



Amanda Ávila Cardoso ¹
Thiago Corrêa de Souza ²
Raphael Guarda Cavalcante ³

Plantas de soja sob alagamento sofrem com a falta de água e com o surgimento de embolismo no xilema?

Resumo

Vários fatores interferem no bom funcionamento das plantas. As mudanças climáticas, cada vez mais contrastantes, viabilizam que hajam déficits em elementos essenciais para a bioquímica vegetal. Todavia, contraintuitivamente, não somente climas secos afetam sua homeostase. Sob alagamento, vegetais também sofrem com a falta de água, por um fenômeno denominado embolismo. Logo, o objetivo da pesquisa foi de analisar dois genótipos da planta de soja, e como se comportavam quando submetidos ao alagamento. As plantas, de ambos os genótipos, foram cultivadas e, posteriormente, submetidas ao alagamento. Após o tratamento, analisou-se o comportamento fisiológico. Os dados coletados foram estatisticamente analisados e dissertados. Em um primeiro momento, observou-se que a taxa fotossintética da planta de genótipo tolerante se manteve estável em relação a sensível, após alagamento. O potencial hídrico manteve-se em um padrão quase linear para ambos os genótipos, com poucas variações, e se recuperando gradativamente após o alagamento. Para analisar se os potenciais hídricos medidos seriam capazes de induzir o embolismo à planta, utilizou-se os dados obtidos em um experimento com soja na Austrália, realizado em condições climáticas similares. Foi observado que, na soja tolerante, o embolismo ocorreu em potenciais hídricos mais elevados em relação aos outros dois indivíduos. Ainda, analisou-se os danos foliares, e notou-se que as plantas sensíveis ao alagamento apresentaram maiores danos e recuperação demorada, diferentemente da planta de genótipo tolerante que, mesmo com taxa de danos foliares consideráveis, apresentou uma exponencial recuperação após o alagamento. Portanto, conclui-se que, possivelmente, plantas sensíveis sofreram mais com o embolismo do xilema.

Palavras-chave: Fisiologia Vegetal; Biotecnologia Ambiental; Biotecnologia Vegetal; Agronomia.

¹Prof.^a Dr.^a Amanda Ávila Cardoso, North Carolina State University – Campus North, Department of Crop and Soil Sciences, aavilac@ncsu.edu

²Prof. Dr. Thiago Corrêa de Souza, Universidade Federal de Alfenas – Instituto de Ciências da Natureza - ICN, thiagonepre@hotmail.com

³Raphael Guarda Cavalcante, aluno do Curso de graduação em Biotecnologia, Universidade Federal de Alfenas, Instituto de Ciências da Natureza - ICN, raphael.cavalcante@sou.unifal-mg.edu.br

INTRODUÇÃO

O baixo teor de água e consequentemente baixo potencial hídrico (Ψ_w) nos tecidos vegetais é um dos fatores mais nocivos ao funcionamento das plantas (Sevanto et al., 2014; Adams et al., 2017; Choat et al., 2018). Sob baixos Ψ_w , uma série de eventos fisiológicos e bioquímicos acontecem nos tecidos das plantas, dentre eles a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), com consequente dano a moléculas e estruturas orgânicos como enzimas, componentes da maquinaria fotossintética (indicado pela redução no rendimento quântico máximo do fotossistema II) e membranas (indicado pelo aumento na peroxidação lipídica) (Jiang and Zhang, 2002). Adicionalmente, quando as plantas são expostas a baixos Ψ_w , a tensão gerada no xilema pode exceder um limite a partir do qual bolhas de ar são puxadas para dentro do xilema, rapidamente se expandindo e bloqueando o fluxo de água no conduto (i.e. embolismo; Tyree and Sperry, 1989). O embolismo induzido, por sua vez, reduz as condutâncias hidráulicas, negativamente afetando a fotossíntese e o crescimento da planta como um todo, e em última instância, tem sido associado a mortalidade de plantas (Sack and Holbrook, 2006; Brodribb et al., 2007; Adams et al., 2017; Choat et al., 2018; Cardoso et al., 2020).

