



Universidade Federal de Pelotas
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Bioquímica Metabólica em Alimentos



Plasticidade na resposta hormonal ao estresse pelo frio na planta invasora *Carpobrotus edulis*

Caroline Dittgen e Cristian Batista

Pelotas, 02 de Agosto de 2019.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Plant Physiology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jplph



Plasticity in the hormonal response to cold stress in the invasive plant *Carpobrotus edulis*



Erola Fenollosa, Anna Gámez, Sergi Munné-Bosch*

Department of Evolutionary Biology, Ecology and Environmental Sciences, Faculty of Biology, University of Barcelona, Avinguda Diagonal 643, 08028, Barcelona, Spain

ARTICLE INFO

Key-words:

Aizoaceae
Carpobrotus edulis
Chilling
Hormonal profile
Invasive species

ABSTRACT

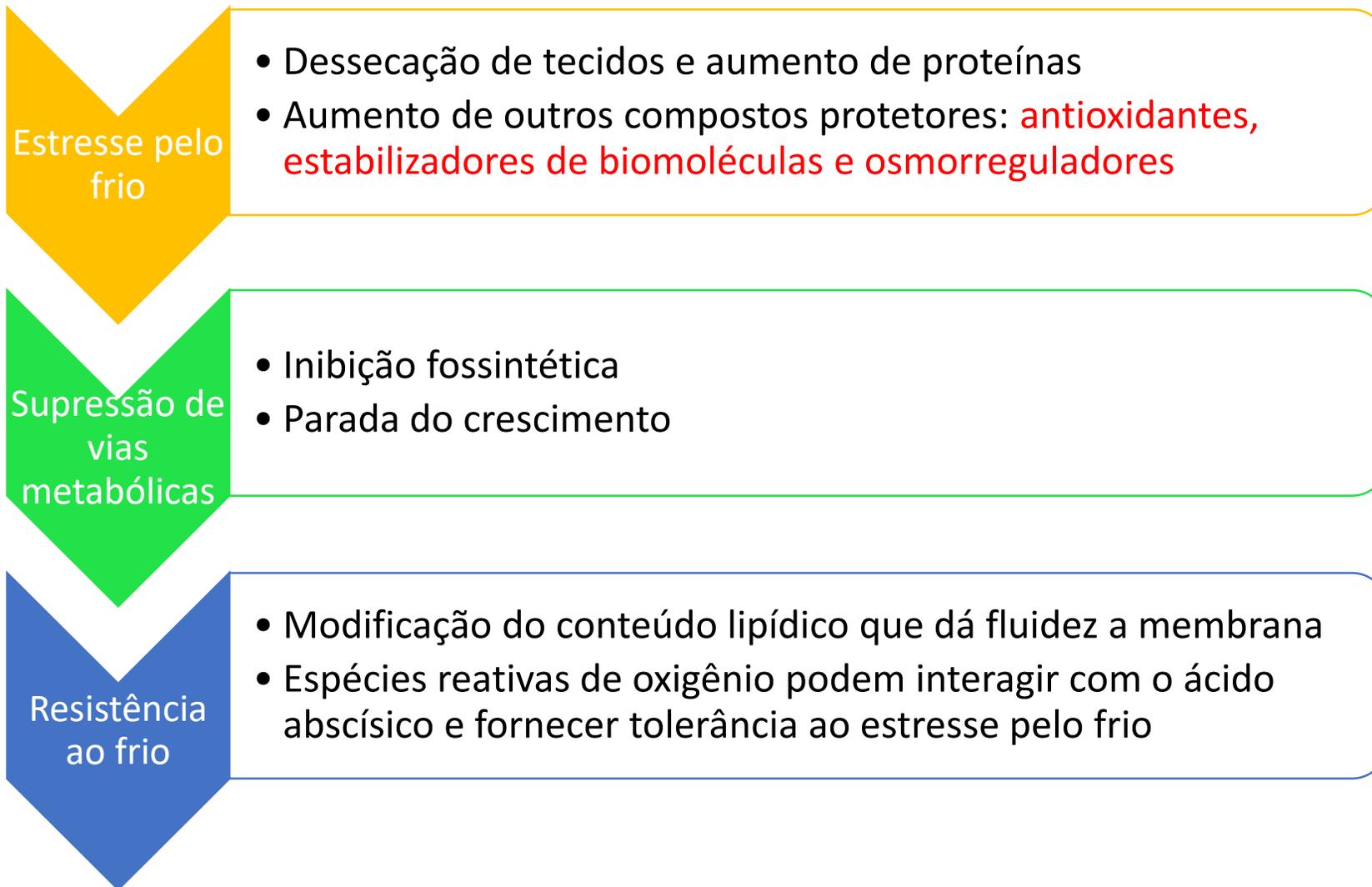
Cold stress response is mediated by multiple signaling pathways with complex interactions, among which phytohormones may play a role. We explored changes in the contents of phytohormones, including abscisic acid, jasmonic acid, salicylic acid, auxin, cytokinins, gibberellins and melatonin, along with stress tolerance markers in an invasive halophyte, *Carpobrotus edulis* in response to chilling. In a first experiment, plants were exposed to mean daily temperatures from 10 °C to 5 °C during a cold wave in an experimental garden. In a second experiment, plants were subject to slowly decreasing temperatures, from 20 to 5 °C, in a climatic chamber. Although the cold response in both experiments was associated with a similar extent of leaf desiccation, hormonal variations differed. Cold stress reduced melatonin contents, while it increased salicylic acid contents in the experimental garden. Rather, transient increases in the contents of melatonin occurred in parallel with sustained increases in the contents of abscisic acid and cytokinins in the climatic chamber. In both experiments, plants were able to prevent cold-induced increases in lipid peroxidation and any eventual damage to the photosynthetic apparatus. We conclude that (i) the hormonal response to chilling in *C. edulis* is strongly dependent on time exposure to low temperatures, severity of stress, as well as other environmental conditions, (ii) the hormonal response of this plant species to low temperatures is very plastic, thus underlining its great capacity for cold acclimation.

