

## QUANTIFICAÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO EM PLÂNTULAS DE ARROZ SUBMETIDAS A ESTRESSE POR BAIXAS TEMPERATURAS

TAÍS AMANDA MUNDT<sup>1</sup>; FERNANDA GOULART ACOSTA<sup>2</sup>; VIVIANE KOPP DA  
LUZ<sup>3</sup>; DOUGLAS ANTÔNIO POSSO<sup>4</sup>; CAMILA PEGORARO<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [taismundt@yahoo.com.br](mailto:taismundt@yahoo.com.br)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [f.goulartacosta@gmail.com](mailto:f.goulartacosta@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [vivianekp2023@gmail.com](mailto:vivianekp2023@gmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas – [douglasposso@hotmail.com](mailto:douglasposso@hotmail.com)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – [pegorarocamilanp@gmail.com](mailto:pegorarocamilanp@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos principais alimentos consumidos no mundo. O principal produtor de arroz do Brasil é o estado do Rio Grande do Sul (NERY; CELLA 2022). Devido à latitude do estado (zona subtropical), o frio é uma característica presente e pode afetar o desempenho da cultura (CRUZ et al., 2013). Nos primeiros estádios de desenvolvimento da planta de arroz, as baixas temperaturas causam crescimento lento, reduzem o vigor da planta, diminuem o perfilhamento e aumentam a mortalidade (NAJEEB et al., 2021). Para contornar problemas causados por estresses abióticos, as plantas desenvolveram ao longo de sua história evolutiva diversos mecanismos fisiológicos (NADARAJAH et al., 2021). Dentre esses mecanismos pode-se citar a molécula gasotransmissora óxido nítrico (NO).

Devido a suas propriedades hidrofóbicas, estrutura simples e alta difusividade, o NO atravessa facilmente tanto as camadas hidrofílicas quanto lipídicas das células. O NO é considerado uma molécula sinalizadora nas plantas, podendo inclusive interagir com outras moléculas do mesmo gênero (NEIL et al., 2003). Esse gasotransmissor tem mostrado importante papel na tolerância de plantas a estresses abióticos, como hídrico, oxidativo, salino, metais pesados e temperaturas extremas. No entanto, seu papel na tolerância do arroz a condições de baixa temperatura ainda não foi elucidado. Diversos estudos já demonstraram a correlação positiva entre o acúmulo de óxido nítrico e a tolerância de plantas (NABI et al., 2019), atestando a importância da quantificação dessa molécula para sua associação à tolerância do arroz às condições de estresse.

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi quantificar a concentração de óxido nítrico em genótipos de arroz com resposta contrastante para tolerância a baixas temperaturas no início do estágio vegetativo. Com a hipótese de que a tolerância a baixas temperaturas de algumas cultivares de arroz são decorrentes da maior síntese de NO sob essa condição.

### 2. METODOLOGIA

Sementes de arroz das cultivares BRS Pampeira (sensível a baixa temperatura) e BRS Bojuru (tolerante a baixa temperatura) foram semeadas em bandejas contendo solo coletado de lavoura arrozeira. O manejo das plantas foi realizado conforme as recomendações da cultura do arroz. As plantas foram submetidas aos seguintes tratamentos: 1) Controle: 25°C e 16h de luz, durante 20 dias. 2) Baixas temperaturas: 25°C e 16h de luz, durante 19 dias, e 13°C e 16 h

de luz por 24 horas. O delineamento experimental foi de blocos casualizados com três repetições.

Após o período de 20 dias nos diferentes tratamentos (24 horas de estresse por frio) foi realizada a coleta da parte aérea das plantas seguida de imediata imersão em nitrogênio líquido (N<sub>2</sub>) e subsequente armazenamento em ultrafreezer.

