

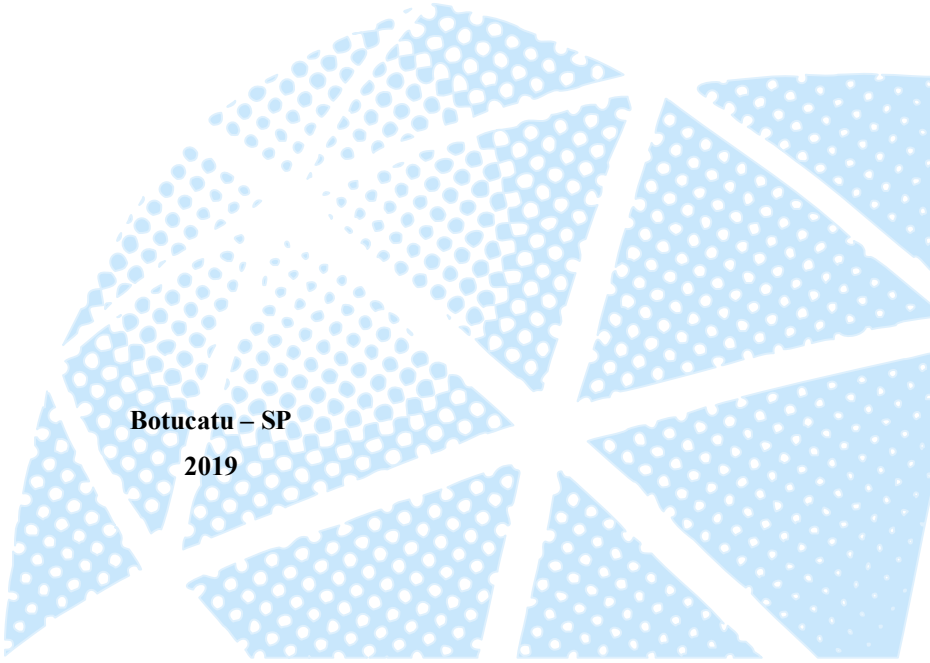
RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 28/02/2021.

MEMÓRIA FISIOLÓGICA E COMUNICAÇÃO RADICULAR INDUZIDA POR METIL JASMONATO

FELIPE YAMASHITA DE OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), AC: Fisiologia e Bioquímica Vegetal.



Botucatu – SP
2019

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU

MEMÓRIA FISIOLÓGICA E COMUNICAÇÃO RADICULAR
INDUZIDA POR METIL JASMONATO

FELIPE YAMASHITA DE OLIVEIRA
ORIENTADOR: PROF. DR. LUIZ FERNANDO ROLIM DE ALMEIDA

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica), AC: Fisiologia e Bioquímica Vegetal.

Botucatu – SP
2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Oliveira, Felipe Yamashita de.

Memória fisiológica e comunicação radicular induzida
por metil jasmonato / Felipe Yamashita de Oliveira. -
Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de
Botucatu

Orientador: Luiz Fernando Rolim de Almeida
Capes: 20303009

1. Raízes de Plantas. 2. Epigenética. 3. Expressão
gênica. 4. Fisiologia vegetal.

Palavras-chave: Comunicação entre plantas; Desenvolvimento
de raiz; Epigenética; Expressão gênica; Short-root.

“Intelligence is based on how efficient a species became at doing the things they need to survive.”

Charles Darwin

Dedico,

Aos meus avós Kaname e Namie.

Aos meus pais Benedito e Yukie.

Aos meus irmãos Marcos, Robson, Viviane, Tais e Simone.

AGRADECIMENTOS

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

À FAPESP pelo financiamento de recursos para a pesquisa. Processo FAPESP 2017/01476-0.

Ao meu orientador Prof. Dr. Luiz Fernando Rolim de Almeida, pela confiança, incentivo, paciência e participação no meu processo de formação profissional e pessoal.

Ao Instituto de Biociências de Botucatu – Universidade Estadual Paulista – “Júlio de Mesquita Filho” e aos funcionários da seção de pós-graduação.

Ao meus avós, meus pais, irmãos e sobrinhos, e minha prima/irmã Rafaela por me apoiarem e me darem força para continuar, sempre que precisei.

À minha namorada Mariana, pelo apoio, pelo conforto sempre que foi preciso, por me ouvir e me dar conselhos, sempre que necessário.

Aos professores Profa. Dra. Cláudia Rainho, Prof. Dr. João Pessoa de Araújo Júnior e Prof. Dr. Ivan de Godoy Maia pelo auxílio teórico e metodológico.

À Profa. Dra. Tatiane Maria Rodrigues, Profa. Dra. Camila Kissmann e Profa. Dra. Carmen Silvia Fernandes Boaro pela grande parceria, ajuda metodológica e disponibilidade com os equipamentos nos laboratórios.

Aos amigos do Laboratório de Ecofisiologia, Angélica Rodrigues, Luís Paulo Mantoan, Danilo Miralha, Ângelo Bertholdi, Thayssa Scheley, Thais Arruda, Tatiana Tintino, Jerônimo Schultz e Livia Leite, pelo apoio, amizade, conversas do dia-a-dia, e pelas discussões para elaboração desse trabalho.

Aos docentes e profissionais do Departamento de Botânica, em especial, Inara, Maria Helena, Kleber e Zé Du, por toda ajuda burocrática e metodológica.

Aos amigos do Departamento de Botânica, em especial, Felipe Giroto, Carla Corrêa, Luiz Ricardo Tozin, Fernanda Palermo e Juan Nicolai por sempre contribuir espontaneamente a este trabalho.

Aos amigos do IBTEC, Leila Ullmann, Fabio Possebon, Camila Malossi, Jaqueline Diniz, Jessica Biondo e Marianna Araújo, por contribuírem ativamente durante às análises moleculares.

Às amigas Bruna Helena, Nina Camargo e Lidiane Coffacci por serem meu ponto de apoio e incentivo durante esses nove anos de faculdade.