Introdução

- **As baixas temperaturas** constituem uma das **principais restrições** ao crescimento, desenvolvimento e distribuição de plantas: causa estresse, danos e até perda de produtividade
- **As respostas das plantas a baixas temperaturas** são complexas e induzem mudanças em múltiplos níveis de organização: **morfologia, ajustes fisiológicos e bioquímicos, bem como alterações na expressão gênica**
- Quando a exposição a temperaturas baixas não podem ser evitadas, a **refrigeração induz a: expansão foliar, murchamento, clorose, parada de transporte de água a longa distância e, eventualmente, morte de células, órgãos e plantas, dependendo da duração e gravidade do estresse**

Introdução

- **Aclimação a frio** - Aumento da tolerância ao frio durante a exposição a baixas temperaturas = reprogramação da expressão gênica e do metabolismo



Objetivos

- I. Compreender a resposta hormonal e fisiológica ao resfriamento em *C. edulis*.

- II. Compreender a plasticidade na resposta desta espécie vegetal às baixas temperaturas sob diferentes condições climáticas.

Materiais e métodos



Carpobrotus edulis



Materiais e métodos

1º experimento: avaliação de plantas que crescem sob condições climáticas naturais em uma horta experimental, sob condições do inverno mediterrâneo

- 5 coletas:
 - ao instalar o experimento
 - antes da onda de frio
 - durante a onda de frio
 - logo após a onda de frio
 - um mês após a onda de frio

2º experimento: em estufa com condições controladas

- Temperatura inicial de 21°C e reduções de 5°C a cada semana
- 5 coletas:
 - 21°C
 - 15°C
 - 8,6°C
 - 5,3°C

Materiais e métodos

Folhas:

Tolerância de estresse pelo frio

- Área, peso úmido, peso seco, conteúdo total de água
- Máxima eficiência fotossintética (equipamento MINI-PAM)

Extratos metanólicos das folhas:

