

IMPACTO DA LUZ NO ELETROMA DA PLANTA: ANÁLISE DA COMPLEXIDADE, SINALIZAÇÃO ELÉTRICA E COMPORTAMENTO CAÓTICO

JOÃO GABRIEL MOREIRA DE SOUZA¹; ADRYA VANESSA LIRA COSTA²;
GABRIELA NIEMEYER REISSIG³; THIAGO FRANCISCO DE CARVALHO
OLIVEIRA⁴; DOUGLAS ANTÔNIO POSSO⁵; GUSTAVO MAIA SOUZA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – joamoreirasouza99@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – adryalira@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – gabriela.niemeyer.reissig@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – fthicar@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – douglasposso@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – gumaia.gms@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

As plantas são organismos sésseis, o que as impede de fugir de situações prejudiciais. Desta forma, sistemas de sinalização com resposta a vários estímulos físico-químicos são necessários para a sobrevivência nesta condição, possibilitando-las sentir e reagir aos mesmos (KOLLIST et al., 2019), em especial a situações estressantes bióticas (ataque de herbívoros e infecções de patógenos) ou abióticas (chuvas intensas, frio ou calor intenso) (CHEUNG et al., 2020; KOLLIST et al., 2019) que podem ocorrer de forma lenta (chuvas por vários dias) ou abrupta (mudança na luminosidade pela passagem de nuvens) (KOLLIST et al., 2019, DEVIREDDY et al., 2020) e com a impossibilidade de fugir, as plantas tornaram-se organismos modulares para que a perda de suas partes (folha, caule, raiz, galhos, etc.) não afete a capacidade sensorial da mesma, por isso sua sensibilização não é simultânea e centralizada (MITTLER e BLUMWALD, 2010; BALFAGÓN et al., 2019).

Considerando as diversas situações que a planta experiencia no ambiente é compreensível que a mesma tenha diversas respostas mediadas por processos de sinalização a estes estímulos, sejam bióticos ou abióticos (SUZUKI et al., 2014; DEVIREDDY et al., 2020). Entretanto, os estudos sobre estresse em plantas tendem a focar em apenas uma resposta definida por um estímulo respectivo o que contraria a realidade dos diversos estresses enfrentados pelo organismo, desta forma combinações de estresses devem engendrar combinações de sinalizações que resultarão em respostas adaptadas mais complexas (SUZUKI et al., 2014; BALFAGÓN et al., 2019), não sendo previstas em estudos controlados para cada estresse individualmente (BALFAGÓN et al., 2019; ZANDALINAS et al., 2020).

A base do presente estudo utilizou diferentes estímulos, como luz, calor e ferimento (*wounding*) em dois experimentos, um sendo com ensaios destes estímulos individualmente e outro sendo ensaios dos estímulos combinados, observando como estes afetam a sinalização sistêmica hidráulica e elétrica. Entretanto, neste resumo apresentado, em particular, será focado apenas no experimento do efeito da luz no eletroma da planta. O eletroma da planta representa toda dinâmica e complexidade da sinalização elétrica pelo organismo (de Loof 2016; Souza et al. 2017). A relevância deste estudo se dá pela escassez

de experimentos na literatura sobre estresses combinados e as respostas aos mesmos, em especial plantas de cultivo como feijão e soja.

2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Cognição e Eletrofisiologia Vegetal (LACEV), utilizando como planta modelo o feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar IAC Netuno. Esta cultivar foi desenvolvida pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) no ano de 2015, sendo muito cultivada nos estados da Bahia, Paraná e Santa Catarina (IAC, 2016).

Os processos de germinação, crescimento e desenvolvimento das plantas e aquisição de dados foram realizados em uma sala climatizada com temperatura programada de $\sim 25^{\circ}\text{C}$. A germinação das sementes de feijão preto foi feita em um gerbox forrado com o papel germitest umedecido com água destilada. Quando as raízes mediram de 1 a 2 cm de comprimento, as plântulas foram transplantadas em copos de poliestireno de 380 ml (perfurados na base) contendo 450 g de areia lavada e esterilizada e mantidas em um sistema de iluminação customizado composto por lâmpadas LEDs fornecendo densidade de fluxo fotossinteticamente ativo de aproximadamente $350 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, medidos com o sensor par do IRGA. O sistema de iluminação era ligado a um temporizador que define o ciclo de luz para 14 horas de luz/10 horas de escuro. A umidade relativa do ar foi mantida em torno de 74% (padronizado conforme outros trabalhos conduzidos no LACEV), e a temperatura em $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ monitoradas pelos sensores do ZimProbe. Durante todo o experimento, regavam com água destilada ao longo da semana (40 ml) e 3 dias da semana com solução nutritiva total de Hoagland e Arnon (20 ml) (Hoagland; Arnon, 1950). As plantas foram mantidas nestas condições até o segundo trifólio estar totalmente expandido.

O experimento I a ser apresentado tratou da avaliação da dinâmica dos sinais sistêmicos induzidos por estímulos simples, avaliando se após a aplicação dos estímulos simples de luminosidade, as alterações nos sistemas elétricos e hidráulicos, e as respostas oxidativas, diferem entre antes e depois do estímulo.

O folíolo central do segundo trifólio foi o local escolhido para a aplicação dos estímulos. As medições elétricas foram realizadas em uma gaiola de Faraday para evitar interferências eletromagnéticas.