A determinação da concentração de óxido nítrico foi realizada conforme o procedimento descrito por Da-Silva e do Amarante (2020), empregando o marcador fluorescente DAF-FM (4-amino-5-metilamino-2',7'-difluorofluoresceína diacetato). Foram submetidos à incubação segmentos de folhas (25mg), durante uma hora, em ambiente escuro, em um tampão de fosfato de potássio a 50 mM (pH 7,2), contendo 5 µM de DAF-FM. Posteriormente, realizou-se a diluição da solução de incubação em dez vezes usando o tampão de fosfato de potássio e a solução diluída foi transferida para microplacas de fluorescência. As leituras das amostras foram efetuadas por meio de um espectrofluorímetro (SpectraMax M3), com emissão a 515 nm e excitação a 496 nm. Para os controles negativos, segmentos da parte aérea foram incubados com 100 µM de cPTIO (2-(4 Carboxifenil)-4,4,5,5-tetrametilimidazol-1-oxi-3óxido), um captador de NO (óxido nítrico).

Os dados foram submetidos à análise de variância e posteriormente para comparação das médias realizado o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). As análises estatísticas foram executadas com o auxílio do programa Winstat (MACHADO; CONCEIÇÃO, 2003). Para a construção dos gráficos foi utilizado o programa SigmaPlot 11.0 (SystatSoftware inc., 2007).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se que a cultivar BRS Bojuru (tolerante a baixa temperatura) apresentou aumento de concentração de NO quando submetida ao estresse por baixa temperatura (cerca de 26 nmol g<sup>-1</sup> MF h<sup>-1</sup>). Por outro lado, a cultivar BRS Pampeira (sensível a baixa temperatura) não mostrou diferença entre as quantidades de NO na baixa temperatura e no controle (Figura 1). Esse fato corrobora com a hipótese de que a maior síntese de óxido nítrico está relacionada à tolerância da planta ao estresse. Sugere-se que na cultivar tolerante o aumento de NO atue na sinalização de genes que codificam proteínas envolvidas nos mecanismos de resposta ao estresse. Estudos com *Arabidopsis thaliana* L. e ervilha (*Pisum sativum* L.) encontraram resultados semelhantes, nos quais houve um aumento nas concentrações de óxido nítrico em plantas submetidas a períodos de estresse por baixas temperaturas (PUYAUBERT; BAUDOUIN, 2014).

Em estudo desenvolvido por GAUTAM et al. (2022), em cultivares de arroz submetidos a altas temperaturas, foram encontradas diferenças na concentração de óxido nítrico entre a cultivares tolerante e sensível a esse estresse, sendo que a cultivar tolerante apresentou maiores níveis de NO. Os autores relacionaram que níveis mais elevados de NO estão associados à tolerância da cultivar.

Os resultados obtidos na presente pesquisa serão complementados com estudos da expressão dos genes que codificam enzimas envolvidas na síntese de NO em plantas de arroz submetidas ao estresse por baixas temperaturas.