Teor de clorofila e índice de peroxidação lipídica

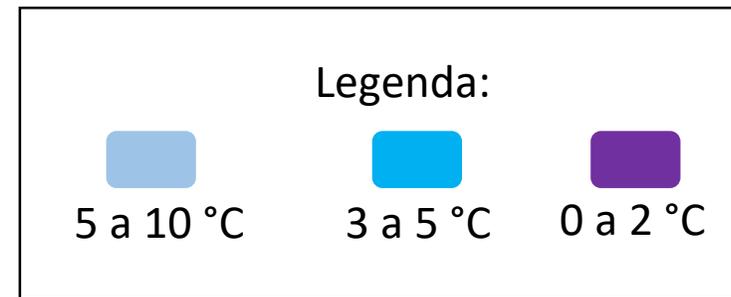
- Índice de peroxidação lipídica: estresse oxidativo
- Teor de clorofila

Melatonina e perfil hormonal

- UHPLC-MS/MS

Resultados

Experiment 1					
Sampling day	29 Dec	13 Jan	17 Jan	24 Jan	27 Feb
Experimental days	0	16	20	27	61
Sampling temp (°C)	14.6	12.4	7.8	10.1	15.6
Min Temp. (°C)	4.6	4.7	1.0	5.8	9.6
Mean Temp. (°C)	10.3	10.6	4.7	8.6	12.6
Max Temp. (°C)	16.4	13.7	7.8	14.5	16.2
Relative hum (%)	54	45	32	56	71
VPD _{max} (KPa)	1.3	1.0	0.8	0.8	0.7
PPFD _{max} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	950	1010	1044	1319	1373



Experimento 1 (horta), as plantas foram expostas a ciclos diurnos de luz / escuridão e, portanto, a condições realistas de frio em um inverno mediterrâneo marítimo, neste caso particular com temperaturas mínimas muito próximas ao congelamento durante o inverno. **17 de janeiro**, ou seja, 20 dias do início do experimento.

Experiment 2				
Control	Cold chamber			
0,7,14,21	0	7	14	21
21.0	21.0	15.0	8.6	5.3
20.5	19.5	14.0	7.5	2.0
21.0	21.0	15.0	8.6	5.3
23.5	22.0	16.5	10	8.5
72	64	68	70	76
1.1	1.2	0.7	0.4	0.3
380	380	380	380	380