O estímulo de alta luminosidade (HL) foi dividido em dois níveis: 5 minutos de duração de luz (HL 5) e 10 minutos de duração de luz (HL 10) e medidas em plantas não estimuladas (controle) também foram obtidas. A aplicação foi feita utilizando uma LED (COB 50w 3000-3500K) adaptada para que o foco de irradiação fosse apenas no local escolhido, tendo uma distância de 2 cm entre a fonte de luz e o folíolo apresentando intensidade luminosa de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ conforme medidas do sensor PAR do IRGA, e sendo feito a medição das 10-14h. O mesmo procedimento foi feito nas plantas controle.

As medidas bioelétricas foram realizadas a partir do método de eletrofotograma (EFG) utilizando o sistema de aquisição de dados bioelétricos da Biopac Student Lab System, modelo MP-36 (Goleta, Califórnia, USA) de 4 canais de alta impedância ($10\text{G}\Omega$), cabos SSL2, eletrodos de agulha em aço inox com 12 mm de espessura (modelo EL-452). Um par de eletrodos, com uma distância de 1 cm um do outro, foi inserido no pecíolo tanto das folhas locais quanto das folhas sistêmicas. Foi utilizado o software BSL-Pro do MP-36, com a função eletrocardiograma, para a aquisição, amplificação, filtragem e conversão dos

sinais. As medições do eletroma foram feitas em 2 plantas, sendo 1 tratada e 1 controle, com duração de 2 horas divididas em 1 hora pré-estímulo e 1 hora pós-estímulo e inserindo dois eletrodos para captar os estímulos locais e estímulos sistêmicos. Para a aclimação das plantas aos aparelhos, um período de 24 horas posterior ao experimento foi utilizado.

A análise das séries temporais utilizou dos métodos Transformada rápida de Fourier (FFT), Análise de Flutuação Destendida (DFA), Função de densidade espectral de potencial (PSD), Potência média da Banda (ABP), Entropia aproximada (ApEn) e técnicas de *machine learning* para classificação de sinais.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao analisar os dados do estudo pode se observar que a luz teve menos impacto que os outros estímulos, entretanto ainda sim é importante observar os dados apresentados quando se analisa isoladamente como o estímulo da luz alterou o eletroma do feijão.

O estímulo de 5 minutos não causou mudanças na complexidade (ApEn), memória de longo prazo (DFA) e baixas frequências (Baixa e Delta). No entanto, uma diminuição no nível caótico da série foi encontrada durante o estímulo. Também encontramos uma redução na energia das frequências Theta que durou mais de 30 minutos após o término da aplicação de estímulo. Para o estímulo de 10 minutos, encontramos um aumento da complexidade durante a aplicação e uma correlação mais significativa ao longo da medição. Por outro lado, as frequências obtiveram ganho de energia para todas as bandas analisadas, com destaque para as frequências Theta, com maior ganho. Os dados mostraram que o tempo de exposição à luz causa resultados diferentes, e essa mudança pode ter vários fatores. Esse comportamento é suportado pela alteração de baixas frequências, o que demonstra que todo o aparelho fisiológico por trás do eletroma pode ter sido modificado devido ao estímulo leve.

4. CONCLUSÕES

O estímulo de luz (HL 5 e 10) não desencadeou uma mudança no eletroma que indicasse uma condição de estresse nas folhas locais e sistêmicas. De acordo com Zandalinas et al. (2020), que avaliou a resposta estomática sistêmica em plantas de soja, enquanto para *Arabidopsis* uma intensidade de luz de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ é um estresse luminoso que exigiria uma resposta estomática imediata (por exemplo, DEVIREDDY et al., 2018, BALFAGÓN et al. 2019) e exigiria abertura estomática para aumentar a fotossíntese em condições de boa hidratação. Portanto conclui se que mesmo havendo modificações leves e representativas no eletroma da planta, elas não foram estímulos estressantes em relação ao calor e corte, havendo pouco distúrbio do sistema de sinalização da planta.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

COSTA, Á. V. L. INTEGRAÇÃO DE SINAIS SISTÊMICOS INDUZIDOS POR ESTÍMULOS ABIÓTICOS SIMPLES E COMBINADOS EM PLANTAS DE FEIJÃO. p. 74, [s.d.].

De Loof A. The cell's self-generated "electrome": The biophysical essence of the immaterial dimension of Life? Commun Integr Biol. 2016 Jul 1;9(5):e1197446. doi: 10.1080/19420889.2016.1197446. PMID: 27829975; PMCID: PMC5100658.

KOLLIST, H. et al. Rapid responses to abiotic stress: Priming the landscape for the signal transduction network. Trends in Plant Science, v. 24, n. 1, p. 25-37, 2019.

DEVIREDDY, A. R. et al. Coordinating the overall stomatal response of plants: rapid leaf-to-leaf communication during light stress. Science Signaling, v. 11, p. 1126.2018.

DEVIREDDY, A. et al. Coordinated and rapid whole-plant systemic stomatal responses. New Phytologist, v. 225, p. 21-25, 2020.

MITTLER, R.; BLUMWALD, E. Genetic engineering for modern agriculture: challenges and perspective. Annu. Rev. Plant Biol., v. 61, p. 443-462, 2010.

BALFAGÓN, D. et al. Jasmonic acid is required for plant acclimation to a combination of high light and heat stress. Plant Physiology, v. 181, p. 1668-1682, 2019

SUZUKI, N. et al. Abiotic and biotic stress combinations. New Phytol., v. 203, p. 32-43, 2014.

ZANDALINAS, S. I. et al. Systemic signaling during abiotic stress combination in plants. PNAS, v. 117, p. 13810-13820, 2020.