas (SINGH e ROBERTS, 2015). Em especial, a aplicação do priming em sementes tem se mostrado uma abordagem promissora, tanto pelo viés funcional, quanto econômico, preparando as sementes a enfrentar condições adversas durante a germinação e, principalmente, podendo gerar memória aos possíveis fatores desencadeadores de estresse futuro, durante o cultivo.

Dentre os estresses ambientais causados por fatores abióticos o excesso de calor é um dos mais limitantes para a produção agrícola em todo o mundo. Considerando um cenário de grave aumento da frequência e intensidade de ondas de calor, é importante desvendar técnicas para minimizar os efeitos desse fator de estresse. Altas temperaturas prejudicam as plantas desde uma redução na fotossíntese e transpiração, produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) levando à dano de membranas celulares e aparato fotossintético (WANG et al., 2019). Estes, em uma última instância, limitam a produtividade dos cultivos.

A busca por métodos que mitiguem os efeitos negativos do estresse térmico é, portanto, de grande importância para a segurança alimentar global. O estudo dessas interações entre priming de sementes, bioestimulantes e a memória adaptativa das plantas abre novas fronteiras na agricultura, oferecendo soluções sustentáveis para os desafios impostos pelas mudanças climáticas. Com isso, o objetivo deste estudo é investigar a eficácia do uso de bioestimulantes como priming de sementes na mitigação de estresse térmico e na aquisição de memória em plantas de soja.

## 2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado entre julho e setembro de 2023, em câmara de crescimento com iluminação de  $700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , umidade relativa do ar de 70%, temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , utilizando sementes de soja [*Glycine max* (L.) Merrill] da cultivar Brasmax Valente. As sementes foram semeadas em potes plásticos com capacidade de 1 L, perfurados na base para garantir a perfeita percolação da água, com substrato comercial. As plantas receberam irrigação alternada, a cada dois dias, com água e solução nutritiva, até atingirem o estádio de desenvolvimento V6.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x2 (três doses de bioestimulante e duas condições do ambiente). As doses de bioestimulante consistiram na dose 0 ml: sem adição de nenhum produto; 2 ml: com aplicação de 2 ml do produto por kg de sementes e 4 ml: com aplicação 4 ml do produto por kg de sementes. A aplicação do produto ocorreu durante a semeadura, de acordo com o fabricante, resultando em sementes recobertas por uma fina e uniforme camada do produto. As condições do ambiente consistiram no controle (C): condições normais de temperatura ao longo de todo crescimento e estresse (E): condições de alta temperatura ( $40^\circ\text{C}$ ) por 48h no estádio V6. Ao chegarem no estádio vegetativo V6, cinco trifólios completamente desenvolvidos, as plantas do grupo E foram transferidas para fitotron com exposição a  $40^\circ\text{C}$  por 48h. Após a exposição ao estresse térmico, as plantas seguiram para a coleta para as análises bioquímicas. Cada tratamento teve 6 repetições, totalizando 36 plantas.

No momento da coleta, as plantas foram avaliadas referentes às trocas gasosas e armazenadas em nitrogênio líquido para posterior análise bioquímica. As medições de trocas gasosas foram realizadas com porômetro fluorometro modelo LI-600, marca LI-COR®. As análises bioquímicas realizadas foram peroxidação lipídica, estimada a partir da concentração de malondialdeído (MDA), de acordo com a metodologia de Heath e Packer (1968); quantificação de peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), de acordo com o método descrito por Loreto e Velikova (2001) e concentração de superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), de acordo com a metodologia de Chaitanya e Naithani (1994).