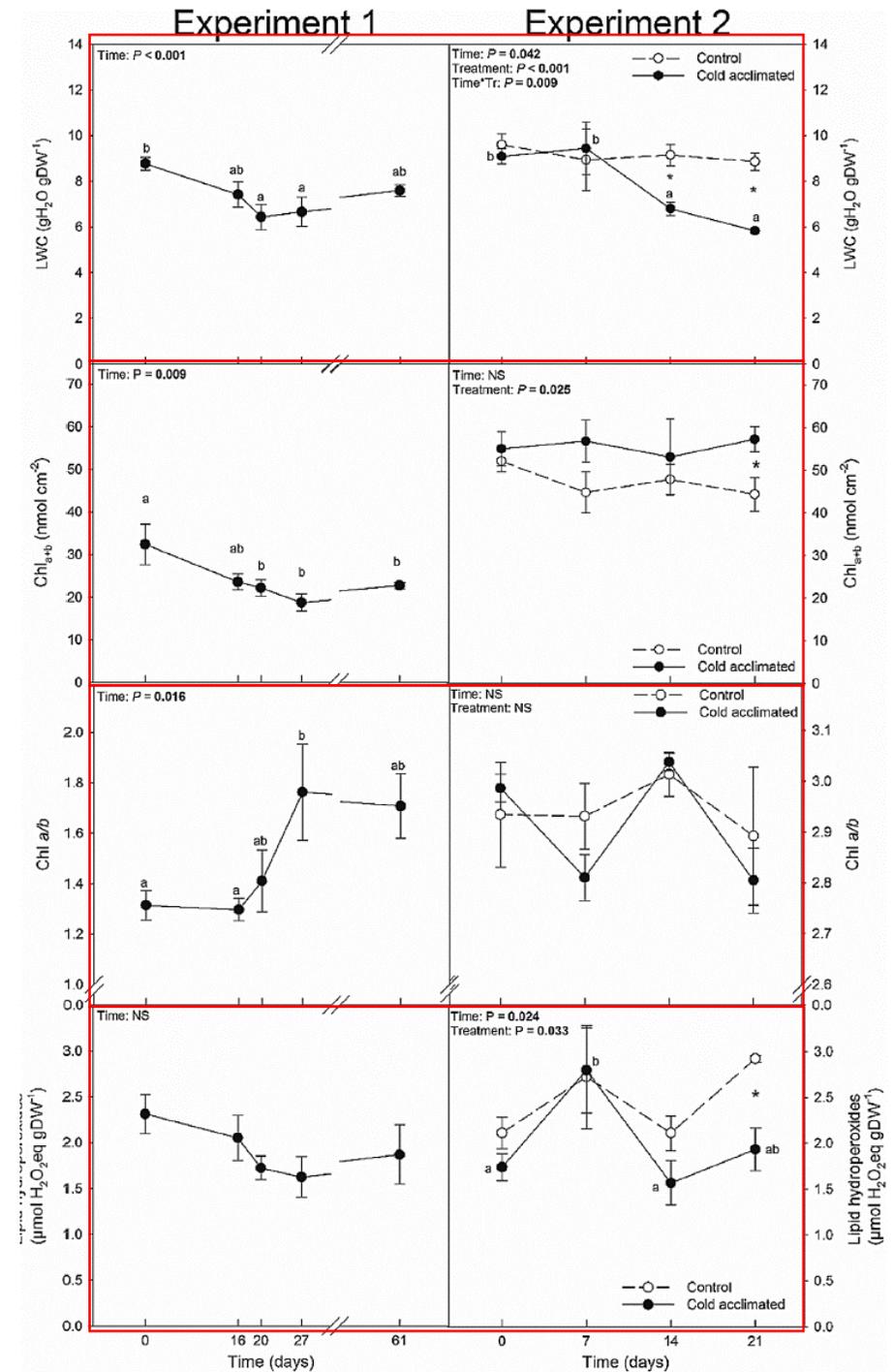
Experimento 2 (câmaras climáticas controladas), as plantas foram gradualmente aclimatadas a decréscimos graduais na temperatura (5 ° C toda semana) por um período de 3 semanas, atingindo também temperaturas mínimas muito próximas ao congelamento (2 ° C) aos 21 dias. dias a partir do início do experimento.

OBS. A densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativa que as plantas foram expostas foi menor e a umidade relativa maior no segundo experimento comparado ao primeiro