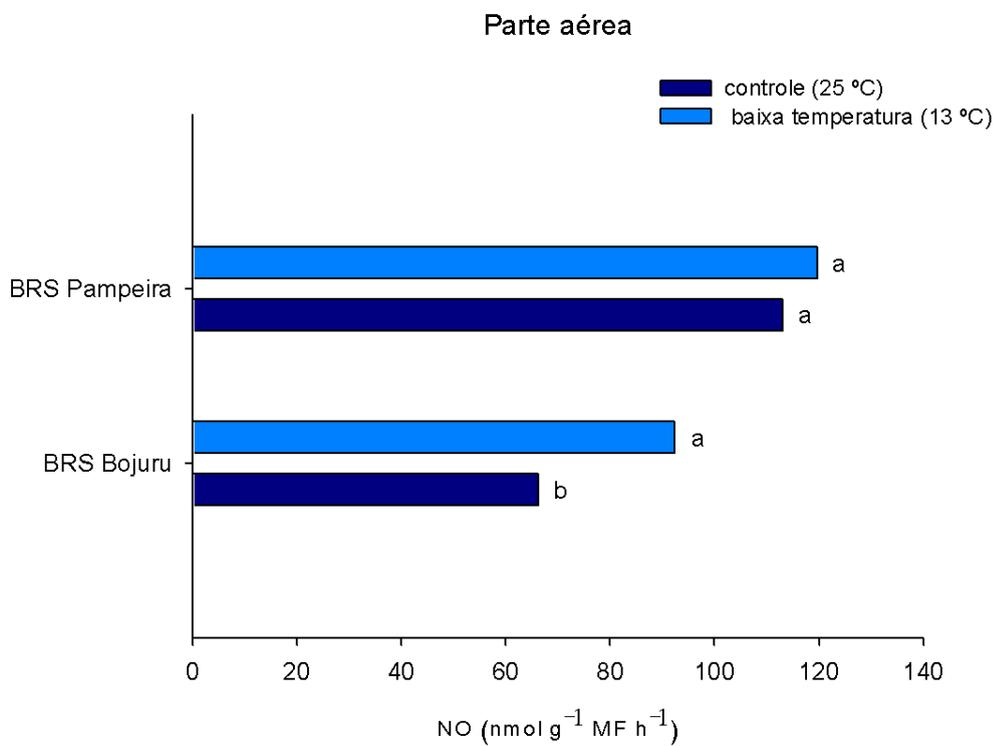


Figura 1- Teores de óxido nítrico (NO) na parte aérea de cultivares de arroz BRS Bojuru e BRS Pampeira submetidas a diferentes temperaturas durante 24 horas: controle (25°C) e baixa temperatura (13°C). \*Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

#### 4. CONCLUSÕES

A cultivar de arroz tolerante a baixas temperaturas apresentou maior concentração de óxido nítrico quando submetida a esse estresse. Este comportamento é um indício do envolvimento desse gasotransmissor nos mecanismos de tolerância ao frio. Os resultados aqui obtidos são os primeiros passos para a compreensão do papel do NO na tolerância ao estresse em arroz.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CRUZ, R.P.; SPEROTTO, R.A.; CARGNELUTTI, D.; ADAMSKI, J.M.; TERRA, T.F.; FETT, J.P. Avoiding damage and achieving cold tolerance in rice plants. **Food and Energy Security**, v.2, n.2, p. 96-111, 2013.

DA-SILVA, C.J.; DO AMARANTE, L. Short-term nitrate supply decreases fermentation and oxidative stress caused by waterlogging in soybean plants. **Environmental and Experimental Botany**, v.176, 2020.

GOUTAM, H.; FATMA, M.; SEHAR, Z.; MIR, I. R.; KHAN, N. A. Hydrogen Sulfide, Ethylene, and Nitric Oxide Regulate Redox Homeostasis and Protect Photosynthetic Metabolism under High Temperature Stress in Rice Plants. **Antioxidants**, n. 11, v. 8, 2022.

MACHADO, A.A.; CONCEIÇÃO, A.R. Sistema de análise estatística para Windows. Winstat.Versão 2.0. UFPel, 2003.

NABI, R. B. S.; TAYADE, R.; HUSSAIN, A.; KULKARNI, K. P.; IMRAN, Q. M.; MUN, B. G.; YUN, B. W. Nitric oxide regulates plant responses to drought, salinity, and heavy metal stress. **Environmental and Experimental Botany**, n. 161, p.120-133, 2019.

NADARAJAH, K.; HAMID, N.; RAHMAN, R. SA-Mediated Regulation and Control of Abiotic Stress Tolerance in Rice. **International Journal of Molecular Science**, v. 11, n. 22, p. 1-16, 2021.

NAJEEB, S.; MAHENDER, A.; ANANDAM, A.; HUSSAIN, W.; LI, Z.; ALI, J. Genetics and Breeding of Low Temperature Stress Tolerance in Rice. In: ALI, J.; WANI, S. H. **Rice Improvement: Physiological, Molecular Breeding and Genetic Perspectives**. Cham, Suíça: Springer, 2021. Cap. 8, p. 221-279.

NEIL, S.; DESIKAN, R.; HANCOOK, J. Nitric oxide signalling in plants. **New Phytologist**, n. 59, p.11-35, 2003.

NERY, I.; CELLA, D. ARROZ: uma descrição do mercado. **Interface Tecnológica**, v. 19, n. 2, p. 549-560, 2022.

PUYAUBERT, J., BAUDOUIN, E. New clues for a cold case: nitric oxide response to low temperature. **Plant, Cell and Environment**, n. 37, p. 2623–2630, 2014.

SIGMAPLOT. Scientific Graphing Software: versão 11.0. San Rafael: Hearne Scientific Software, 2007.