

## **ACETILCOLINA ATENUA OS EFEITOS NEGATIVOS EM PARÂMETROS FISIOLÓGICOS DO MILHO SOB ESTRESSE TÉRMICO E HÍDRICO**

Daniele Silva Sukert<sup>1</sup>, Bruna Oliveira Reinheimer Spolaor<sup>1</sup>, Héliida Regina Sala<sup>1</sup>, Bruno Felipe Picoli de Oliveira<sup>1</sup>, Italo Rafael de Freitas<sup>1</sup> e Adriana Lima Moro<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pós-graduando - Universidade do Oeste Paulista  
*danielesukert@hotmail.com, brunaspolaor@hotmail.com, helidahrs@hotmail.com,  
brunopicoli2008@hotmail.com, italo5irf@hotmail.com.*

<sup>2</sup> Docente - Programa de Pós-Graduação de Agronomia - Universidade do Oeste Paulista  
*adrianamoro@unoeste.br*

### **PROBLEMÁTICA**

O aumento da temperatura média global, estimado entre 1,5 °C até 2030 e 2 °C até 2050, intensifica a ocorrência de secas prolongadas (Zhang et al., 2021). Esses fatores expõem as plantas a estresses térmico e hídrico, que alteram processos fisiológicos e bioquímicos, reduzindo a fotossíntese, condutância estomática e o crescimento (Seleiman et al., 2021). Quando associados, esses estresses potencializam os danos, promovendo desequilíbrio metabólico, acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs) e queda acentuada na produtividade das culturas (Ayub et al., 2021).

Nesse cenário, a busca por compostos capazes de atenuar tais efeitos é fundamental. A acetilcolina (ACh), reconhecida como biorregulador em plantas, atua no crescimento radicular, na homeostase osmótica, na fotossíntese e no sistema antioxidante (Braga; Pissolato; Souza, 2017). Contudo, ainda são escassos os estudos que avaliam seu papel na mitigação do estresse combinado de calor e déficit hídrico em milho, bem como a eficiência de diferentes modos de aplicação.

### **CONHECIMENTO PRÉVIO**

O milho (*Zea mays*) é o terceiro cereal mais cultivado no mundo, seguido pelo arroz e trigo. Desta forma, diferentes variedades existentes de milho, como milho doce e milho de silagem, são utilizados para o consumo humano, como também para a fabricação de ração animal e matéria prima para outros produtos, respectivamente (Mascarenhas, 2019).

A cultura do milho geralmente é afetada por estresses abióticos, como os estresses térmico e hídrico. No milho, os estresses abióticos são os principais responsáveis pela diminuição no crescimento radicular, interferência na produção de grãos, além de danos ao aparato fotossintético, como o fotossistema II (PSII) (Salika; Riffat, 2021). Em associação, estes estresses podem afetar negativamente a atividade fotossintética, o crescimento das plantas e a produtividade (Killi et al., 2017).

Como forma de defesa, proteção e tolerância às EROs as plantas aumentam a produção de compostos antioxidantes e realizam ajustes em processos fisiológicos (Sarker; Islam; Oba, 2018). A aplicação de bioreguladores como a Acetilcolina (ACh) otimiza processos fisiológicos do vegetal, alongando células, promovendo o crescimento das raízes, além de atuar na proteção aos estresses abióticos via ação antioxidante de supressão das EROs (Qin et al., 2021).

Assim, com o aumento na temperatura global, acompanhado de seca intensa, a aplicação da ACh tem o potencial de atuar no mecanismo de homeostase em plantas

submetidas a estresse abióticos, mitigando os efeitos negativos dos estresses térmicos e hídrico nas plantas de milho.