O déficit hídrico do solo (comumente conhecido como seca) corresponde ao principal estresse que resulta na redução do Ψ_w da planta (Choat et al., 2018; Cardoso et al., 2020). No entanto, qualquer evento que afete o funcionamento das raízes (principal órgão responsável pela absorção de água do solo) pode potencialmente reduzir o Ψ_w dos tecidos vegetais. Inicialmente, é contraintuitivo pensar que plantas que contenham suas raízes totalmente submersas (i.e., alagamento do solo) possam sofrer com a falta de água em seus tecidos. Todavia, estudos recentes mostram a redução do Ψ_w de folhas e caules quando as plantas estão alagadas (Toral-Juárez et al., 2021). Isso acontece uma vez que a diminuição do oxigênio na rizosfera induz um aumento na fermentação alcóolica e láctica nas raízes e consequente acidificação celular, resultando em última instância na redução da atividade de proteínas de membrana de transporte de água chamadas aquaporinas

Realização



Apoio



(Aroca et al., 2012; Bailey-Serres and Colmer, 2014).

Embora alguns trabalhos mostrem reduções no Ψ_w nas folhas de algumas espécies sob alagamento (Toral-Juárez et al., 2021), não se sabe ao certo quais os menores Ψ_w que podem ser alcançados em plantas sob alagamento e se eles seriam suficientemente baixos para induzir o embolismo no xilema em folhas e caules. Para realização desse projeto, selecionou-se a soja como planta modelo por ser uma cultura herbácea muito cultivada no sul do Brasil em solos propensos ao alagamento (Ribas et al., 2021). Esse trabalho se torna ainda mais relevante do ponto de vista ambiental, uma vez que são esperados aumentos na intensidade e frequência de eventos de alagamento em algumas regiões do planeta com as mudanças climáticas ambientais (IPCC, 2018). Esse projeto faz parte do projeto “mãe” DESVENDANDO A ESTRUTURA E O FUNCIONAMENTO HIDRÁULICO DAS PLANTAS, submetido e aprovado pela Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação de acordo com edital PRPPG 09/2020.

No projeto mencionado, objetivou-se o entendimento do funcionamento das plantas com respeito ao movimento de água no xilema (e potencialmente embolismo) sob condições de seca, quando o potencial hídrico das plantas é reduzido a níveis drásticos. Dessa forma, os objetivos desse projeto foram (i) avaliar a velocidade e a intensidade nas quedas das taxas de trocas gasosas, incluindo fotossíntese, (ii) quantificar a faixa mínima de Ψ_w observada em plantas de soja durante e após o alagamento, (iii) verificar se o Ψ_w mínimo observado durante e/ou após o alagamento é compatível com Ψ_w limiar para indução do embolismo em folhas e caules de soja, e (iv) verificar se os baixos Ψ_w observados durante e/ou após o alagamento é suficiente para induzir mortalidade em folhas e/ou em plantas inteiras de soja.

METODOLOGIA

Todo o experimento foi realizado nas casas de vegetação do campus Santa Clara da UNIFAL-MG. Plantas de soja foram cultivadas em vermiculita em potes de 5 L e irrigadas todos os dias com solução nutritiva de Hoagland 25% até a capacidade de

Realização



Apoio



campo. Foram cultivadas por 60 dias nas casas de vegetação com luz e temperatura naturais. Aos 60 dias, foram submetidas ao alagamento, colocando potes sem furos por baixo do pote contendo as plantas e irrigadas até a formação de uma lâmina de 2 cm de altura depois do solo (Da-Silva and do Amarante, 2020). Os potes foram cobertos com isopor envolto em papel alumínio para evitar crescimento de algas e oxigenação da solução. Durante o alagamento, as plantas foram mantidas sob irrigação com solução nutritiva de Hoagland 25% por 15 dias para manutenção do nível da água. Depois de 15 dias de alagamento, o excesso de água será drenado por 15 dias adicionais. Todas as medições foram realizadas a cada 3 dias durante o alagamento e pós-alagamento.