À família Tipo Rei e agregados, André Sartori (Busto), Danilo Hohne (Bla), Gabriel Ferreira (Plai), Felipe Mattez (Kimi), Lucas Argenton (Mino), Henrique Silva (Mc), Jonas Vieira (Caiça), Juliana Carvalho (Tarra), Tamires Frazon (Sexta), Pedro (Kejo), Sérgio Alexandre (Pei), pelos momentos de alegria, descontração, amizade e companheirismo.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. MATERIAL E METODOS.....	6
2.1. ESPÉCIE EM ESTUDO.....	6
2.2. ÁREA DO EXPERIMENTO E CULTIVO	7
2.3. DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	7
2.4. ANÁLISE DA EXPRESSÃO GÊNICA.....	9
2.4.1. <i>Isolamento e quantificação do RNA total</i>	9
2.4.2. <i>Síntese de cDNA</i>	10
2.4.3. <i>RT-qPCR</i>	10
2.4.4. <i>Análise de dados da expressão gênica</i>	11
2.5. IMUNOPRECIPITAÇÃO DA CROMATINA	11
2.6. ANÁLISES MORFOLÓGICAS	13
2.7. ANÁLISES DAS VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS	13
2.7.1. <i>Trocas gasosas</i>	13
2.7.2. <i>Fluorescência da clorofila a</i>	13
2.8. OBTENÇÃO DOS DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA	14
3. RESULTADOS	14
3.1. TROCAS GASOSAS	14
3.2. ETAPA FOTOQUÍMICA.....	16
3.3. ANÁLISES ANATÔMICAS.....	18
3.4. EXPRESSÃO DOS GENES DO DESENVOLVIMENTO RADICULAR	19
3.5. ANÁLISE EPIGENÉTICA	20
4. DISCUSSÃO	23
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	27
6. TABELAS	28
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
APÊNDICE	42

LISTA DE ABREVIações

SHR: SHORT-ROOT

GRAS: GIBBERELLIN NSENSITIVE (GAI), REPRESSOR OF GA1–3 (RGA), SCR

SCR: SCARECROW

EROs: espécies reativas de oxigênio

H₂O₂: peróxido de hidrogênio

GST: Glutathione S-Transferase TAU8

DNA: ácido desoxirribonucleico

H3K4Me₃: trimetilação da lisina da posição 4 da histona H3

C: tratamento controle

CV: tratamento controle vizinho

MeJa: metil jasmonato

M: tratamento com metil jasmonato

MV: tratamento vizinho ao metil jasmonato

HAA: horas após aplicação

RNA: ácido ribonucleico

cDNA: DNA complementar

RIN: RNA integrity number

RT-qPCR: reação em cadeia da polimerase quantitativo da transcrição reversa em tempo real

qPCR: reação em cadeia da polimerase quantitativo em tempo real

T_m: temperatura de fusão

Ct: Threshold Cycle

PP2A: Serine/threonine-Protein Phosphatase

EIF4 α : Eukaryotic Initiation Factor 4 α

FAA: formaldeído, ácido acético e álcool etílico 50%

CO₂: dióxido de carbono

H₂O: água

IRGA: analisador de gás CO₂ e vapor d'água por radiação infravermelha

E: taxa de transpiração

g_s: condutância estomática

A: taxa de assimilação de CO₂

EUA: eficiência do uso da água

ETR: taxa de transporte de elétrons

qP: dissipação fotoquímica

F_M : fluorescência máxima adaptada à luz

F_0 : fluorescência basal de folhas adaptadas à luz

Φ_{PSII} : rendimento quântico efetivo do fotossistema II

PSII: fotossistema II

JA: jasmonato

Rubisco: ribulose 1,5 bifosfato carboxilase/oxigenasse

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** - CARACTERIZAÇÃO DA TEMPERATURA E UMIDADE RELATIVA DO AR NA CASA DE VEGETAÇÃO DURANTE O PERÍODO DE EXPERIMENTO..... 7
- FIGURA 2** - MODELO EXPERIMENTAL PARA O ESTUDO DE COMUNICAÇÃO ENTRE RAÍZES. GRUPO CONTROLE (C) TIVERAM SUAS RAÍZES DIVIDIDAS E ALOCADAS NOS VASOS 1 E 2; GRUPO CONTROLE VIZINHO (CV) TIVERAM SUAS RAÍZES DIVIDIDAS E ALOCADAS NOS VASOS 2 E 3; GRUPO MEJA (M) TIVERAM SUAS RAÍZES DIVIDIDAS E ALOCADAS NOS VASOS 1 E 2; GRUPO MEJA VIZINHO (MV) TIVERAM SUAS RAÍZES DIVIDIDAS E ALOCADAS NOS VASOS 2 E 3..... 8
- FIGURA 3** - ESQUEMA DO DESENHO EXPERIMENTAL PARA APLICAÇÃO DE METIL JASMONATO E COLETAS A SEREM REALIZADAS 8
- FIGURA 4** - CONDIÇÃO DE CRESCIMENTO DE PLANTAS DE SORGO NO 18º DIA DE EXPERIMENTO EM MEIO HIDROPÔNICO COM AERAÇÃO CONSTANTE EM SOLUÇÃO NUTRITIVA Nº2 DE HOAGLAND; ARNON, 1950, 50% DE FORÇA IÔNICA, CONDUTIVIDADE ELÉTRICA EM 1.2MS E PH EM 6.0. 9
- FIGURA 5** - TAXA DE ASSIMILAÇÃO DE CO₂ (A, MMOL CO₂ M⁻²S⁻¹) REFERENTE AO PRIMEIRO E SEGUNDO CONTATO COM METIL JASMONATO. A APLICAÇÃO DO METIL JASMONATO OCORREU ÀS 6H DA MANHÃ (0 HAA). OS RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA ONE WAY), SEGUIDO PELO TESTE TUKEY COM NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DE 5% (P<0,05). LETRAS MINÚSCULAS INDICAM DIFERENÇA ENTRE MEJA E CONTROLE NO RESPECTIVO CONTATO, LETRAS MAIÚSCULAS INDICAM DIFERENÇA ENTRE O PRIMEIRO E SEGUNDO CONTATO..... 14
- FIGURA 6** - CONDUTÂNCIA ESTOMÁTICA (G_s, MMOL.M⁻²S⁻¹) REFERENTE AO PRIMEIRO E SEGUNDO CONTATO COM METIL JASMONATO. A APLICAÇÃO DO METIL JASMONATO OCORREU ÀS 6H DA MANHÃ (0 HAA). OS RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA ONE WAY), SEGUIDO PELO TESTE TUKEY COM NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DE 5% (P<0,05). LETRAS MINÚSCULAS INDICAM DIFERENÇA ENTRE MEJA E CONTROLE NO RESPECTIVO CONTATO, LETRAS MAIÚSCULAS INDICAM DIFERENÇA ENTRE O PRIMEIRO E SEGUNDO CONTATO..... 15
- FIGURA 7** - EFICIÊNCIA DO USO DA ÁGUA (EUA, MMOL CO₂ MMOL⁻¹H₂O) REFERENTE AO PRIMEIRO E SEGUNDO CONTATO COM METIL JASMONATO. A APLICAÇÃO DO METIL JASMONATO OCORREU ÀS 6H DA MANHÃ (0 HAA). OS RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA ONE WAY), SEGUIDO PELO TESTE TUKEY COM NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DE 5% (P<0,05). LETRAS MINÚSCULAS INDICAM DIFERENÇA ENTRE MEJA E