Resultados

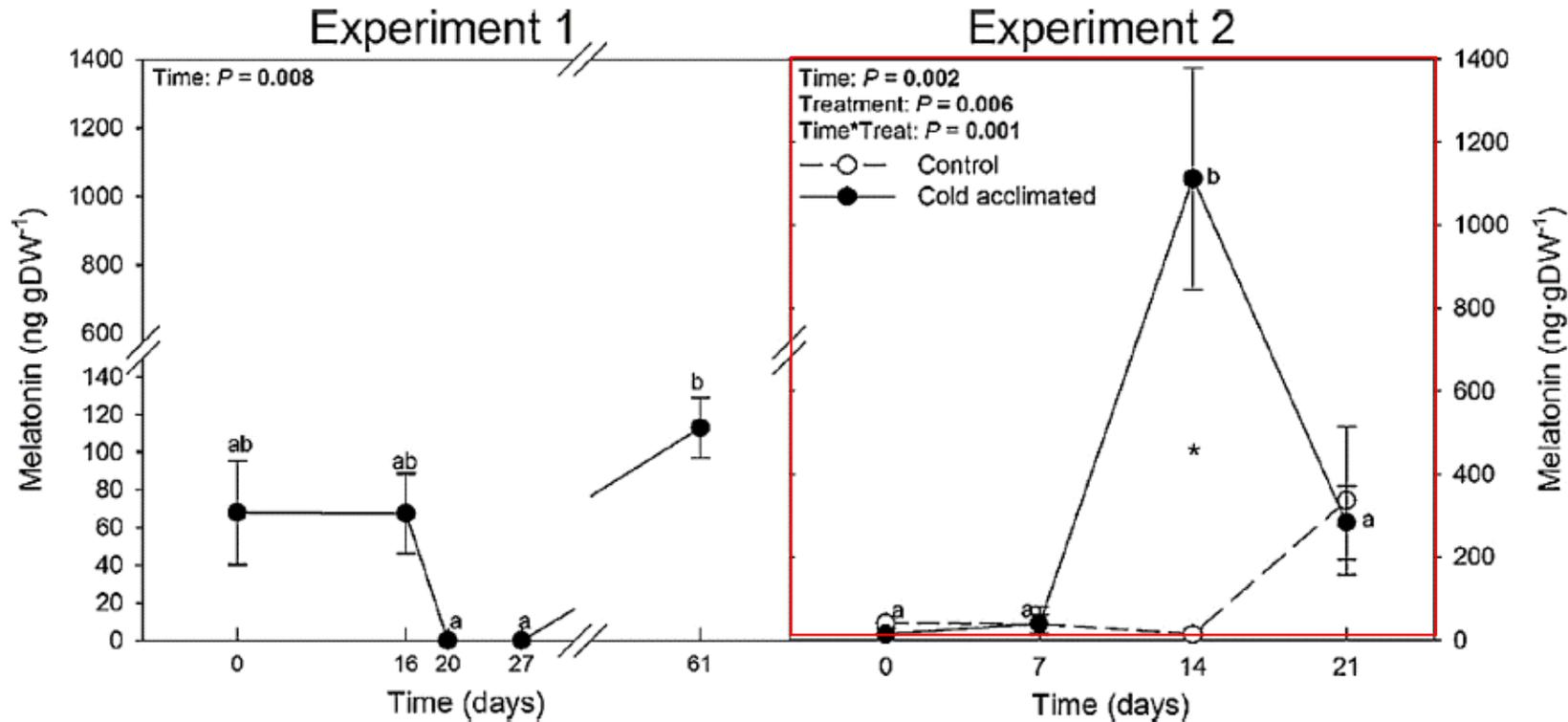
➤ Tolerância ao estresse por frio em *C. edulis*

- A hidratação foliar, estimada pelo **conteúdo de água da folha (LWC)**, diminuiu em ambos os experimentos (devido a desidratação induzida pelo frio), não apresentando diferenças significativas entre eles
- Os teores de *clorofila a + b* também diminuíram durante o experimento 1
- A proporção *clorofila a/b* aumentou 30% durante o período de estresse máximo no experimento 1. Por outro lado, os teores de *clorofila a + b* e a proporção *clorofila a/b* mantiveram-se inalterados durante a exposição ao frio na câmara climática (experimento 2).
- A peroxidação lipídica, como indicado pelo conteúdo de hidroperóxido lipídico, foi inalterada na horta experimental e reduziu em 35% na câmara climática em relação ao controle