As trocas gasosas foram obtidas usando o sistema de trocas gasosas IRGA (LI-6400XT; LI-COR Inc., Lincoln, NE, EUA), realizadas entre as 08:00 e 10:00 h em folhas totalmente expandidas, sob radiação fotossinteticamente ativa (RFA) de $1000 \mu\text{mol f\u00f4tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, 25°C $400 \mu\text{mol de CO}_2 \text{ mol}^{-1} \text{ ar}$ e déficit de pressão de vapor entre 1,0 e 2,0 kPa.

As medições de potencial hídrico foliar foram realizadas na antemãhã (04:30 – 05:30 h) e ao meio-dia. As curvas de resistência do xilema ao embolismo das plantas de soja foram realizadas de acordo com o método óptico utilizando plantas de soja não estressadas previamente (Brodrigg et al., 2016). Anteriormente ao experimento, todas as plantas foram hidratadas na noite anterior para garantir a reidratação máxima de seus tecidos. Na manhã seguinte as plantas foram levadas ao laboratório, removidas do pote e suas raízes lavadas. Folhas e caules foram posicionados sob uma lupa (M205A, Leica Microsystems, Heerbrugg, Suíça) e terá o desenvolvimento da cavitação gravado por meio de fotos que foram tiradas a cada 2 min, usando-se uma câmera montada sobre a lupa para a construção da curva tempo versus área cavitada. O potencial hídrico foi medido nas folhas adjacentes a cada 6 h, usando-se uma bomba de Scholander para a construção da curva tempo versus potencial hídrico. As imagens foram analisadas quantificando-se as diferenças na transmissão de luz através da folha utilizando um método de subtração de imagens do ImageJ. Para analisar a relação entre área cavitada versus potencial hídrico, ambas as equações anteriores foram unificadas. O potencial hídrico responsável por 12%, 50% e 88% dos eventos de embolismo na folha e no caule

Realização

Apoio

foi então obtido utilizando as curvas de vulnerabilidade óptica.

O experimento foi realizado em delineamento experimental inteiramente casualizado com dois tratamentos (controle e alagado/pós-alagado) e seis plantas por tratamento (n = 6). Para cada tempo de análise, os parâmetros das plantas do controle serão comparados com o das plantas alagadas/pós-alagadas utilizando-se o teste t de Student ($P < 0,05$), caso os dados sejam normais e homocedásticos, ou utilizando o teste de Mann-Whitney ($P < 0,05$), caso os dados não sejam normais ou homocedásticos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Plantas controle de ambos genótipos apresentaram valores de fotossíntese semelhantes (c. 20 a 25 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Fig. 1). Assim como comumente observado em experimentos de casa de vegetação cujas condições de luz, temperatura e umidade relativa não são totalmente controladas, as trocas gasosas das plantas controle variaram ao longo do experimento dependendo das condições ambientais externas às quais as plantas estavam submetidas. Fotossíntese de plantas tolerante alagadas diminuíram em relação ao controle apenas após 12 dias de alagamento, o que foi mantido aos 18 dias de alagamento (Fig. 1A e C). Nas plantas sensível, as quedas em fotossíntese das plantas alagadas em relação ao controle se deu após apenas seis dias (Fig. 1B e C). A fotossíntese das plantas alagadas de ambos os genótipos retornou a valores semelhantes ao controle apenas 12 dias após a reoxigenação (Fig. 1A-C).