CONTROLE NO RESPECTIVO CONTATO, LETRAS MAIÚSCULAS INDICAM DIFERENÇA ENTRE O PRIMEIRO E SEGUNDO CONTATO.....	16
FIGURA 8 - A) TAXA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS (ETR, MMOL.ELÉTRONS.M ⁻² S ⁻¹) REFERENTE AO PRIMEIRO E SEGUNDO CONTATO COM METIL JASMONATO DOS GRUPOS CONTROLE (C) E MEJA (M). B) FLUORESCÊNCIA MÁXIMA (F _M) REFERENTE AO PRIMEIRO E SEGUNDO CONTATO COM METIL JASMONATO DOS GRUPO CONTROLE VIZINHO (CV) E MEJA VIZINHO (MV). C) F _M REFERENTE AO SEGUNDO CONTATO COM METIL JASMONATO DOS GRUPOS DOS GRUPO CONTROLE VIZINHO (CV) E MEJA VIZINHO (MV). D) F _M REFERENTE AO SEGUNDO CONTATO COM METIL JASMONATO DOS GRUPOS DOS GRUPO MEJA (M) E MEJA VIZINHO (MV). LETRAS MINÚSCULAS INDICAM DIFERENÇA ENTRE OS GRUPOS NO RESPECTIVO CONTATO, LETRAS MAIÚSCULAS INDICAM DIFERENÇA ENTRE O PRIMEIRO E SEGUNDO CONTATO NO MESMO GRUPO. OS RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA ONE WAY), SEGUIDO PELO TESTE TUKEY COM NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DE 5% (P<0,05).	17
FIGURA 9 - ASPECTOS ANATÔMICOS DE RAÍZES DE SORGHUM BICOLOR NO 18º DIA DE EXPERIMENTO. A, ÁREA DO ESPAÇO INTERCELULAR (µM ²). B, DIÂMETRO DA RAIZ (µM). C, ÁREA OCUPADA PELO ESTELO (µM ²). OS RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA ONE WAY), SEGUIDO PELO TESTE TUKEY COM NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DE 5% (P<0,05). DADOS REFERENTES ÀS MÉDIAS (N=4). LETRAS MAIÚSCULAS INDICAM DIFERENÇAS ENTRE GRUPO DE PLANTAS COM APLICAÇÃO E PLANTAS VIZINHAS (MEJA X MEJA VIZINHO E CONTROLE X CONTROLE VIZINHO). LETRAS MINÚSCULAS INDICAM DIFERENÇAS ENTRE MESMO GRUPO COM APLICAÇÃO OU VIZINHAS (CONTROLE X MEJA E CONTROLE VIZINHO X MEJA VIZINHO).....	19
FIGURA 10 - LOG DA EXPRESSÃO RELATIVA DO GENE SHR. A APLICAÇÃO DO METIL JASMONATO OCORREU ÀS 6H DA MANHÃ (0 HAA). OS RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA ONE WAY), SEGUIDO PELO TESTE TUKEY COM NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DE 5% (P<0,05). LETRAS MAIÚSCULAS INDICAM DIFERENÇA ENTRE O PRIMEIRO E SEGUNDO CONTATO.....	20
FIGURA 11 - CURVA DE AMPLIFICAÇÃO. A) AMOSTRAS DE DNA IMUNOPRECIPITADO COM PRIMER DO GENE SHR. B) AMOSTRAS DE DNA NÃO IMUNOPRECIPITADO COM PRIMER DO GENE SHR. C) AMOSTRAS DE DNA IMUNOPRECIPITADO COM PRIMER DO GENE GST. D) AMOSTRAS DE DNA NÃO IMUNOPRECIPITADO COM PRIMER DO GENE GST. SETAS INDICAM CURVA DE AMPLIFICAÇÃO DE DNA. PONTAS DE SETAS INDICAM PRODUTO INESPECÍFICO, OU SEJA, DNA NÃO AMPLIFICADO OU DÍMEROS DE PRIMER.	21
FIGURA 12 - CURVA DE MELTING. A) CURVA DE MELTING DO DNA IMUNOPRECIPITADO E AMPLIFICADO DO GENE SHR. B) CURVA DE MELTING DO DNA NÃO IMUNOPRECIPITADO E	

AMPLIFICADO DO GENE SHR. **C)** CURVA DE MELTING DO DNA IMUNOPRECIPITADO E
AMPLIFICADO DO GENE GST. **D)** CURVA DE MELTING DO DNA NÃO IMUNOPRECIPITADO E
AMPLIFICADO DO GENE GST. SETAS INDICAM CURVA DE AMPLIFICAÇÃO DO DNA. PONTAS
DE SETA INDICA PRODUTO INESPECÍFICO, OU SEJA, DNA NÃO AMPLIFICADO..... 22