### DESCRIÇÃO DA PESQUISA

O experimento foi realizado no Centro de Estudos em Ecofisiologia Vegetal do Oeste Paulista (CEVOP) na Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), em Presidente Prudente – SP, Brasil. O experimento foi conduzido sob as seguintes condições: Condição normal (temperatura 31,9 °C/19,9 °C máx./min. e irrigada - em casa de vegetação), com os tratamentos - controle (C), tratamento de semente (TS) e foliar (F). E condição estressante (alta temperatura 38 °C/28 °C dia/noite e suspensão hídrica - em fitotron), com os seguintes tratamentos - controle (C), tratamento de semente (TS) e foliar (F). Tratamento (C) com água destilada e demais tratamentos (TS e F) com 1 mmol L<sup>-1</sup> de ACh. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em fatorial duplo 2x3 (2 condições (normal e estresse) x 3 modos de aplicação – C, TS e F). Foram utilizados vasos com 15 kg de terra vegetal e quando as plantas atingiram o estágio fenológico V3/V4, foi realizada a aplicação da ACh e logo após foi iniciado o período de imposição de estresse por 5 dias. Medidas instantâneas de trocas gasosas foram realizadas durante todos os dias de estresse através de um analisador de gases por infra-vermelho (Li 6400XTR, LiCor, EUA). Foram analisados os seguintes parâmetros: assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (*A*), condutância estomática (*gs*), concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (*Ci*) e transpiração (*E*). O potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ) foi mensurado às 12:00 horas, na 3ª folha, com uma câmara de pressão Scholander (modelo 1000, PMS Instruments, EUA), no quinto dia de imposição dos estresses para verificar se o potencial hídrico foliar das plantas sob restrição hídrica e alta temperatura teria atingido valor próximo a -1,5 MPa (considerado como valor referência para plantas de milho sob estresse).

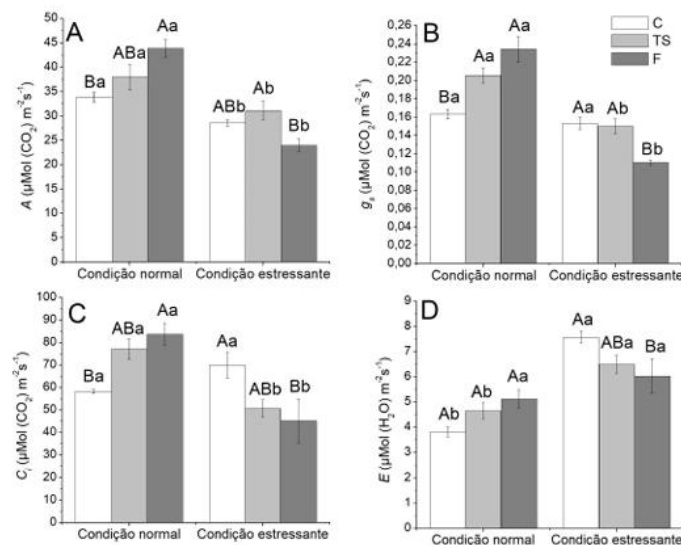
### RESULTADOS E DISCUSSÃO

No terceiro dia, em condição estressante houve diminuição da fotossíntese (*A*), condutância estomática (*gs*), concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (*Ci*) e transpiração (*E*) nas plantas com aplicação foliar (F) comparadas às plantas controle (C) (Figura 1). O mecanismo da fotossíntese é essencial para o metabolismo primário das plantas, especialmente em situações de estresse (De Moraes Campos; Santos; Nacarath, 2021). No estudo atual foi demonstrado que plantas com aplicação de ACh após submissão à alta temperatura e suspensão da irrigação diminuiriam a atividade fotossintética, levando ao fechamento estomático, à diminuição do conteúdo interno de CO<sub>2</sub> e diminuição na transpiração no tratamento com aplicação foliar (F) de ACh. Desta forma, nossos resultados demonstraram a eficiência das plantas em manter o ajuste fisiológico, como forma de evitar a perda de água em meio à condição estressante. O processo de abertura e fechamento estomático ocorre em razão da alteração do volume das células guardas, influenciado pela presença de íons, como K<sup>+</sup> (Wang; Wang; Lou, 1999).