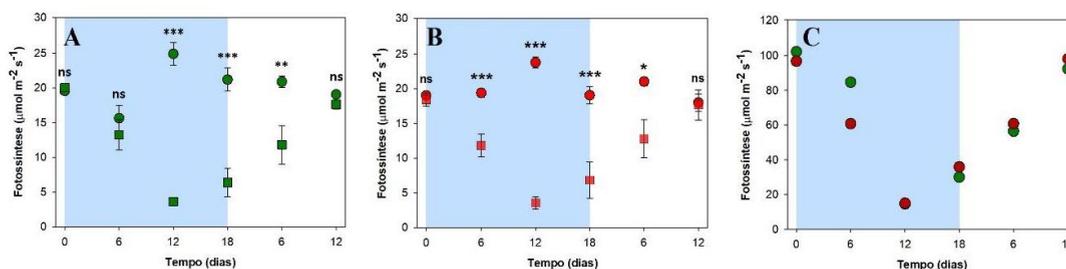


Figura 1. (A) Fotossíntese de genótipos de soja tolerante e (B) da sensível ao alagamento

Realização

Apoio

e (C) valores relativos de fotossíntese de plantas alagadas em relação ao controle (%). As regiões em azul indicam o período de alagamento. Dados em verde referem-se ao genótipo tolerante (PelBR 15-7015c), em vermelho ao genótipo sensível (PelBR 15-7060), círculos às plantas controle, quadrados às plantas alagadas. Dados são médias ($n = 6$) \pm erro padrão. As médias de plantas alagadas e controle foram comparadas pelo teste *t* de Student (ns não significativo, * $P > 0.05$, ** $P > 0.01$, *** $P > 0.001$).

Nas plantas controle de ambos genótipos é visível um padrão quase linear com variações mínimas no potencial hídrico foliar (Fig. 2). Em contrapartida, nota-se que, durante o período de alagamento, ambos os genótipos apresentaram reduções no potencial hídrico, se diferenciando do controle. Plantas do genótipo tolerante apresentaram, no entanto, potenciais hídricos mais negativos durante o alagamento, atingindo valores menores do que -1.2 MPa, enquanto plantas do genótipo sensível apresentaram sempre valores maiores do que -1.0 MPa, mesmo após 18 dias de alagamento. Após a retirada do alagamento, houve em ambos os genótipos a recuperação gradativa do potencial hídrico até valores próximos (mas ainda sim menores estatisticamente) do controle.

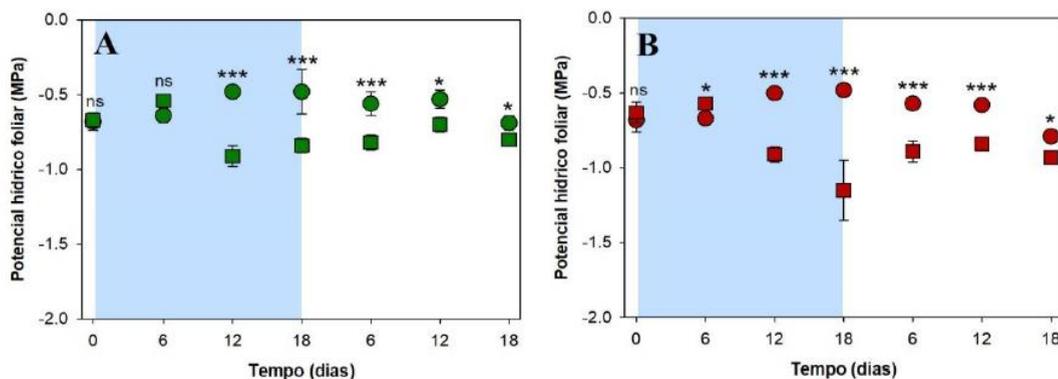


Figura 2. (A) Potencial hídrico foliar dos genótipos de soja tolerante e (B) sensível ao alagamento. As regiões em azul consistem no tempo de alagamento das mudas. As regiões em azul indicam o período de alagamento. Dados em verde referem-se ao genótipo tolerante (PelBR 15-7015c), em vermelho ao genótipo sensível (PelBR 15-7060), círculos às plantas controle, quadrados às plantas alagadas. Dados são médias ($n =$

6) \pm erro padrão. As médias de plantas alagadas e controle foram comparadas pelo teste *t* de Student (ns não significativo, * $P > 0.05$, ** $P > 0.01$, *** $P > 0.001$).