Resultados

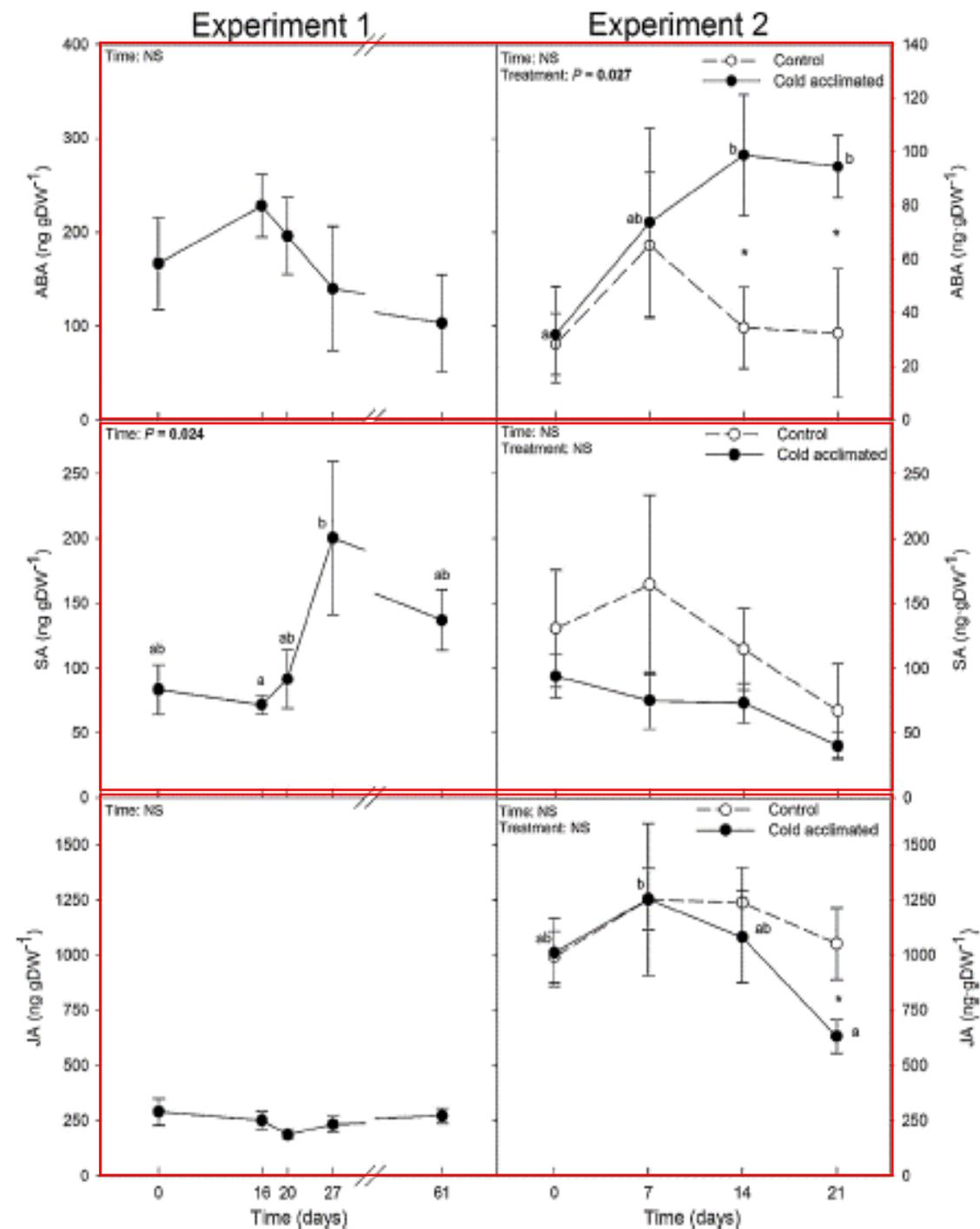
➤ Melatonina e perfil hormonal



- Os teores de melatonina nas folhas de plantas de *C. edulis* atingiram valores máximos correspondentes a 1,1 $\mu\text{g} / \text{g}$. Embora o estresse pelo frio tenha levado a significantes aumentos no conteúdo endógeno de melatonina aos 14 dias de exposição ao estresse frio na câmara fria, reduções adicionais na temperatura levaram a reduções acentuadas no conteúdo deste composto para valores semelhantes aos controles após 21 dias de tratamento a frio