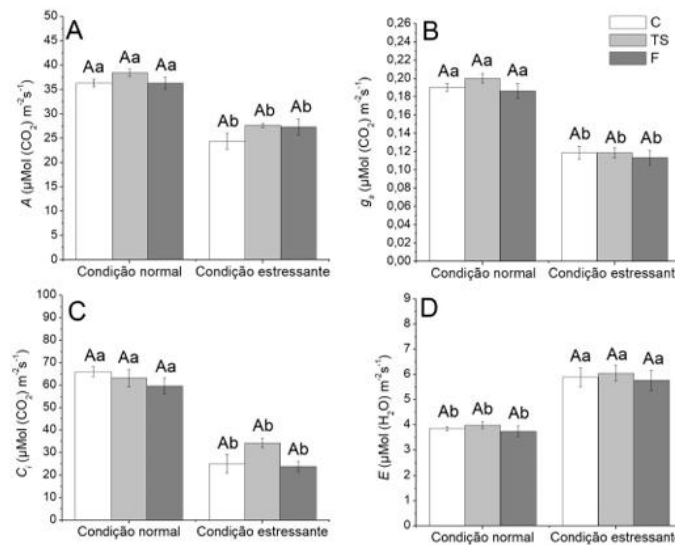
Com cinco dias de estresse, nas plantas condicionadas à alta temperatura e déficit hídrico, foi observado que a aplicação da ACh parou de influenciar os parâmetros de *A*, *gs*, *Ci* e *E*, ocorrendo uma estabilização entre os tratamentos (Figura 2). Apesar disso, é possível inferir que a aplicação de ACh beneficiou as plantas, com base nos resultados de potencial hídrico foliar ( $\psi_f$ ). As plantas submetidas à aplicação foliar de ACh (tratamento F), sob condição estressante, apresentaram valores de  $\psi_f$  próximos aos das plantas

controle (C) sob condição normal, variando entre -0,6 MPa e -1,15 MPa. Isso indica menor déficit hídrico em comparação aos demais tratamentos (Tabela 1).

O  $\psi_f$  reflete a quantidade de água disponível no solo e, conseqüentemente, na planta, influenciando diretamente o conteúdo de água na folha. Com a redução da disponibilidade hídrica, o conteúdo de água na folha diminui, causando perda de turgor nas células-guarda e promovendo o fechamento estomático (Nonami, 1998). Assim, quanto menos negativo for o valor de  $\psi_f$ , melhor é o estado hídrico da planta.



**Figura 1.** Assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A) (A), condutância estomática (g<sub>s</sub>) (B), concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (C<sub>i</sub>) (C) e transpiração (E) (D) em plantas de milho tratadas com diferentes aplicações de ACh [tratamento de sementes (TS), foliar (F) e controle com água destilada (C)] submetidas à condição normal (31,9 °C/19,9 °C máx./min. e irrigada) e condição estressante (38 °C/28 °C dia/noite e suspensão da irrigação), três dias após a submissão aos estresses. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre os modos de aplicação de ACh e letras minúsculas entre as condições normal e estresse.



**Figura 2.** Assimilação líquida de CO<sub>2</sub> (A) (A), condutância estomática (*g<sub>s</sub>*) (B), concentração intercelular de CO<sub>2</sub> (*C<sub>i</sub>*) (C) e transpiração (*E*) (D) em plantas de milho tratadas com diferentes aplicações de ACh [tratamento de sementes (TS), foliar (F) e controle com água destilada (C)] submetidas à condição normal (31,9 °C/19,9 °C máx./min. e irrigada) e condição estressante (38 °C/28 °C dia/noite e suspensão da irrigação), cinco dias após a submissão aos estresses. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre os modos de aplicação de ACh e letras minúsculas entre as condições normal e estresse.

**Tabela 1.** Potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ ) das plantas de milho tratadas com diferentes aplicações de ACh (tratamento de sementes - TS e foliar - F) e controle com água destilada (C) submetidas à condição normal (CN) e condição estressante (CE).

Potencial hídrico foliar ( $\Psi_f$ )		
Tratamentos	CN	CE
C	-0,6187 Aa	-1,35 ABb
TS		-1,475 Ba
F		-1,15 Aa
CV% (média)	6,06	7,32

Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre os modos de aplicação de ACh e letras minúsculas entre as condições normal (CN) e estressante (CE). (Tukey,  $p < 0.05$ ).