Para verificar se os potenciais hídricos atingidos pelas plantas de soja durante e após alagamento seriam suficientes para induzir o embolismo, seria importante que plantas de ambos os genótipos fossem avaliadas e curvas de embolismo ao longo da desidratação foliar fossem realizadas. No entanto, a coleta desses dados para plantas de ambos os genótipos não foi possível devido às limitações de equipamentos e à saída da prof. Amanda Cardoso da UNIFAL-MG para ingresso como professora na Universidade Estadual da Carolina do Norte nos EUA no final de abril de 2022. Assim, decidiu-se exibir resultados obtidos com plantas de soja cultivadas na Austrália em 2017 em condições ambientais similares às plantas de ambos os genótipos crescidas na UNIFAL-MG. Os resultados obtidos na Austrália mostram que plantas de soja começam a exibir embolismo a partir de -1.0 MPa. No entanto, há variação entre os três indivíduos avaliados, e o indivíduo mais resistente começou a exibir embolismo na folha a partir de -1.7 MPa. Isso mostra como as folhas de soja podem ser diferentes entre si (variação intra-específica) e que ao longo da copa diferentes folhas podem ter diferentes níveis de embolismo para o mesmo potencial hídrico. De forma geral, o potencial hídrico associado a 50% de embolismo na folha (P50) para as três repetições foi de -1.30 MPa.

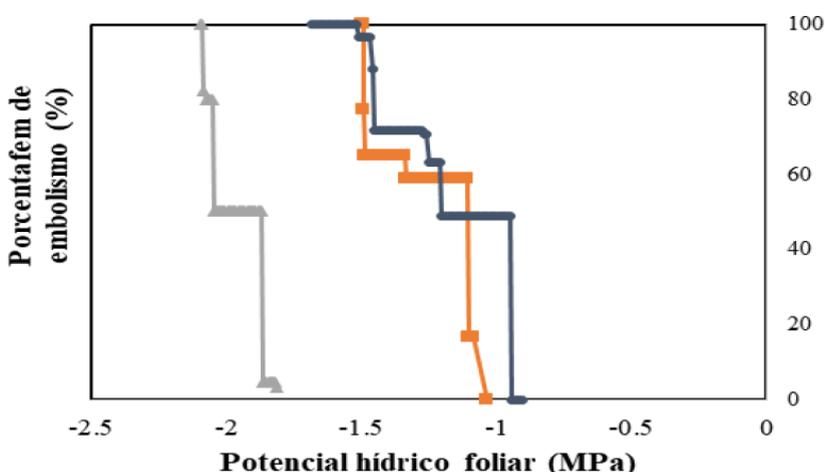


Figura 3. Acúmulo de embolismo durante desidratação em folhas de soja (n = 3)

cultivada na Austrália (sob 25°C e luz natural) em 2017.

A partir de 12 dias de alagamento, plantas de ambos os genótipos começaram a apresentar folhas com danos (Fig. 4). Os danos nas folhas observados no genótipo tolerante durante o período de alagamento são notáveis, de tendência exponencial, todavia, com recuperação significativamente rápida (Fig. 4A). De forma contrária, observa-se para o genótipo sensível, uma taxa similar de folhas com danos (c. 20%), que se inicia antes e apresenta uma recuperação lenta ao longo dos dias após o final do alagamento (Fig. 4B). O aumento de folhas com danos nas plantas controle de ambos os genótipos acontece uma vez que as plantas atingiram avançado estágio reprodutivo nesse período.