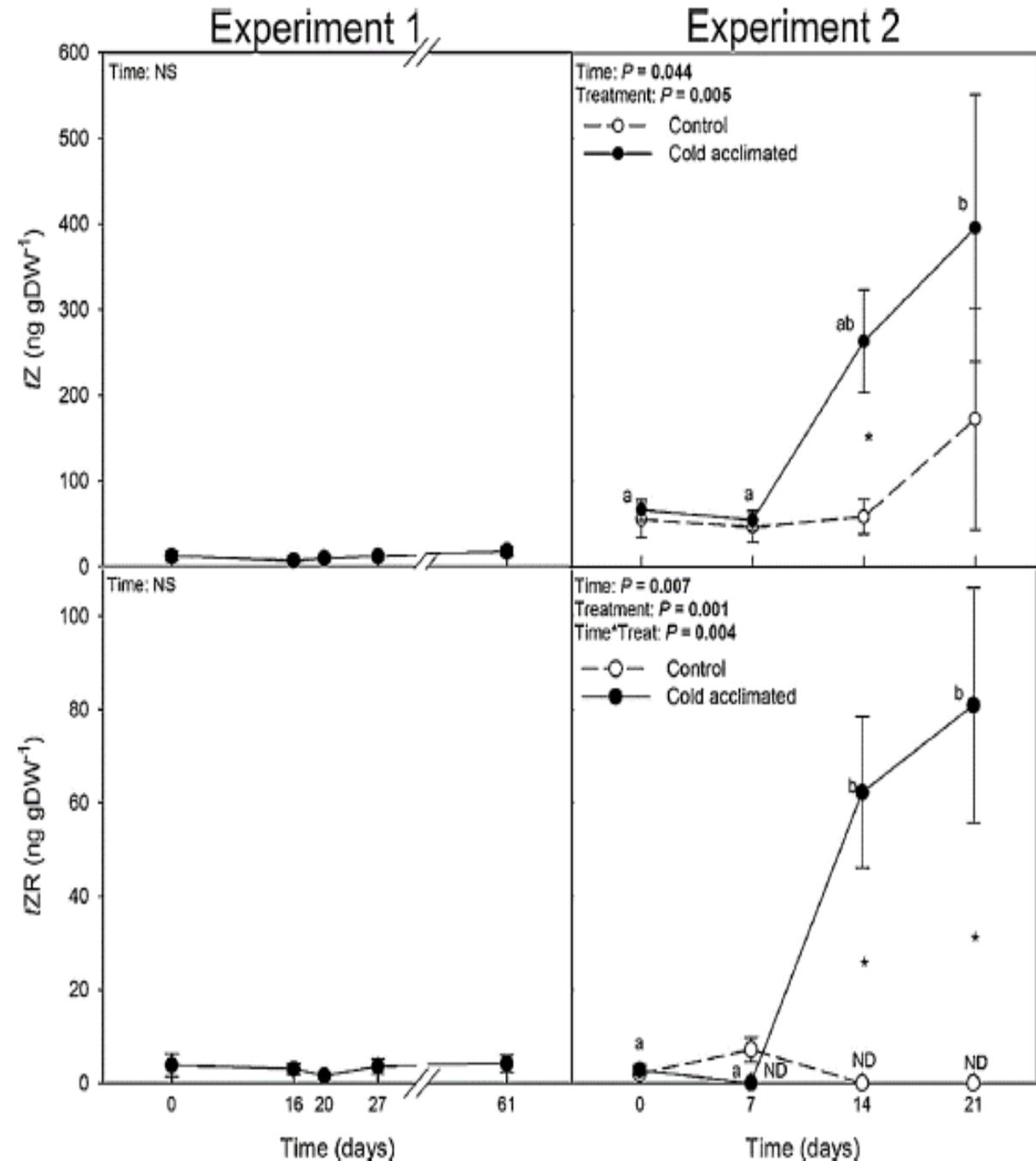
Resultados

- O conteúdo de ABA (ác. Abiscísico) foi 5 vezes maior no início do experimento na horta experimental em comparação com a câmara climática, mas não aumentou após a exposição ao frio durante o experimento 1. Além disso, o conteúdo de ABA aumentou significativamente (2x) após a exposição ao frio durante o experimento 2, em comparação com os controles na câmara climática.
- O conteúdo de AS (ác. salicílico) aumentou no dia 27 e não reduziu mais tarde no experimento 1 (horta experimental).
- O conteúdo de JA (ác. Jasmônico) foi menor nas plantas expostas ao frio em comparação com os controles durante o experimento 2



Resultados

- Os conteúdos endógenos de trans-zeatina (*tZ*) e o seu precursor trans-zeatina ribosídeo (*tZR*) aumentaram em resposta ao stress frio na câmara climática, enquanto *tZ* e *tZR* não foram alterados no experimento 1 (horta experimental)
- Conteúdos endógenos de ácido 3-indol acético (AIA), e ácido giberélico (GA4) se mantiveram inalterados em ambos os experimentos (dados não são apresentados).