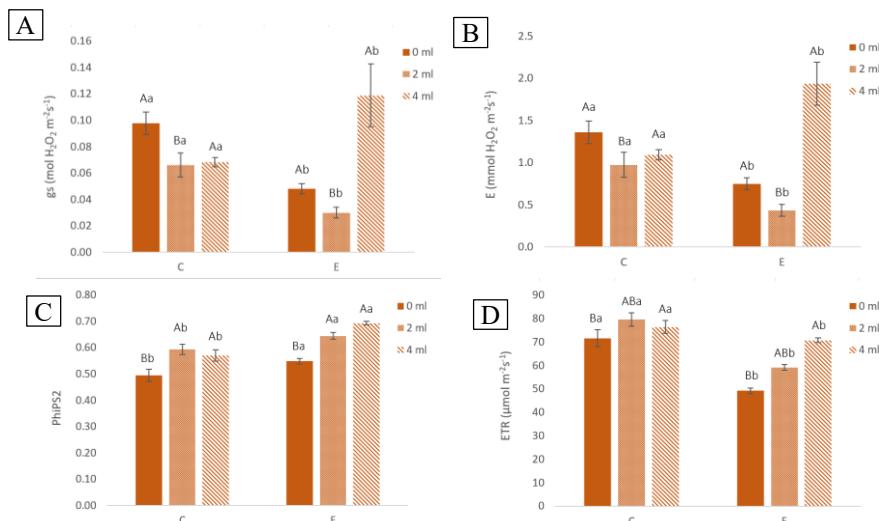
A variação dos atributos funcionais entre as doses do bioestimulante e as condições do ambiente foram avaliadas através de uma Análise de Variância (ANOVA two-way), seguida pela comparação de médias pelo teste de Tukey. As análises foram realizadas no software R versão 3.5.2, com nível de  $p \leq 0.05$ .

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As respostas das plantas referente as trocas gasosas apresentam diferenças significativas entre o ambiente C e E para todas as variáveis (Figura 1). Na condutância estomática ( $gs$ ) e transpiração ( $E$ ), as plantas com dose de 2 ml de priming de bioestimulante apresentaram menores valores tanto em ambiente C quanto E (Figura 1A e 1B). Ainda, podemos destacar que no ambiente E, a dose 4 ml foi 74,13% na condutância estomática e 77,19% na transpiração, comparada à dose 0 ml. Esses resultados podem refletir um mecanismo de resposta que visa garantir uma maior troca gasosa e dissipação de calor por evapotranspiração, permitindo que as plantas mantenham a fotossíntese ativa. No entanto, essa estratégia pode ser arriscada em condições de campo onde associado com o estresse térmico pode ocorrer o déficit hídrico, pois maior transpiração implica maior perda de água.

Quanto a eficiência do fotossistema II (PhiPS2), os menores valores são da dose 0 ml, representando uma tendência de acréscimo na PhiPS2 paralelo ao

aumento da dose no ambiente E (Figura 1C). A taxa de transporte de elétrons (ETR) apresentou esse mesmo comportamento (Figura 1D), porém as plantas da dose 2 ml não diferiram quando comparadas com as outras doses, em ambos os ambientes. Esses resultados sugerem que, especialmente sob estresse, o priming de bioestimulante gera uma memória que tem um efeito protetor sobre o aparato fotossintético quando plantas no estágio vegetativo são submetidas ao estresse térmico por altas temperaturas.



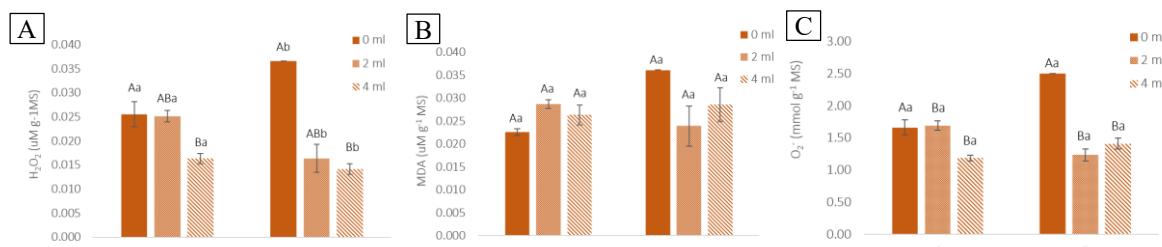
**Figura 1** – Condutância estomática (gs) (A), Transpiração (E) (B), Eficiência do Fotossistema II (PhiPS2) (C) e Taxa de Transporte de Elétrons (ETR) (D) em folhas de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivar Brasmax Valente, submetidas as condições do ambiente controle (C) e estresse (E). Barras representam médias  $\pm$  erro padrão ( $n = 6$ ). Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os tratamentos (0, 2 e 4 ml), enquanto letras minúsculas indicam diferença significativa entre os ambientes (C e E) de acordo com o teste de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

Quanto as análises bioquímicas, a concentração de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) foi a única variável que diferiu entre os ambientes. A concentração de  $H_2O_2$  nas plantas com dose 0 ml foi 35,96% maior no ambiente C e 61,32% maior no ambiente E, quando comparado com a dose 4 ml (Figura 2A). O  $H_2O_2$  é um importante sinalizador de estresse oxidativo, especialmente em condições de estresse ambiental. A aplicação da dose de 4 ml pode ter induzido uma resposta protetora nas plantas, reduzindo a formação de  $H_2O_2$ , possivelmente devido à ativação de mecanismos antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos.