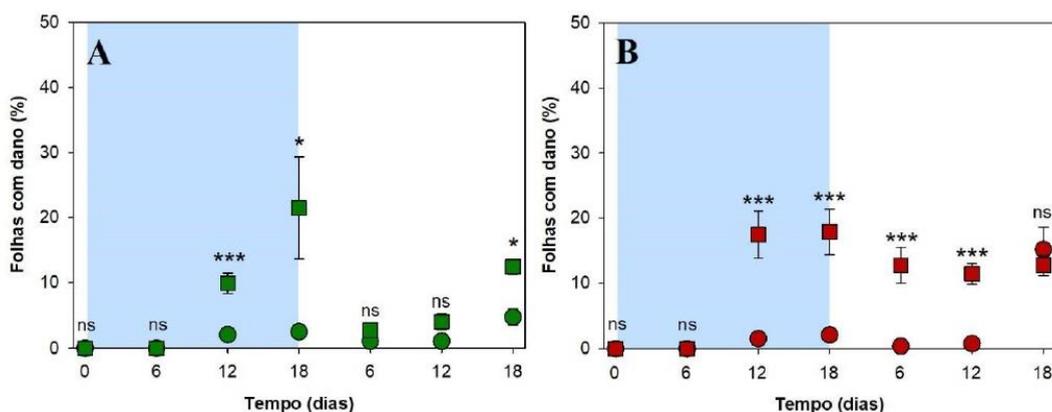


Figura 4. (A) Porcentagem folhas que apresentaram danos dos genótipos de soja tolerante e (B) sensível ao alagamento. As regiões em azul indicam o período de alagamento. Dados em verde referem-se ao genótipo tolerante (PelBR 15-7015c), em vermelho ao genótipo sensível (PelBR 15-7060), círculos às plantas controle, quadrados às plantas alagadas. Dados são médias ($n = 6$) \pm erro padrão. As médias de plantas alagadas e controle foram comparadas pelo teste t de Student (ns não significativo, * $P > 0.05$, ** $P > 0.01$, *** $P > 0.001$).

De modo geral, poucas diferenças foram observadas nas respostas das plantas dos

genótipos sensível e tolerante durante e após o alagamento. Após 18 dias de alagamento, os valores de fotossíntese de ambos os genótipos foram reduzidos a aproximadamente 30% dos valores do controle e a recuperação fotossintética após o alagamento se deu de modo muito semelhante entre os genótipos (Fig. 1C). Isso demonstra uma capacidade similar de resposta ao alagamento entre esses dois genótipos em condições de casa de vegetação, em contraste com o que foi observado em experimentos de campo no Rio Grande do Sul pela EMBRAPA (artigo em preparação). Variações entre respostas de plantas cultivadas na casa de vegetação e no campo são comuns, uma vez que na casa de vegetação as condições são mais controladas e no campo múltiplos fatores abióticos e bióticos contribuem para as respostas vegetais, exacerbando variações genéticas (Birch, 2007).

No entanto, algumas diferenças são dignas de menção. O potencial hídrico, por exemplo, atingiu valores consideravelmente mais negativos durante o alagamento nas plantas sensíveis (c. -1.20 MPa) do que nas plantas tolerantes (c. -1.0 MPa) (Fig. 2), o que pode ter resultado em níveis iniciais (menores do que 50%) de embolismo nas folhas sensíveis, mas não nas tolerantes, caso a resistência ao embolismo destas plantas de soja sejam semelhantes às das plantas de soja cultivadas na Austrália (Fig. 3). A ocorrência de embolismo no genótipo sensível, mas não no tolerante, poderia explicar, por exemplo, as maiores taxas de dano foliar nas plantas sensíveis do que nas tolerantes mesmo depois da remoção do alagamento, uma vez que a presença de embolismo foliar foi recentemente apontada como diretamente responsável por danos foliares visíveis (Cardoso et al., 2020).

Mais uma vez esses resultados contrastam com resultados obtidos pela EMBRAPA sob condições de campo, onde plantas sensíveis tiveram menor produção de vagens no pós-alagamento devido à alta mortalidade de folhas e até de plantas inteiras (artigo em preparação).