Discussão

➤ Respostas hormonais comuns e diferenciais ao estresse pelo frio em *C. edulis*

- Plantas apresentaram um grau semelhante de desidratação foliar e foram igualmente eficazes na prevenção de danos ao PSII após exposição ao frio durante os dois experimentos.
- No entanto, os mecanismos utilizados para atingir esse grau similar de resistência diferiram nos dois experimentos.
- **No primeiro experimento**, a resposta ao estresse pelo frio foi caracterizada por aumentos tanto na proporção *clorofila a / b* quanto no conteúdo de ácido salicílico (AS) endógeno. **Essas diferenças podem ser atribuídas a vários fatores:** Diferenças na radiação solar (que ocasionou diferenças nos pigmentos do complexo da antena e alterou proporções de clorofila), aumento nos teores endógenos de ácido salicílico (ajuda a manter atividade fotossintética nessas condições).
- **No segundo experimento**, os teores de melatonina aumentaram acentuadamente aos 21 dias de estresse pelo frio, para diminuir mais tarde após estresse severo; e esta resposta foi acompanhada por aumentos sustentados de ABA e citocininas. Aumentos de ABA induzidos pelo frio já foram relatados em outras espécies como um mecanismo para prevenir a desidratação foliar e induzir o acúmulo de osmoprotetores; e conteúdos aumentados de citocinina podem ajudar a manter a integridade do cloroplasto sob estresse na câmara de crescimento

OBS - altos teores de ABA são uma característica comum da resposta ao estresse pelo frio em *C. edulis* .

Discussão

➤ Interação de melatonina com outros fito hormônios

- A melatonina localizada nos cloroplastos e mitocôndrias (N-acetil-5-metoxitriptamina) é geralmente considerada um antioxidante de baixo peso molecular nas plantas devido à sua atividade contra ROS *in vitro*
- No entanto, também tem sido proposto que ela pode agir como um **regulador de crescimento de plantas**
- O seu papel (antioxidante ou regulador hormonal) é dado pela sua **quantidade endógena na planta**
- O conteúdo endógeno de melatonina encontrado em folhas de *C. edulis* variou entre 2 e 1100 ng / g DW), e estão dentro da ordem de magnitude de um **fito hormônio ou regulador**, ao invés de um antioxidante.

Discussão

➤ Interação de melatonina com outros fito hormônios

- A melatonina pode regular positivamente a expressão do gene que codifica a isopentenil transferase (IPT) uma enzima reguladora chave que é essencial para a biossíntese da citocinina
- A melatonina aumentou aos 14 dias de aclimação a frio na câmara climática, e resultou em aumentos nos teores de citocininas em *C. edulis*. Entretanto, o conteúdo de citocinina manteve-se elevado aos 21 dias de estresse pelo frio, enquanto a melatonina diminuiu, indicando que houve uma interação melatonina-citocinina
- A melatonina exógena pode regular os genes de biossíntese relacionados ao ABA e regular negativamente o catabolismo desse hormônio. Portanto, uma possível conversa cruzada de melatonina com ABA e citocininas na aclimação a frio em *C. edulis* é possível, embora seja necessária investigação adicional.

Conclusão

- Conclui-se que a resposta hormonal e fisiológica ao resfriamento em *C. edulis* não depende apenas do tempo de exposição a baixas temperaturas e da severidade do estresse, mas também das demais condições ambientais prevalentes às quais as plantas estão expostas. No entanto, a resposta de *C. edulis* a baixas temperaturas **foi muito plástica**, demonstrando assim a grande capacidade dessa espécie se aclimatar ao frio.
- Enquanto a resposta hormonal induzida pelo frio na horta experimental foi caracterizada pelo aumento do conteúdo de ácido salicílico (AS); Os conteúdos de melatonina e citocinina aumentaram em resposta ao estresse de baixa temperatura na câmara climática.
- Em ambos os experimentos, o conteúdo de ABA aumentou (câmara de crescimento) ou já estavam muito elevados constitutivamente (horta experimental), sugerindo que o ABA tem um papel central na resposta dessa espécie de planta ao estresse pelo frio.
- No geral, os resultados são indicativos da extraordinária plasticidade da resposta hormonal de *C. edulis* ao estresse pelo frio.



Universidade Federal de Pelotas
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos
Bioquímica Metabólica em Alimentos



Plasticidade na resposta hormonal ao estresse pelo frio na planta invasora *Carpobrotus edulis*

caroldittgen@hotmail.com
cristianbat@gmail.com

Pelotas, 02 de Julho de 2019.