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - RIN (RNA INTERGRITY NUMBER) OBTIDOS A PARTIR DE ELETROFEROGRAMA.	28
TABELA 2 - INICIADORES ESPECÍFICOS UTILIZADOS NA AVALIAÇÃO QUANTITATIVA DA EXPRESSÃO GÊNICA VIA RT- QPCR E NA AVALIAÇÃO DA METILAÇÃO DE HISTONAS VIA QPCR.	29
TABELA 3 - MÉDIA (N=4) DOS DADOS DE ASSIMILAÇÃO DE CO₂ (A, MMOL CO₂ M⁻²S⁻¹), CONDUTÂNCIA ESTOMÁTICA (G_s, MMOL.M⁻²S⁻¹), TAXA DE TRANSPIRAÇÃO (E, MMOL VAPOR D'ÁGUA M⁻²S⁻¹), EFICIÊNCIA DO USO DA ÁGUA (EUA, MMOL CO₂ MMOL⁻¹H₂O), TAXA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS (ETR, μMOL.ELÉTRONS.M⁻²S⁻¹), FLUORESCÊNCIA MÁXIMA (F_M), FLUORESCÊNCIA BASAL (F₀), DISSIPACÃO FOTOQUÍMICA (QP) E RENDIMENTO QUÂNTICO EFETIVO DO PSII (Φ_{psii}), REFERENTE À PRIMEIRA AVALIAÇÃO ÀS 9 HORAS DA MANHÃ, ANTES DA APLICAÇÃO DO ALELOQUÍMICO (0H). CV: CONTROLE VIZINHA; MV: MEJA VIZINHO. OS RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA <i>ONE WAY</i>). SEGUIDO PELO TESTE TUKEY COM NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DE 5% (P<0,05). LETRAS MINÚSCULAS INDICAM DIFERENÇA ENTRE MEJA E CONTROLE NO RESPECTIVO CONTATO, LETRAS MAIÚSCULAS INDICAM DIFERENÇA ENTRE O PRIMEIRO E SEGUNDO CONTATO.....	30
TABELA 4 - MÉDIA (N=4) DOS DADOS DE ASSIMILAÇÃO DE CO₂ (A, MMOL CO₂ M⁻²S⁻¹), CONDUTÂNCIA ESTOMÁTICA (G_s, MMOL.M⁻²S⁻¹), TAXA DE TRANSPIRAÇÃO (E, MMOL VAPOR D'ÁGUA M⁻²S⁻¹), EFICIÊNCIA DO USO DA ÁGUA (EUA, MMOL CO₂ MMOL⁻¹H₂O), TAXA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS (ETR, μMOL.ELÉTRONS.M⁻²S⁻¹), FLUORESCÊNCIA MÁXIMA (F_M), FLUORESCÊNCIA BASAL (F₀), DISSIPACÃO FOTOQUÍMICA (QP) E RENDIMENTO QUÂNTICO EFETIVO DO PSII (Φ_{psii}), REFERENTE À PRIMEIRA AVALIAÇÃO ÀS 9 HORAS DA MANHÃ, ANTES DA APLICAÇÃO DO ALELOQUÍMICO (0H). CV: CONTROLE VIZINHA; MV: MEJA VIZINHO. OS RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA <i>ONE WAY</i>). SEGUIDO PELO TESTE TUKEY COM NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DE 5% (P<0,05). LETRAS MINÚSCULAS INDICAM DIFERENÇA ENTRE MEJA E CONTROLE NO RESPECTIVO CONTATO.....	32
TABELA 5 - MÉDIA (N=4) DOS DADOS DE ASSIMILAÇÃO DE CO₂ (A, MMOL CO₂ M⁻²S⁻¹), CONDUTÂNCIA ESTOMÁTICA (G_s, MMOL.M⁻²S⁻¹), TAXA DE TRANSPIRAÇÃO (E, MMOL VAPOR D'ÁGUA M⁻²S⁻¹), EFICIÊNCIA DO USO DA ÁGUA (EUA, MMOL CO₂ MMOL⁻¹H₂O), TAXA DE TRANSPORTE DE ELÉTRONS (ETR, μMOL.ELÉTRONS.M⁻²S⁻¹), FLUORESCÊNCIA MÁXIMA (F_M), FLUORESCÊNCIA BASAL (F₀), DISSIPACÃO FOTOQUÍMICA (QP) E RENDIMENTO QUÂNTICO EFETIVO DO PSII (Φ_{psii}), REFERENTE À PRIMEIRA AVALIAÇÃO ÀS 9 HORAS DA MANHÃ, ANTES DA APLICAÇÃO DO ALELOQUÍMICO (0H). M: MEJA; MV: MEJA VIZINHO. OS RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA <i>ONE WAY</i>). SEGUIDO PELO TESTE	

TUKEY COM NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DE 5% ($P<0,05$). LETRAS MINÚSCULAS INDICAM DIFERENÇA ENTRE MEJA E MEJA VIZINHO DO RESPECTIVO CONTATO..... 34

TABELA 6 - EXPRESSÃO RELATIVA DO GENE SHR EM RAÍZES DE SORGO. A EXPRESSÃO GÊNICA É REPRESENTADA PELO PRODUTO (EXPRESSÃO RELATIVA) DO VALOR DA EXPRESSÃO DO GENE SHR COM O VALOR DE EXPRESSÃO DOS GENES NORMALIZADORES, PP2A E EIF4A. M₁: TRATAMENTO MEJA NO PRIMEIRO CONTATO COM METIL JASMONATO; M₂: TRATAMENTO MEJA NO SEGUNDO CONTATO COM METIL JASMONATO; MV₁: TRATAMENTO MEJA VIZINHO NO PRIMEIRO CONTATO DO GRUPO M COM METIL JASMONATO; MV₂: TRATAMENTO MEJA VIZINHO NO SEGUNDO CONTATO COM METIL JASMONATO, C₁: TRATAMENTO CONTROLE NO PRIMEIRO CONTATO DO GRUPO M COM METIL JASMONATO; C₂: TRATAMENTO CONTROLE NO SEGUNDO CONTATO DO GRUPO M COM METIL JASMONATO; CV₁: TRATAMENTO CONTROLE VIZINHO NO PRIMEIRO CONTATO DO GRUPO M COM METIL JASMONATO; CV₂: TRATAMENTO CONTROLE VIZINHO NO SEGUNDO CONTATO DO GRUPO M COM METIL JASMONATO. OS RESULTADOS DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA ONE WAY), SEGUIDO PELO TESTE TUKEY COM NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA DE 5% ($P<0,05$). LETRAS MAIÚSCULAS INDICAM DIFERENÇA ENTRE O PRIMEIRO E SEGUNDO CONTATO..... 36

RESUMO

Apesar de serem organismos sésseis, as plantas movimentam ativamente estruturas vegetativas e reprodutivas, levando a interação com o ambiente ao redor. As plantas mantêm comunicação com plantas vizinhas, herbívoros e predadores através da emissão de compostos químicos exsudados pela raiz e esses eventos modificam o ambiente ocupado pelos vegetais. Esses exsudatos podem induzir a alteração de padrões morfológicos e fisiológicos além da expressão gênica de plantas vizinhas. Utilizamos o metil jasmonato, um regulador vegetal, para desencadear dois ciclos indutivos em plantas e comunicação com plantas vizinhas. Durante o estímulo, analisamos assimilação líquida de CO_2 (A), condutância estomática (g_s), taxa de transpiração (E), eficiência do uso da água (EUA), taxa de transporte de elétrons (ETR), fluorescência máxima (F_M) e basal (F_0), dissipação fotoquímica (qP) e rendimento quântico efetivo do PSII (Φ_{PSII}), além da expressão do gene *SHR*, padrão de metilação de histonas e parâmetros anatômicos em plantas com aplicação e plantas vizinhas. Plantas com aplicação de metil jasmonato apresentaram queda nos parâmetros fisiológicos horas após o contato com o elicitor, porém em segundo contato, tais parâmetros não diferiram do controle, indicando possível efeito de memória (*imprint*). Plantas induzidas pelo metil jasmonato podem ter emitido sinais às plantas vizinhas, proporcionando maiores taxas de A , g_s , F_M e F_0 das plantas vizinhas em relação às induzidas. Portanto a comunicação entre plantas podem levar a manutenção de processos fisiológicos em resposta a alterações ambientais, antecipando respostas e elevando as chances de tolerar um evento de estresse futuro.