CONCLUSÕES OU CONSIDERAÇÕES FINAIS

Comparando as dinâmicas de potencial hídrico em plantas de soja durante o alagamento

Realização



Apoio



com dados previamente coletados de resistência ao embolismo na espécie, observa-se que é possível que plantas do genótipo sensível, mas não do tolerante, tenham apresentado níveis basais (menores que 50%) de embolismo durante esse estresse. No entanto, para a confirmação desses resultados, curvas de vulnerabilidade em outras condições ambientais do Brasil e com os dois genótipos precisam ser realizadas no futuro. Em consequência de um potencial nível de embolismo diferencial durante o alagamento, plantas sensíveis apresentam maiores danos foliares após o período de recuperação. Esse maior dano foliar, no entanto, não resulta em menores acúmulos de massa seca de folhas, raízes e vagem nesse genótipo após a recuperação do alagamento.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, inicialmente, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, pela bolsa de iniciação científica a mim ofertada pelo edital 11/2021, e a professora Amanda, que me orientou e introduziu ao mundo da ciência.

REFERÊNCIAS

Adams HD, Zeppel MJB, Anderegg WRL, Hartmann H, Landhäusser SM, Tissue DT, Huxman TE, Hudson PJ, Franz TE, Allen CD, et al (2017) A multi-species synthesis of physiological mechanisms in drought-induced tree mortality. *Nat Ecol Evol* 1: 1285–1291

Aroca R, Porcel R, Ruiz-Lozano JM (2012) Regulation of root water uptake under abiotic stress conditions. *J Exp Bot* 63: 43–57

Bailey-Serres J, Colmer TD (2014) Plant tolerance of flooding stress - recent advances. *Plant Cell Environ* 37: 2211–2215

Brodribb TJ, Feild TS, Jordan GJ (2007) Leaf maximum photosynthetic rate and venation are linked by hydraulics. *Plant Physiol* 144: 1890–1898

Brodribb TJ, Skelton RP, McAdam SAM, Bienaimé D, Lucani CJ, Marmottant P (2016) Visual quantification of embolism reveals leaf vulnerability to hydraulic failure. *New Phytol* 209: 1403–1409

Realização



Apoio





Cardoso AA, Batz TA, McAdam SAM (2020) Xylem embolism resistance determines leaf mortality during drought in *Persea americana*. *Plant Physiol* 182: 547–554

Choat B, Brodribb TJ, Brodersen CR, Duursma RA, López R, Medlyn BE (2018) Triggers of tree mortality under drought. *Nature* 558: 531–539

Da-Silva CJ, do Amarante L (2020) Time-course biochemical analyses of soybean plants during waterlogging and reoxygenation. *Environ Exp Bot* 180: 104242
IPCC (2018) Special report on the impacts of global warming of 1.5° C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways. World Meteorological Organization, Geneva, Switzerland

Jiang M, Zhang J (2002) Water stress-induced abscisic acid accumulation triggers the increased generation of reactive oxygen species and up-regulates the activities of antioxidant enzymes in maize leaves. *J Exp Bot* 53: 2401–2410

Ribas GG, Zanon AJ, Streck NA, Pilecco IB, de Souza PM, Heinemann AB, Grassini P (2021) Assessing yield and economic impact of introducing soybean to the lowland rice system in southern Brazil. *Agric Syst* 188: 103036
Sack L, Holbrook NM (2006) Leaf Hydraulics. *Annu Rev Plant Biol* 57: 361–381

Sevanto S, McDowell NG, Dickman LT, Pangle R, Pockman WT (2014) How do trees die? A test of the hydraulic failure and carbon starvation hypotheses. *Plant, Cell Environ* 37: 153–161

Toral-Juárez MA, Avila RT, Cardoso AA, Brito FAL, Machado KLG, Almeida WL, Souza RPB, Martins SCV, DaMatta FM (2021) Drought-tolerant coffee plants display increased tolerance to waterlogging and post-waterlogging reoxygenation. *Environ Exp Bot* 182: 104311

Tyree MT, Sperry JS (1989) Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 40: 19–38

Realização



Apoio