A concentração de malondialdeído (MDA), a qual estima a quantificação de peroxidação lipídica, não apresentou diferenças significativas entre nenhum ambiente ou tratamento (Figura 2B). A ausência de diferenças significativas sugere que, apesar das variações na concentração de  $H_2O_2$ , os níveis de estresse oxidativo não foram severos o suficiente para causar danos substanciais às membranas lipídicas. Isso pode ser um indicativo de que os mecanismos de defesa antioxidante das plantas foram eficientes na detoxificação do excesso de EROs, impedindo a peroxidação lipídica.

A concentração de ânion superóxido ( $O_2^-$ ) não diferiu entre os ambientes, mas apresentou uma maior concentração em plantas com dose 0 ml no ambiente E (Figura 2C). O  $O_2^-$  é uma das principais espécies reativas de oxigênio produzidas em resposta ao estresse térmico, e sua maior concentração nas plantas com dose de 0 ml no ambiente C e E reflete que, sem o tratamento, as plantas estavam mais sujeitas ao estresse oxidativo, resultando na maior produção de superóxido. Nas doses de 2 ml e 4 ml, as concentrações de  $O_2^-$  foram menores, sugerindo que o

tratamento ajudou a mitigar a produção excessiva de  $O_2^-$ , podendo ser através da ativação da superóxido dismutase (SOD), que converte  $O_2^-$  em  $H_2O_2$  principalmente, ou através do acúmulo de antioxidantes não enzimáticos.



**Figura 2** – Peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (A), Malondialdeído (MDA) (B) e concentração de superóxido ( $O_2^-$ ) (C) em folhas de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) cultivar Brasmax Valente, submetidas as condições do ambiente de controle (C) e estresse (E). Barras representam médias  $\pm$  erro padrão ( $n = 6$ ). Letras maiúsculas indicam diferença significativa entre os tratamentos (0, 2 e 4 ml), enquanto letras minúsculas indicam diferença significativa entre os ambientes (C e E) de acordo com o teste de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

#### 4. CONCLUSÕES

A aplicação de bioestimulantes como priming de sementes mostrou-se promissor na mitigação do estresse térmico em plantas de soja, preservando a função fotossintética e provavelmente induzindo mecanismos antioxidantes. Isso resultou em menores concentrações de espécies reativas de oxigênio, protegendo as plantas de danos oxidativos. Esses resultados sugerem o potencial dos bioestimulantes em aumentar a resiliência das plantas diante de condições adversas, especialmente o excesso de temperatura, oferecendo alternativas sustentáveis para a agricultura em um cenário de mudanças climáticas.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CONRATH, U. et al. Priming: getting ready for battle. **Molecular plant-microbe interactions**, v. 19, n. 10, p. 1062-1071, 2006.
- GALVIZ, Y. C. F.; RIBEIRO, R. V.; SOUZA, G. M. Yes, plants do have memory. **Theoretical and experimental plant physiology**, v. 32, n. 3, p. 195-202, 2020.
- HEATH, R. L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, p. 189–198, 1968.
- LI, C. et al. Hypoxia tolerance and adaptation of anaerobic respiration to hypoxia stress in two *Malus* species. **Scientia Horticulturae**, v. 124, n. 2, p. 274-279, 2010.
- LIU, H.; ABLE, A. J.; ABLE, J. A. Priming crops for the future: Rewiring stress memory. **Trends in plant science**, v. 27, n. 7, p. 699-716, 2022.
- LORETO, F.; VELIKOVA, V. Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. **Plant Physiology**, v. 127, n. 4, p. 1781-1787, 2001.
- SINGH, P.; ROBERTS, M. R. Keeping it in the family: transgenerational memories of plant defence. **CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources**, v. 10, 2015.
- WANG, X. et al. Enhanced photocatalytic performance of Ag/TiO<sub>2</sub> nanohybrid sensitized by black phosphorus nanosheets in visible and near-infrared light. **Journal of colloid and interface science**, v. 534, p. 1-11, 2019.