Palavras-chave: comunicação entre plantas, desenvolvimento de raiz, epigenética, expressão gênica, *Short-Root*.

ABSTRACT

Although they are sessile organisms, plants actively move their vegetative and reproductive structures, leading to interaction with the surrounding environment. Plants maintain communication with neighboring plants, herbivores and predators through emission of chemical compounds by root and these events modify the environment occupied by plants. These exudates may induce changes in morphological and physiological patterns beyond the gene expression of neighboring plants. We used methyl jasmonate, a plant regulator, to trigger two inductive cycles in plants and communication with neighboring plants. During the stimulus, we analyzed CO₂ net assimilation (A), stomatal conductance (g_s), transpiration rate (E), water use efficiency (WUE), electron transport rate (ETR), maximum fluorescence (F_M), basal fluorescence (F_0), photochemical dissipation (qP) and quantum yield of PSII (Φ_{PSII}), as well as SHR gene expression, histone methylation pattern and anatomical parameters in plants with application and neighboring plants. Plants with methyl jasmonate application showed minor physiological parameters hours after the elicitor contact, but in the second contact, these parameters did not differ from the control group, indicating a possible memory effect (imprint). Plants induced by methyl jasmonate may have emitted signals to neighboring plants, providing higher rates of A , g_s , F_M and F_0 of the neighboring plants in relation to the induced ones. Therefore the communication between plants can lead to the maintenance of physiological processes in response to environmental changes, anticipating responses and increasing the chances of tolerating a future stress event.

Keywords: epigenetic, gene expression, plant signaling, root development, *Short-Root*.

1. INTRODUÇÃO

As principais funções cognitivas do organismo como fala, memória, capacidade de aprendizagem, cognição, entre outros, são estritamente atribuídos aos seres humanos e animais superiores. Toda e qualquer tentativa de comparação de tais atribuições cognitivas a insetos, vegetais e outros organismos, foram e ainda são rotuladas como antropomorfismo, uma tentativa de humanizar o que não é humano (LYON, 2006). Algo contrário que Charles Darwin e seu filho, Francis Darwin, escreveram na última frase de um de seus últimos livros publicados: “Não é exagero dizer que a ponta da radícula dotada de sensibilidade, e tendo o poder de dirigir os movimentos das partes adjacentes, atua como o cérebro de um dos animais inferiores; o cérebro situado na extremidade anterior do corpo, recebendo impressões dos órgãos dos sentidos e direcionando a vários movimentos.” (DARWIN; DARWIN, 1880). Obviamente, plantas não possuem nenhum tipo de sistema nervoso sofisticado, nem cérebro, portanto seus mecanismos para percepção e coordenação devem ser diferentes dos encontrados nos animais (BALUŠKA; GAGLIANO; WITZANY, 2018).

À exemplo de Darwin, recentemente diversos pesquisadores começaram a estudar os movimentos e sinalizações realizadas pelas plantas afirmando que apesar de serem organismos sésseis, são capazes de movimentarem ativamente órgãos e utilizam esses movimentos para manipular o ambiente biótico e abiótico ao seu redor (BALUŠKA; MANCUSO, 2018). Corroborando a mesma ideia de que as plantas podem manipular o ambiente ao seu redor, Karban (2008) admite que as plantas podem se comunicar com plantas vizinhas, com herbívoros e até com predadores e parasitas de seus herbívoros, com o intuito de ajustar suas defesas ao ambiente no qual estão inseridas.

Segundo Dicke (2003), uma dessas formas de comunicação ocorre pela emissão de diversos compostos químicos. Porém, para que ocorra a comunicação, é necessário que exista emissor de sinal ou estímulo e respectivo receptor que capte e traduza rapidamente esse sinal (KARBAN, 2008). Por exemplo, após contato com agente agressor, a planta ativa mecanismos de resposta, desencadeando cascata de sinalização interna, indicando situação de ataque. Também pode ocorrer a sinalização para o ambiente, liberando compostos químicos produzidos por diferentes órgãos, ocorrendo geralmente por volatilização na parte aérea e/ou pela exsudação radicular (VENTURI; KEEL, 2016).

Alguns cientistas demonstraram que plantas vizinhas captam informações emitidas por plantas estressadas, detectando seu estado fisiológico alterado através da composição de exsudatos radiculares (ELHAKEEM et al., 2018; JACOB; TOZZI; WILLENBORG, 2017), acarretando na indução de alteração nos padrões morfológicos, fisiológicos e alteração da

expressão gênica (CHEN; DURING; ANTEN, 2012). Jacob et al., (2017) concluiu que uma das possibilidades é que algumas espécies podem exsudar substâncias químicas, sendo que tais substâncias podem ser tóxicas para o desenvolvimento de plantas vizinhas.

Uma substância química com elevado potencial de causar distúrbio nas plantas é o metil jasmonato. Esse composto foi identificado pela primeira vez em óleo essencial de jasmim e alecrim (CREELMAN; MULLET, 1997), atuando como regulador vegetal de ocorrência natural que, mesmo em baixas concentrações, pode causar importantes alterações fisiológicas, no crescimento e desenvolvimento da planta (FAGAN et al., 2015). Em resposta a estímulos ambientais, como herbivoria, algumas plantas podem emitir metil jasmonato (ENGELBERTH et al., 2004), sinalizando esse ataque às plantas vizinhas. Essas plantas vizinhas podem captar esse sinal e, em resposta ao metil jasmonato podem ajustar mecanismos de defesa, desencadeando internamente uma cadeia de ação contra a herbivoria (CHEONG; CHOI, 2003). Segundo Fagan et al. (2015), após a aplicação exógena de metil jasmonato, ocorre a regulação do crescimento e desenvolvimento do vegetal, especialmente do tecido radicular.

Um dos primeiros órgãos vegetais afetados pela ação de substâncias químicas é a raiz, sofrendo inibição do crescimento e consequentemente afetando o desenvolvimento da planta como um todo, podendo ocasionar a sua morte (FERREIRA; AQUILA, 2000). Semelhante à resposta a outros tipos de estresse (frio, calor, seca, alagamento ou salinidade), a planta pode apresentar alterações moleculares e bioquímicas durante a ação do metil jasmonato, limitando seu desenvolvimento. Portanto, ferramentas moleculares associadas ao mecanismo de ação do metil jasmonato podem auxiliar no monitoramento e consequentemente fornecer melhor compreensão sobre o crescimento radicular.