### APLICAÇÃO PRÁTICA

A aplicação foliar de acetilcolina (ACh) foi eficaz na diminuição dos efeitos dos estresses térmico e hídrico, promovendo ajustes fisiológicos, como o fechamento estomático, o que contribuiu para a redução da perda de água pelas plantas. Embora a ACh tenha mostrado efeitos positivos em ambas as condições (controle e estressante), sua eficiência foi mais evidente sob condição estressante, que era o foco deste estudo. Além disso, entre as formas de aplicação testadas, a aplicação **foliar** demonstrou maior capacidade de mitigar os efeitos do estresse, quando comparada ao tratamento de sementes. Diante do cenário atual de mudanças climáticas, a ACh se mostra uma biomolécula promissora no auxílio à mitigação de estresses abióticos em plantas.

**LITERATURA CITADA**

AYUB, M. *et al.* Growth and physio-biochemical responses of maize (*Zea mays L.*) to drought and heat stresses. **Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, v. 155, n. 3, p. 535-542, 2021.

BERGAMASCHI, H.; MATZENAUER, R. O milho e o clima. Emater/RS Ascar. 2014.

BRAGA, I.; PISSOLATO, M. D.; SOUZA, G. M. Mitigating effects of acetylcholine supply on soybean seed germination under osmotic stress. **Brazilian Journal of Botany**, v. 40, n. 3, p. 617-624, 2017.

DE MORAES CAMPOS, Anna Júlia; SANTOS, Sarah Medeiros; NACARATH, Inaia Rhavene Freire Fagundes. Estresse hídrico em plantas: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 15, p. e311101523155-e311101523155, 2021.

KILLI, D. *et al.* Adaptation to high temperature mitigates the impact of water deficit during combined heat and drought stress in C3 sunflower and C4 maize varieties with contrasting drought tolerance. **Physiologia Plantarum**, v. 159, n. 2, p. 130-147, 2017.

MASCARENHAS, K. Conheça as principais variedades de milho usados na alimentação humana e animal. Portal UFLA, 2019. Disponível em: <https://ufla.br/noticias/pesquisa/12714-conheca-as-principais-variedades-de-milho-usados-na-alimentacao-humana-e-animal>. Acesso em: 11 out. 2021.

NONAMI, H. Plant water relations and control of cell elongation at low water potentials. **Journal of Plant Research**, v. 111, p. 373-382, 1998.

QIN, C. *et al.* Comparative transcriptome analysis reveals the regulatory effects of acetylcholine on salt tolerance of *Nicotiana benthamiana*. **Phytochemistry**, v. 181, p. 112582, 2021.

ROGELJ, J. *et al.* Paris Agreement climate proposals need a boost to keep warming well below 2 C. **Nature**, v. 534, n. 7609, p. 631-639, 2016.

SALIKA, R.; RIFFAT, J. Abiotic stress responses in maize: a review. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 43, n. 9, p. 130, 2021.

SARKER, U.; ISLAM, M. T.; OBA, S. Salinity stress accelerates nutrients, dietary fiber, minerals, phytochemicals and antioxidant activity in *Amaranthus tricolor* leaves. **PLoS One**, v. 13, n. 11, p. e0206388, 2018.

SELEIMAN, M. F. *et al.* Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. **Plants**, v. 10, n. 2, p. 259, 2021.

SU, Y. *et al.* Acetylcholine ameliorates the adverse effects of cadmium stress through mediating growth, photosynthetic activity and subcellular distribution of 68 cadmium in tobacco (*Nicotiana benthamiana*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 198, p. 110671, 2020.

WANG, H.; WANG, X.; LOU, C. Relationship between acetylcholine and stomatal movement in *Vicia faba*. **Acta Botanica Sinica**, v. 41, n. 2, p. 171-175, 1999.

ZHANG, G. *et al.* Future changes in extreme high temperature over China at 1.5 C–5 C global warming based on CMIP6 simulations. **Advances in Atmospheric Sciences**, v. 38, n. 2, p. 253-267, 2021.