Uma ferramenta molecular essencial no monitoramento do crescimento radicular é a expressão do gene *SHR*. Esse gene codifica a proteína *SHORT-ROOT (SHR)* e juntamente com o gene *SCR (SCARECROW)* são fatores de transcrição da família GRAS que regulam a divisão celular durante a embriogênese (HELARIUTTA et al., 2000). Tais genes são fundamentais para a formação e desenvolvimento das camadas da endoderme e córtex do tecido radicular (BENFEY et al., 1993; KOIZUMI et al., 2012). Conforme descrito por Helariutta et al. (2000), o gene *SCR* influencia somente na divisão celular, ao contrário do *SHR*, essencial na divisão e especificação celular (BENFEY et al., 1993).

O gene *SHR* é de fundamental importância na divisão celular assimétrica, dando origem do córtex e endoderme, resultando também na especificação endodérmica (HELARIUTTA et al., 2000). Em experimento realizado em *Arabidopsis thaliana*, Levesque et al. (2006) observaram que plantas mutantes, sem expressão do gene *SHR*, possuíam desorganização das células do centro quiescente, acarretando a perda da atividade das células meristemáticas, além

de apresentarem raízes primárias reduzidas em comprimento, induzindo a formação de uma camada única de tecido fundamental no córtex radicular (BENFEY et al., 1993; SCHERES et al., 1995). Por outro lado, altos níveis de *SHR* também pode inibir divisões celulares, ocasionando menor crescimento radicular e desenvolvimento lateral das células do tecido vascular (HAO et al., 2011; KOIZUMI et al., 2012).

Outro efeito de intensos estímulos ambientais é a produção e acúmulo de espécies reativas de oxigênio (EROs), geralmente acompanhada da ativação de sistemas celulares de defesa, como produção de enzimas antioxidantes (BAIS et al., 2003). Entre os EROs podemos encontrar o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que atua como o primeiro sinalizador para estimular a transcrição da enzima glutathione S-transferase (*GST*) (MARRS, 1996). Essa enzima está relacionada a defesa celular, catalisando a conjugação do tripeptídeo glutathione, e assim, desintoxicando a peroxidação lipídica (BHATTACHARJEE, 2012). A enzima *GST* também indica capacidade de repostas a diferentes estresses como, desintoxicação contra herbicidas, ataque de patógenos e estresse oxidativo (MARRS, 1996).

Segundo Gagliano et al. (2016), plantas são capazes de se adaptar a mudanças ambientais, formando um processo de aprendizagem. Esse processo baseia-se em desenvolver comportamento de antecipação, sem a necessidade de aprender “do zero” a cada situação de distúrbio ambiental. Walter et al. (2013) denominaram esse processo de aprendizagem como “memória” do estresse. Logo no início de um evento estressante, a planta capta a informação (fase de alarme) e durante todo esse período altera os ajustes fisiológicos que podem promover o efeito de memória (KOSOVÁ et al., 2011). Assim, esses ajustes podem gerar uma memória, que pode aperfeiçoar respostas fisiológicas para o próximo evento de estresse (CRISP et al., 2016). Esse processo de memória nas plantas dificilmente se assemelha com as redes neuronais e cérebros encontrada nos animais, contudo, neurônios podem não ser a única maneira essencial para o aprendizado (GAGLIANO et al., 2014). O processo de memória pode estar relacionado com mudanças da conformação da cromatina (MADLUNG; COMAI, 2004), denominadas mudanças epigenéticas.

Alterações epigenéticas são modificações na estrutura da cromatina, sem que haja alterações na sequência de nucleotídeos (mutação), para registrar, sinalizar, ativar ou silenciar a transcrição gênica (BIRD, 2007; MADLUNG; COMAI, 2004). Em outras palavras, a expressão do genoma é influenciada pela estrutura da cromatina (ZHU et al., 2008). A cromatina é formada por nucleossomos, que por sua vez são formados por pares de bases de DNA que se enrolam em proteínas chamadas histonas, as quais contém duas moléculas de cada histona H2A, H2B, H3 e H4 (VRIET; HENNIG; LALOI, 2015). A acessibilidade da cromatina à transcrição está relacionada a modificações pós-transdacionais dessas histonas, como por

exemplo, a metilação do aminoácido lisina na cauda terminal N destas histonas (LIU et al., 2010; WATERBORG, 2011). Ao afetar a conformação da cromatina, essas modificações nas histonas podem alterar a interação histona-DNA, permitindo ou não o acesso de proteínas de transcrição ao DNA, assim ativando ou silenciando um gene (BANNISTER; KOUZARIDES, 2011; LIU et al., 2010; REA et al., 2000).

O padrão da metilação da histona está diretamente relacionado a estímulos ambientais (CONRATH et al., 2006). Um exemplo é a trimetilação da lisina da posição 4 da histona H3 (H3K4me3). Em resposta ao estímulo ambiental, ocorre a H3K4me3, permitindo o acesso de proteínas de transcrição ao DNA e a rápida ativação de genes, permitindo respostas fisiológicas mais rápidas, assim como o aumento da tolerância durante evento de estímulos recorrentes (BRUCE et al., 2007; NG et al., 2003; WALTER et al., 2011). Portanto, a metilação de histonas pode estar relacionada a respostas de estímulos ambientais, podendo alterar a estabilidade da comunidade vegetal, diminuindo a mortalidade e aumentando a resiliência das plantas. Contudo, existem poucas pesquisas que abordam alterações epigenéticas induzidas por estímulos ambientais (VRIET; HENNIG; LALOI, 2015).

Nesse contexto, considerando que a comunicação vegetal pode ocorrer através da sinalização pelo tecido radicular e que a ocorrência da metilação de histonas auxilia na possível memória do estresse, temos como hipótese que o metil jasmonato induz a comunicação radicular entre plantas, assim como altera padrões morfo-fisiológicos, expressão gênica e metilação de histona nos genes *GST* e *SHR*, favorecendo a tolerância em eventos de estresse futuros. Portanto temos como objetivo: i) investigar se o metil jasmonato induz a comunicação entre plantas; ii) testar se a sinalização recebida pelas plantas vizinhas acarreta alterações morfo-fisiológicas, padrão de metilação de histonas e da expressão gênica do gene *SHR*, o que favoreceria a tolerância a eventos de estresse recorrente.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAIS, Harsh P. et al. Allelopathy and Exotic Plant Invasion: From Molecules and Genes to Species Interactions. **Science**, [s. l.], v. 301, n. 5638, p. 1377–1380, 2003.

BALUŠKA, František; GAGLIANO, Monica; WITZANY, Guenther. **Memory and Learning in Plants**. 1. ed. Cham: Springer International Publishing, 2018.

BALUŠKA, František; MANCUSO, Stefano. Plant Cognition and Behavior: From Environmental Awareness to Synaptic Circuits Navigating Root Apices. In: BALUŠKA, František; GAGLIANO, Monica; WITZANY, Guenther (Eds.). **Memory and Learning in Plants**. 1. ed. Cham: Springer International Publishing, 2018.

BANNISTER, Andrew J.; KOUZARIDES, Tony. Regulation of chromatin by histone modifications. **Cell Research**, [s. l.], v. 21, n. 3, p. 381–395, 2011.

BENFEY, Philip N. et al. Root development in *Arabidopsis*: four mutants with dramatically altered root morphogenesis. **Development**, [s. l.], v. 119, p. 57–70, 1993.

BHATTACHARJEE, Soumen. The Language of Reactive Oxygen Species Signaling in Plants. **Journal of Botany**, [s. l.], v. 2012, p. 1–22, 2012.

BIRD, Adrian. Perceptions of epigenetics. **Nature**, [s. l.], v. 447, n. 7143, p. 396–398, 2007.

BRUCE, Toby J. A. et al. Stressful “memories” of plants: Evidence and possible mechanisms. **Plant Science**, [s. l.], v. 173, n. 6, p. 603–608, 2007.

CHEN, Bin J. W.; DURING, Heinjo J.; ANTEN, Niels P. R. Detect thy neighbor: Identity recognition at the root level in plants. **Plant Science**, [s. l.], v. 195, p. 157–167, 2012.

CHEONG, Jong Joo; CHOI, Yang Do. Methyl jasmonate as a vital substance in plants. **Trends in Genetics**, [s. l.], v. 19, n. 7, p. 409–413, 2003.

CONRATH, Uwe et al. Priming: Getting Ready for Battle. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, [s. l.], v. 19, n. 10, p. 1062–1071, 2006.

CREELMAN, Robert A.; MULLET, John E. Biosynthesis and Action of Jasmonates in Plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, [s. l.], v. 48, n. 1, p. 355–381, 1997.

CRISP, P. A. et al. Reconsidering plant memory: Intersections between stress recovery, RNA turnover, and epigenetics. **Science Advances**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. e1501340–e1501340, 2016.

DARWIN, Charles; DARWIN, Francis. **The Power of Movement in Plants**. London: William Clowes and Sons, 1880.

DICKE, Marcel. Plants talk, but are they deaf? **Trends in Plant Science**, [s. l.], v. 8, n.

9, p. 403–405, 2003.

EKE, Pierre et al. Mycorrhiza consortia suppress the fusarium root rot (*Fusarium solani* f. sp. *Phaseoli*) in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Biological Control**, [s. l.], v. 103, p. 240–250, 2016.

ELHAKEEM, Ali et al. Aboveground mechanical stimuli affect belowground plant-plant communication. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 13, n. 5, p. 1–15, 2018.

ENGELBERTH, J. et al. Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 101, n. 6, p. 1781–1785, 2004.

FAGAN, Evandro Binotto et al. **Fisiologia Vegetal: Reguladores Vegetais**. São Paulo: Andrei Editora Ltda., 2015.

FERREIRA, Alfredo Gui; AQUILA, Maria Estefânia Alves. Allelopathy: an Emerging Topic in Ecophysiology. **Revista Brasileira De Fisiologia Vegetal**, [s. l.], v. 12, n. Vii, p. 175–204, 2000.

GAGLIANO, Monica et al. Experience teaches plants to learn faster and forget slower in environments where it matters. **Oecologia**, [s. l.], v. 175, n. 1, p. 63–72, 2014.

GAGLIANO, Monica et al. Learning by Association in Plants. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 38427, 2016.

GALLÉ, Alexander; HALDIMANN, Pierre; FELLER, Urs. Photosynthetic performance and water relations in young pubescent oak (*Quercus pubescens*) trees during drought stress and recovery. **New Phytologist**, [s. l.], v. 174, n. 4, p. 799–810, 2007.

GALMÉS, Jeroni; MEDRANO, Hipólito; FLEXAS, Jaume. Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. **New Phytologist**, [s. l.], v. 175, n. 1, p. 81–93, 2007.

GENDREL, Anne-Valerie et al. Profiling histone modification patterns in plants using genomic tiling microarrays. **Nature Methods**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 213–218, 2005.

GERRITS, Pirter Oest; HOROBIN, Richard W. The application of glycol methacrylate in histotechnology; some fundamental principles. **Faculteit der Geneeskunde, Rijksuniversiteit Groningen**, [s. l.], 1991.

HAO, Yu-Jun et al. Soybean NAC transcription factors promote abiotic stress tolerance and lateral root formation in transgenic plants. **The Plant Journal**, [s. l.], v. 68, n. 2, p. 302–313, 2011.

HEIMANN, L. et al. A Common Histone Modification Code on C4 Genes in Maize and Its Conservation in Sorghum and *Setaria italica*. **PLANT PHYSIOLOGY**, [s. l.], v. 162, n. 1, p. 456–469, 2013.

HELARIUTTA, Y. et al. The *SHORT-ROOT* gene controls radial patterning of the

Arabidopsis root through radial signaling. **Cell**, [s. l.], v. 101, n. 5, p. 555–67, 2000.

HOAGLAND, Dennis Robert; ARNON, Daniel Israel. The water-culture method for growing plants without soil. **California Agricultural Experiment Station**, [s. l.], v. 347, 1950.

HOWE, Gregg A.; MAJOR, Ian T.; KOO, Abraham J. Modularity in Jasmonate Signaling for Multistress Resilience. **Annual Review of Plant Biology**, [s. l.], v. 69, n. 1, p. 387–415, 2018.

HUDGINS, J. W.; CHRISTIANSEN, Erik; FRANCESCHI, Vincent R. Methyl jasmonate induces changes mimicking anatomical defenses in diverse members of the Pinaceae. **Tree Physiology**, [s. l.], v. 23, n. 6, p. 361–371, 2003.

JACOB, Cory E.; TOZZI, Eric; WILLENBORG, Christian J. Neighbour presence, not identity, influences root and shoot allocation in pea. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 1–12, 2017.

JOHANSEN, D. A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940.

KARBAN, Richard. Plant behaviour and communication. **Ecology Letters**, [s. l.], v. 11, n. 7, p. 727–739, 2008.

KAWECKI, Tadeusz J. Evolutionary ecology of learning: insights from fruit flies. **Population Ecology**, [s. l.], v. 52, n. 1, p. 15–25, 2010.

KOIZUMI, K. et al. The *SHORT-ROOT* protein acts as a mobile, dose-dependent signal in patterning the ground tissue. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 109, n. 32, p. 13010–13015, 2012.

KOSOVÁ, Klára et al. Plant proteome changes under abiotic stress - Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. **Journal of Proteomics**, [s. l.], v. 74, n. 8, p. 1301–1322, 2011.

LEVESQUE, Mitchell P. et al. Whole-Genome Analysis of the *SHORT-ROOT* Developmental Pathway in *Arabidopsis*. **PLoS Biology**, [s. l.], v. 4, n. 5, p. e143, 2006.

LIN, Changjie et al. Diel ecosystem conductance response to vapor pressure deficit is suboptimal and independent of soil moisture. **Agricultural and Forest Meteorology**, [s. l.], v. 250–251, n. November 2017, p. 24–34, 2018.

LIU, Chunyan et al. Histone Methylation in Higher Plants. **Annual Review of Plant Biology**, [s. l.], v. 61, n. 1, p. 395–420, 2010.

LIU, Hongwei et al. Effects of jasmonic acid signalling on the wheat microbiome differ between body sites. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, p. 41766, 2017.

LYON, Pamela. The biogenic approach to cognition. **Cognitive Processing**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 11–29, 2006.

MADLUNG, A.; COMAI, Luca. The Effect of Stress on Genome Regulation and

Structure. **Annals of Botany**, [s. l.], v. 94, n. 4, p. 481–495, 2004.

MARRS, Kathleen A. The Functions and Regulation of Glutathione S-Transferases in Plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, [s. l.], v. 47, n. 1, p. 127–158, 1996.

MAXWELL, K.; JOHNSON, G. N. Chlorophyll fluorescence--a practical guide. **Journal of Experimental Botany**, [s. l.], v. 51, n. 345, p. 659–668, 2000.

MILLER, Michael B. et al. Individual differences in cognitive style and strategy predict similarities in the patterns of brain activity between individuals. **NeuroImage**, [s. l.], v. 59, n. 1, p. 83–93, 2012.

NG, Huck Hui et al. Targeted Recruitment of Set1 Histone Methylase by Elongating Pol II Provides a Localized Mark and Memory of Recent Transcriptional Activity. **Molecular Cell**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 709–719, 2003.

O'BRIEN, T. P.; FEDER, N.; MCCULLY, M. E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, [s. l.], v. 59, n. 2, p. 368–373, 1964.

OKANO, Hideyuki; HIRANO, Tomoo; BALABAN, Evan. Learning and memory. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 97, n. 23, p. 12403–12404, 2000.

PATERSON, Andrew H. et al. The Sorghum bicolor genome and the diversification of grasses. **Nature**, [s. l.], v. 457, n. 7229, p. 551–556, 2009.

PFAFFL, Michael W.; HAGELEIT, M. Validities of mRNA quantification using recombinant RNA and recombinant DNA external calibration curves in real-time RT-PCR. **Biotechnology Letters**, [s. l.], v. 23, p. 275–282, 2001.

RAKWAL, Randeep; KOMATSU, Setsuko. Jasmonic acid-induced necrosis and drastic decreases in ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in rice seedlings under light involves reactive oxygen species. **Journal of Plant Physiology**, [s. l.], v. 158, n. 6, p. 679–688, 2001.

REA, Stephen et al. Regulation of chromatin structure by site-specific histone H3 methyltransferases. **Nature**, [s. l.], v. 406, n. 6796, p. 593–599, 2000.

REDDY, Palakolanu Sudhakar et al. Evaluation of Sorghum [*Sorghum bicolor* (L.)] Reference Genes in Various Tissues and under Abiotic Stress Conditions for Quantitative Real-Time PCR Data Normalization. **Frontiers in Plant Science**, [s. l.], v. 7, n. April, p. 1–14, 2016.

SCHERES, Ben et al. Mutations affecting the radial organisation of the *Arabidopsis* root display specific defects throughout the embryonic axis. **Development**, [s. l.], v. 121, n. 1, p. 53–62, 1995.

SHARMA, Pallavi et al. Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. **Journal of Botany**, [s. l.], v. 2012,

p. 1–26, 2012.

STOJAKOWSKA, Anna; MALARZ, Janusz; KISIEL, Wanda. Salicylate and methyl jasmonate differentially influence diacetylene accumulation pattern in transformed roots of feverfew. **Plant Science**, [s. l.], v. 163, n. 6, p. 1147–1152, 2002.

SUHITA, D. et al. Cytoplasmic alkalization precedes reactive oxygen species production during methyl jasmonate- and abscisic acid- induced stomatal closure. **Plant Physiology**, [s. l.], v. 134, n. 4, p. 1536–1545, 2004.

VENTURI, Vittorio; KEEL, Christoph. Signaling in the Rhizosphere. **Trends in Plant Science**, [s. l.], v. 21, n. 3, p. 187–198, 2016.

VRIET, Cecile; HENNIG, Lars; LALOI, Christophe. Stress-induced chromatin changes in plants: of memories, metabolites and crop improvement. **Cellular and Molecular Life Sciences**, [s. l.], v. 72, n. 7, p. 1261–1273, 2015.

WALTER, Julia et al. Do plants remember drought? Hints towards a drought-memory in grasses. **Environmental and Experimental Botany**, [s. l.], v. 71, n. 1, p. 34–40, 2011.

WALTER, Julia et al. Ecological stress memory and cross stress tolerance in plants in the face of climate extremes. **Environmental and Experimental Botany**, [s. l.], v. 94, p. 3–8, 2013.

WATERBORG, Jakob H. Plant histone acetylation: In the beginning.... **Biochimica et Biophysica Acta**, [s. l.], v. 1809, n. 8, p. 353–359, 2011.

WITZANY, Guenther. Memory and Learning as Key Competences of Living Organisms. In: BALUSKA, Frantisek; GAGLIANO, Monica; WITZANY, Guenther (Eds.). **Memory and Learning in Plants**. 1. ed. Cham: Springer International Publishing, 2018. p. 223.

ZHANG, Lingrui; XING, Da. Methyl Jasmonate Induces Production of Reactive Oxygen Species and Alterations in Mitochondrial Dynamics that Precede Photosynthetic Dysfunction and Subsequent Cell Death. **Plant and Cell Physiology**, [s. l.], v. 49, n. 7, p. 1092–1111, 2008.

ZHU, J. K. et al. Involvement of Arabidopsis HOS15 in histone deacetylation and cold tolerance. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 105, n. 12, p. 4945–4950, 2008.